

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO VENENO DA SERPENTE *Caudisona durissa collilineata* E IDENTIFICAÇÃO DA FRAÇÃO ATIVA

Sayonara Ay More de OLIVEIRA<sup>1,2</sup>, Elson Alves COSTA<sup>1</sup>, Marta Regina MAGALHÃES<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais, ICB-UFG,

<sup>2</sup>Centro de Estudos e Pesquisas Biológicas, Laboratório de Toxinologia, PUC Goiás,

[aymoresa@gmail.com](mailto:aymoresa@gmail.com), [elson@farm.epm.br](mailto:elson@farm.epm.br), [reginamaga@gmail.com](mailto:reginamaga@gmail.com)

Palavras-chave: *Caudisona durissa collilineata*, fração ativa, contorções antinocicepção

## INTRODUÇÃO

O veneno bruto da serpente *Caudisona durissa*, promove uma série de sintomas neurológicos e miotóxicos em acidentes com seres humanos, sem causar dor, ao contrário, as vítimas apresentam sensação de analgesia no local da picada, alguns minutos após o acidente. Estudos comprovam que o veneno da serpente *Caudisona durissa terrificus* possui atividade analgésica entre outras atividades. Além de moléculas que atuam no sistema circulatório e coagulação, várias outras pesquisas vem sendo desenvolvidos buscando isolar moléculas que possam ter efeitos analgésicos (RAJENDR *et al.*, 2004; CURY & PICOLO, 2006) antimicrobianos (ANDREU,1998; RODRIGUES *et al.*, 2004; GOMES, 2005; SANTAMARIA *et al.*, 2005; TONISMAGI *et al.*, 2006; NAIR *et al.*, 2007), ou anti-inflamatórios (SOARES *et al.*, 2003). Apesar do veneno *in natura* ser considerado inadequado para o uso terapêutico existe a possibilidade dos constituintes isolados serem úteis no tratamento de diferentes patologias. O objetivo deste trabalho foi identificar a fração com atividade antinociceptiva do veneno da serpente *Caudisona durissa collilineata*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Venenos** - O veneno de *Caudisona durissa collilineata* foi extraído por massagem manual da glândula de veneno de serpentes mantidas em cativeiro no Centro de Estudos e Pesquisas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEPB/PUC-GO). Após a extração o veneno foi centrifugado e o sobrenadante foi liofilizado e estocado a temperatura de -86°C, até o momento da realização das análises.

**Animais** - Foram utilizados camundongos machos albinos Swiss com 20-25 g, fornecidos pelo Biotério do CEPB/PUC-GO, os quais foram divididos aleatoriamente

em grupos (n=8). Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 h), com água e ração ad libitum.

**Fracionamento** - O veneno bruto foi fracionado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em um gradiente de 10-75% de acetonitrila com TFA 0,1%, durante 20 min, em fluxo de 1,0 mL/min. Frações de 1,0 mL foram coletadas.

**Atividade Antinociceptiva** - A atividade antinociceptiva foi avaliada frente a estímulo químico (teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6%; 0,1 mL/10g,) onde foi feito o pré-tratamento 20 min antes do tratamento i.p. e 45 min antes do tratamento p.o. com o veneno bruto ou a fração FrS. O número de contorções foram avaliadas por 20 min.

**Análise Estatística** - Os resultados foram analisados pelo T de Student – Newman Keul, ANOVA e pelo teste Tukey, com nível de significância de 0,05. O software utilizado foi o INSTAT

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento do veneno de *C. d. collilineata* gerou 13 picos (Figura 1), nos quais a atividade antinociceptiva foi avaliada através de contrações abdominais provocadas por ácido acético, sendo que apenas uma exibiu atividade antinociceptiva e foi chamada de FrS, sendo o melhor resultado na dose 40µg/Kg. Por via i.p., essa dose reduziu o número de contorções abdominais de (40,12±6,24) grupo controle (salina, i.p.) para 11,43±2,46\*\* (Figura 2). Os tratamentos, por via oral, com o Cdc-b 40µg/Kg e FrS 40µg/Kg, reduziram o número de contorções de 41.44±0,62 (grupo controle) para 19.00±2.33\*\*\* e 2.77±0,75\*\*\*, respectivamente (Figura 3).

