



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

ARTHUR DE OLIVEIRA ARAÚJO

ATIVIDADE ANTI-HIALURONIDÁSICA DE PRODUTOS DA PLANTA *Doyerea emetocathartica* FRENTE A PEÇONHA DA SERPENTE *Bothrops erythromelas*

**CAMPINA GRANDE – PB
2023**

ARTHUR DE OLIVEIRA ARAÚJO

ATIVIDADE ANTI-HIALURONIDÁSICA DE PRODUTOS DA PLANTA *Doyerea emetocathartica* FRENTE A PEÇONHA DA SERPENTE *Bothrops erythromelas*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Programa de Graduação em Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmácia

Orientador: Prof. Dr. Harley da Silva Alves

Co-orientadora: Profa. Dra. Karla Patrícia de Oliveira Luna

**CAMPINA GRANDE – PB
2023**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A663a Araujo, Arthur de Oliveira.
Atividade anti-hialuronidásica de produtos da planta
Doyerea emelocathartica frente a peçonha da serpente
Bothrops erythromelas [manuscrito] / Arthur de Oliveira
Araujo. - 2023.
35 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde, 2023.

"Orientação : Prof. Dr. Harley da Silva Alves, Coordenação
do Curso de Farmácia - CCBS."

"Coorientação: Profa. Dra. Karla Patrícia de Oliveira Luna ,
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. *Bothrops* sp. 2. Etonobotânica. 3. Cabeça de nego. I.

Título

21. ed. CDD 615

ARTHUR DE OLIVEIRA ARAÚJO

ATIVIDADE ANTI-HIALURONIDÁSICA DE PRODUTOS DA PLANTA *Doyerea emetocathartica* FRENTE A PEÇONHA DA SERPENTE *Bothrops erythromelas*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação / Departamento do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Farmácia.

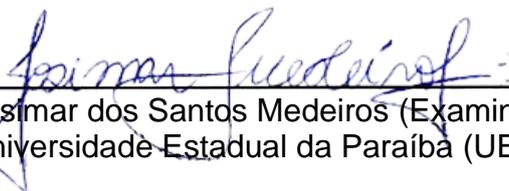
Área de concentração: Farmácia.

Aprovado em: 23/11/2023

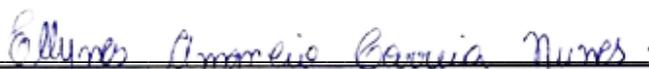
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Harley da Silva Alves (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Josimar dos Santos Medeiros (Examinador Interno)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Ma. Ellynes Amancio Correia Nunes (Examinadora Externa)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

AGRADECIMENTOS

À Yahweh, que me deu todos os recursos de que eu precisava para passar pelas dificuldades e conquistar o objetivo.

Às pessoas excepcionais que ele colocou em meu caminho, em especial os até então mestrandos Genil de Oliveira Dantas e Rayane Gabrielle Brasil de Vasconcelos.

À Silvaney Medeiros, proprietário do museu vivo Répteis da Caatinga, pela boa vontade, gentileza, tempo e prestatividade em colocar seus animais à disposição.

Aos meus orientadores, pela recepção e disposição para com a minha proposta.

Ao professor Josimar Medeiros, pelo incentivo acerca da temática abordada.

Aos meus colegas de estágio: Alana, Ana, Arlindo e Chirlane pelo companheirismo na reta final e pela companhia de todos os dias.

Aos meus amigos que me apoiaram desde o início e me incentivaram a levar adiante esse desafio.

Ao Professor J.R.R. Tolkien, autor da frase que expressa bem a trajetória do graduando: “Não existe triunfo sem perda, não há vitória sem sofrimento, não há liberdade sem sacrifício”.

