

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
Coordenadoria Geral de Pesquisa – CGP
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bloco 06 – Bairro Ininga
Cep: 64049-550 – Teresina-PI – Brasil – Fone (86) 215-5564 – Fone/Fax (86) 3215-5560
E-mail: pesquisa@ufpi.edu.br

EXTRAÇÃO DO VENENO DA GLÂNDULA PARATÓIDE DE *Rhinella jimi* STEVAUX, 2002 (ANURA: BUFONIDAE) NOS PERÍODOS SECO E CHUVOSO DO SEMIÁRIDO NORDESTINO, PIAUÍ.

Erick Leal da Silva (discente do ICV/UFPI), Mariluce Gonçalves Fonseca (Orientador, Departamento de Ciências Biológicas – UFPI)

Introdução

A secreção da pele dos anfíbios é uma extraordinária fonte de compostos farmacologicamente ativos, tais como peptídeos, alcaloides, aminas biogênicas, proteínas e esteroides (CUNHA FILHO, 2010). Dentre os anfíbios tóxicos destacam os da família Bufonidae, como a espécie *Rhinella jimi*, eles são importantes principalmente na medicina veterinária por causar intoxicações em cães, porém são destituídos de órgãos inoculadores de veneno e os acidentes ocorrem principalmente por contato direto com as glândulas paratóides. (SONNER et al. 2008; FONSECA, 2015).

Muitos ensaios podem ser utilizados para estabelecer a toxicidade desses extratos de veneno, como o bioensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais, mas que também pode ser utilizado para expressar a toxicidade de outras substâncias naturais (RUIZ, 2005).

A busca por novas substâncias antibacterianas, a partir de fontes naturais tem sido um dos grandes interesses da indústria farmacêutica, tornando esse estudo necessário e bastante promissor, além de fazer uma comparação de como a concentração de seus componentes se apresentam tanto na época chuvosa como de estiagem.

Dessa forma este estudo teve como objetivo verificar a concentração dos componentes farmacologicamente ativos da glândula paratóide de anuros Bufonidae na época seca e chuvosa.

Metodologia

Os indivíduos foram capturados e levados ao laboratório para a extração da secreção produzida pela glândula paratóide, por compressão manual. O material coletado era imediatamente acondicionado em frascos colocados sob refrigeração para posterior análise química em HPLC. Os extratos dos venenos, para época seca e chuvosa, foram preparados utilizando método de ultrassom com 225 mL de metanol e 30 minutos de extração a temperatura ambiente. Para análise em HPLC, foi utilizado um HPLC analítico equipado com degaseificador DGU-20A5R, bomba LC-20AT, válvula LPGE kit, injetor SIL-20AHT, forno CTO-20A, detector DAD SPD-M20A e controlador CBM20A da

marca SHIMADZU. O sistema utilizado no equipamento é o software *Shimadzu Lab Solutions* desenvolvido pela própria empresa. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna da Phenomenex do tipo Luna C-18 (250,0 mm x 4,6 mm; 5 µm). A fase móvel utilizada foi CH₃CN com pureza adequada para o uso e água purificada em sistema Milli-q. com programação de 5% de CH₃CN (0 min), 100% de CH₃CN (45 min) e 100% de CH₃CN (60 min). A taxa de fluxo foi de 1 mL min⁻¹ com volume de injeção de 20 µL e concentração da amostra de 2,5 mg mL⁻¹. A detecção por UV foi em comprimento de onda de 290 nm. Para a atividade biológica em *Artemia salina*, obteve-se as espécimes em um mini-aquário com diferença de iluminação em solução salina – 35 g L⁻¹ para simular a água do mar. Soluções, preparadas com CH₂Cl₂, foram preparadas nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 µg mL⁻¹, em triplicata, esperando-se evaporar o solvente. Logo após a evaporação, adicionou-se uma gota de DMSO, para solubilização, e 10 microcrustáceos em cada recipiente elevando o volume até a marca de 5 mL com solução salina. Posteriormente, passada 24 horas, realizou-se a contagem e com esses dados os valores médios de concentração letais (CL₅₀) foram obtidos por análise próbitos.

Resultados e Discussão

O teste de letalidade para *Artemia salina* para o extrato em época chuvosa apresentou valores de concentração letal média CL₅₀ = 5,948 µg mL⁻¹ com intervalo de confiança de 95%. Do mesmo modo para o extrato em época de seca exibiu CL₅₀ = 193,166 µg mL⁻¹, também com intervalo de confiança de 95%.

Relativo a sua toxicidade, o extrato metanólico para estação chuvosa mostrou-se abaixo do controle positivo para CL₅₀, indicando uma boa ação de toxicidade frente à *Artemia salina*, demonstrando um possível potencial citotóxico. Diversos trabalhos tentam correlacionar a toxicidade sobre *Artemia salina* com atividades como antifúngica, viruscida e antimicrobiana, parasiticida, tripanossomicida, entre outras. Alguns pesquisadores têm utilizado sistematicamente este bioensaio na avaliação prévia de extratos de plantas conhecidas como antitumorais. As frações ou substâncias ativas são posteriormente testadas em diferentes culturas de células tumorais, obtendo-se uma boa correlação (SIQUEIRA, 1998).

Essa ação de maior toxicidade da estação chuvosa pode estar relacionada à sazonalidade, uma vez que, há uma drástica alteração climática entre o período seco e chuvoso, afetando diretamente as funções fisiológicas básicas dos anfíbios anuros, pois estes são extremamente vulneráveis à temperatura (CAMACHO, 2012) e disponibilidade de umidade do ar (ROME et al., 1992).

Conclusão

A partir do presente trabalho podemos concluir que houve uma maior letalidade das concentrações dos componentes do extrato do veneno de *Rhinella jimi* da estação chuvosa, quando analisadas no bioensaio *Artemia salina*.

Referências Bibliográficas

- CAMACHO, A. Respostas dos ectotermos a variação microclimática. **Revista da Biologia**. 8, 5–14, 2012.
- CUNHA FILHO, G. S. A. Bufadienólídeos da secreção cutânea de *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae): isolamento, caracterização, modificações químicas e avaliação das atividades biológicas. **UNB**. 2011.
- FONSECA, M. G.; MOREIRA, W. M. Q.; TSE, M. C. P. **Atividade do veneno de *Bufo schneideri* Werner, 1894 (Amphibia: Anura) sobre a mucosa lingual de ratos Wistar**. Disponível em: <http://www.unifafibe.com.br/revistasonline/arquivos/revistafafibeonline/sumario/9/17052011170345.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2015.
- ROME, L. C.; STEVENS, E. D.; JOHN-ALDER, H. B. The influence of temperature and thermal acclimation on physiological function. In: **Environmental Physiology of the Amphibians**, p. 183-205. Feder, M.E., Burggren, W.W., Eds, Chicago and London, The Univ. Chicago Press, 1992.
- RUIZ, A. L. T. G. et al. Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, p. 98-102, 2005.
- SIQUEIRA, J. M. de et al. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 557-559, 1998.
- SONNER, L., ROZZA, D; WOLFFENBUTTEL, A. N., MEIRELLES, A. E. W. B., PEDROSO, P. M. O., OLIVEIRA, E. C. D. & DRIEMEIER, D. Intoxicação por veneno de sapo em um canino. **Ciência rural**. Santa Maria. Vol. 38, n. 6 (set. 2008), p. 1787-1789, 2008.

Palavras-chave: Sazonalidade. Toxicidade. *Artemia salina*.