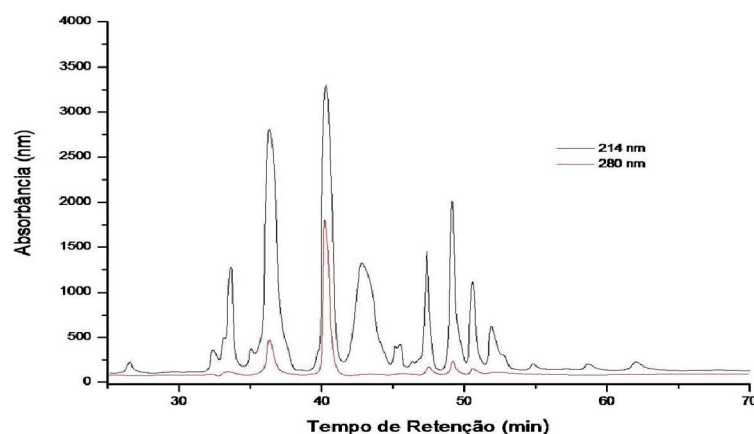


Figura 1 – Perfil cromatográfico do veneno bruto de *Caudisoma durissa collilineata* realizado por HPLC em gradiente de 10-75% de acetonitrila com TFA 0,1%, durante 20 min, em fluxo de 1,0 mL/min.

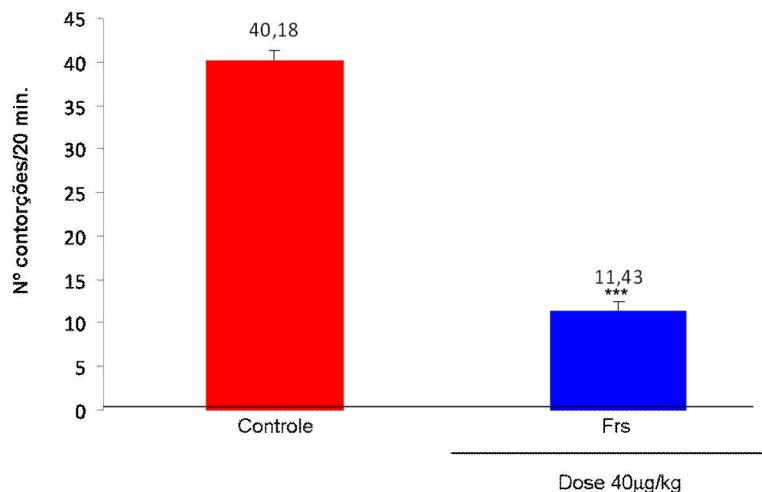


Figura 2 – Efeito da fração FrS do veneno de *Caudisona durissa collilineata* número de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos. A fração e o controle (solução salina 0,9%) forma administrados 20 minutos antes do ácido acético 0,6% (i.p.) (0,1 MI/10g) N- 8. Os valores representam a média ± E.P.M. \*\*\*P<0,001. ANOVA seguido pelo teste T de Student Newman Keul.

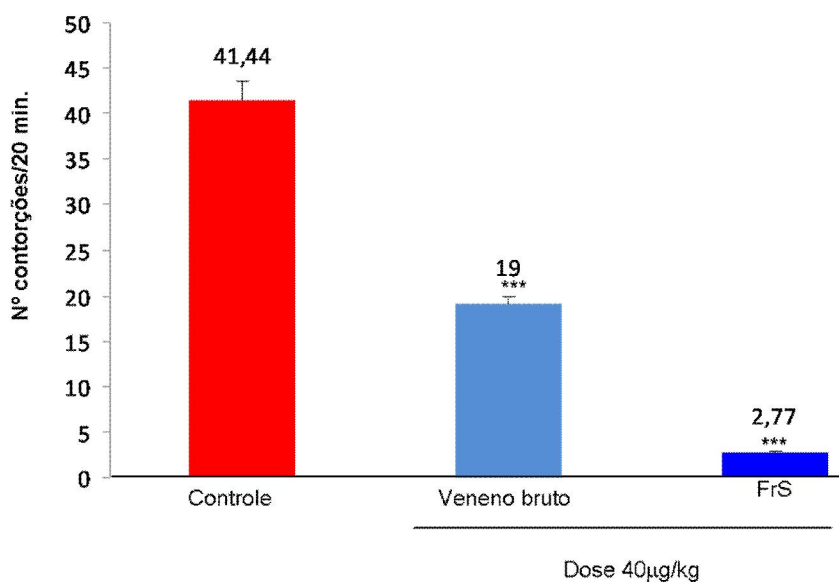


Figura 3 - Efeito Ddo venneo bruto e fração FrS do veneno de *Caudisona durissa collilineata* número de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos. A fração e o controle (solução salina 0,9%) forma administrados 45 minutos antes do ácido acético 0,6% (v.o.) (0,1 MI/10g) N- 8. Os valores representam a média ± E.P.M. \*\*\*P<0,001. ANOVA seguido pelo teste T de Student Newman Keul.

Os venenos ou toxinas são importantes ferramentas científicas para o entendimento da fisiopatologia da dor ou de mecanismo analgésico de drogas,

sendo utilizado tanto para o próprio entendimento dos mecanismos nocetivos e também para o estudo de substâncias analgésicas (MOREIRA, 2003).

Os modelos de dor podem ser empregados para avaliação da ação lesiva de venenos e toxinas, como também para a avaliação da atividade analgésica. Os venenos/toxinas podem ser usados também como agentes terapêuticos, sendo fonte de substâncias (opioides, liberadores ou bloqueadores de canais) ou ainda como ferramentas importantes para o entendimento da patologia da dor ou para a instalação de modelos que mimetizem as condições patológicas do homem (MOREIRA, 2003).

O teste de contorções abdominais induzidos por ácido acético em camundongos é muito utilizado como screening de substâncias analgésicas (COLHIER *et al.*; 1968). A reação de dor posterior a administração de substância exógena resulta na liberação de várias substâncias endógenas, denominadas algogênicas, que ativam os nociceptores envolvidos neste processo (FALEIROS *et al.*; 1997).

Embora os resultados mostrem atividade antinociceptiva no veneno bruto e da fração isolada, faz-se necessário a realização de testes farmacológicos que identifiquem se a antinocicepção encontrada trata-se de um analgésico, anti-inflamatório, relaxante muscular ou anestésico.

## CONCLUSÃO

O veneno bruto Cdc-b e a fração FrS de *Caudisona durissa collilineata* mostraram atividade antinociceptiva tanto pelo tratamento pela via oral como pela via intraperitoneal, com a utilização de outros modelos será possível verificar se este efeito é central e/ou periférico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREU, D., AND RIVAS, L. Animal antimicrobial peptides: an overview. **Biopolymers**, v.47, n.6, p.415-433. 1998.

CURY, Y. & PICOLO, G. Animal toxins as analgesics--an overview. **Drug News Perspect**, v.19, n.7, p.381-392. 2006.

FALEIROS, R. R. ; ALVES, G. E. S. ; MARQUES JR, A. P. . Dor aguda: vias anatômicas, bioquímica e fisiopatologia. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária (UFMG)** ,v. 21, p. 5-14, 1997.

GOMES, V. M., CARVALHO, A. O., DA CUNHA, M., KELLER, M. N., BLOCH JR, C., DEOLINDO, P. AND ALVES, E. W. Purification and characterization of a novel peptide with antifungal activity from *Bothrops jararaca* venom. **Toxicon**, v.45, p.817-827. 2005.

MOREIRA, K.G. Estudo das atividades antinociceptiva e antiinflamatória do veneno de bruto da serpente *Crotalus durissus collilineatus* crotamina positiva e crotamina negativa. Tese de mestrado. UFC, 2003.

NAIR, D. G., FRY, B. G., ALEWOOD, P., KUMAR, P. P. & KINI, R. M. Antimicrobial activity of omwaprin, a new member of the waprin family of snake venom proteins. **Biochem J**, v.402, n.1, p.93-104. 2007.

RAJENDRA, W., ARMUGAM, A. & JEYASEELAN, K. Toxins in anti-nociception and anti-inflammation. **Toxicon**, v.44, n.1, p.1-17. 2004.

RODRIGUES, V. M., MARCUSSI, S., CAMBRAIA, R. S., DE ARAUJO, A. L., MALTA-NETO, N. R., HAMAGUCHI, A., FERRO, E. A., HOMSI-BRANDEBURGO, M. I., GIGLIO, J. R. & SOARES, A. M. Bactericidal and neurotoxic activities of two myotoxic phospholipases A<sub>2</sub> from *Bothrops neuwiedi* pauloensis snake venom. **Toxicon**, v.44, n.3, p.305-314. 2004.

SANTAMARIA, C., LARIOS, S., ANGULO, Y., PIZARRO-CERDA, J., GORVEL, J. P., MORENO, E. & LOMONTE, B. Antimicrobial activity of myotoxic phospholipases A<sub>2</sub> from crotalid snake venoms and synthetic peptide variants derived from their C-terminal region. **Toxicon**, v.45, n.7, p.807-815. 2005.

SOARES, A. M., MARCUSSI, S., STABELI, R. G., FRANCA, S. C., GIGLIO, J. R., WARD, R. J. & ARANTES, E. C. Structural and functional analysis of BmjMIP, a phospholipase A<sub>2</sub> myotoxin inhibitor protein from *Bothrops moojeni* snake plasma. **Biochem Biophys Res Commun**, v.302, n.2, p.193-200. 2003.

TONISMAGI, K., SAMEL, M., TRUMMAL, K., RONNHOLM, G., SIIGUR, J., KALKKINEN, N. & SIIGUR, E. L-amino acid oxidase from *Vipera lebetina* venom: isolation, characterization, effects on platelets and bacteria. **Toxicon**, v.48, n.2, p.227-237. 2006.

**ORGÃO FINANCIADOR: CAPES, CNPq, PUC-GO.**