“...sede prudentes como as serpentes e mansos como as pombas.”
Mateus 10:16

RESUMO

O empeçonhamento é uma doença tropical negligenciada e problema geral notificado em todo o globo, tendo milhões de casos anualmente. No Brasil os tratamentos podem ou não ser totalmente eficazes dependendo da espécie causadora. A espécie *Bothrops erythromelas* é um exemplo que burla a eficácia da soroterapia anti peçonha nos efeitos locais. Dito isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito inibidor dos produtos da espécie *Doyerea emetocathartica* frente a peçonha de *B. erythromelas*. Para isto, o material vegetal passou por etapas: secagem em estufa, trituração, maceração com etanol 70% (extrato hidroetanólico - EHE) e liofilização deste, e parte do material liofilizado (1000 g) foi submetido a um particionamento líquido-líquido com diferentes solventes, obtivendo-se as fases (hexânica e butanólica). Posteriormente executou-se ensaios de inibição *in vitro* da degradação de ácido hialurônico pela ação da peçonha, onde incubou-se em uma placa de 96 poços o EHE e as fases em diferentes diluições junto do substrato e da peçonha. Em um leitor de microplacas foi avaliada a absorvância de cada poço, afim de analisar a capacidade inibitória de cada um destes produtos. Tanto o extrato bruto quanto as fases hexânica e butanólica apresentaram resultados positivos quanto a eficiência na preservação do substrato presente nos testes, experimentos esses que atestaram maior atividade inibitória do extrato de fase butanólica (4.630%) no enfrentamento dos efeitos da peçonha se comparada com a fase hexânica (3.095%) e o extrato bruto (4.191%), onde houve uma inibição da degradação do ácido hialurônico mais eficaz, sendo esses, valores referentes a maior concentração de cada extrato. Os resultados atestam boas respostas dos extratos testados, através das quais, produtos isolados destes compostos podem vir a ser sintetizados, e formas de terapia adjuvantes à soroterapia podem vir a ser criadas através destes produtos.

Palavras-chave: *Bothrops sp*; etnobotânica; cabeça de nego.

ABSTRACT

The evenomiting is a neglected tropical disease and a widespread problem reported all over the world, with millions of cases every year. In Brazil, treatments may or may not be totally effective, depending on the causative species. The *Bothrops erythromelas* species is an example that circumvents the efficacy of anti-venom serotherapy in terms of local effects. That said, the aim of this study was to evaluate the inhibitory effect of products from the species *Doyerea emetocathartica* against the venom of *B. erythromelas*. To do this, the plant material was dried in an oven, crushed, macerated in 70% ethanol (hydroethanolic extract - HEE) and freeze-dried. Part of the freeze-dried material (1000 g) was subjected to liquid-liquid partitioning with different solvents to obtain the hexane and butanolic phases. Subsequently, *in vitro* inhibition tests were carried out on the degradation of hyaluronic acid by the action of the venom, in which the EHE and the phases were incubated in a 96-well plate in different dilutions with the substrate and the venom. The absorbance of each well was evaluated in a microplate to analyze the inhibitory capacity of each of these products. Both the crude extract and the hexanolic and butanolic phases showed positive results in terms of their efficiency in preserving the substrate present in the tests. These experiments attested to the greater inhibitory activity of the butanolic phase extract (4.630%) when compared to the hexane phase (3.095%) and the crude extract (4.191%), where there was a more effective inhibition of hyaluronic acid degradation. These values refer to the highest concentration of each extract. The results attest to the good responses of the extracts tested, through which products isolated from these compounds can be synthesized and forms of adjuvant therapy to serotherapy can be created using these products.

Keywords: *Bothrops sp*; ethnobotany, cabeça de nego.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Exemplar da espécie *Bothrops erythromelas* usada na coleta de peçonha ofídica
- Figura 2 Estrutura química da Cucurbitacina
- Figura 3 Captura do processo de extração manual da peçonha bruta
- Figura 4 Exemplares de *Doyerea emetocathartica in situ*
- Figura 5 Fluxograma da obtenção do material vegetal
- Figura 6 Processo de partição líquido-líquido da amostra
- Figura 7 Fluxograma obtenção das fases
- Figura 8 Gráfico da avaliação do desempenho inibitório da degradação do ácido hialurônico causada pelo veneno de *B. erythromelas* em diferentes concentrações na presença do Extrato bruto de *Doyerea emetocathartica*.
- Figura 9 Gráfico da avaliação do desempenho inibitório da degradação do ácido hialurônico causada pelo veneno de *B. erythromelas* em diferentes concentrações na presença do Extrato de fase hexânica de *Doyerea emetocathartica*
- Figura 10 Gráfico da avaliação do desempenho inibitório da degradação do ácido hialurônico causada pelo veneno de *B. erythromelas* em diferentes concentrações na presença do Extrato de fase butanólica de *Doyerea emetocathartica*
- Figura 11 Processo de interação de peçonha com matrizes celulares que contém ácido hialurônico

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACAM	Herbário Manuel de Arruda Câmara
<i>A. Congestiflora</i>	<i>Apodanthera congestiflora</i>
AH	Ácido hialurônico
<i>B. erythromelas</i>	<i>Bothrops erythromelas</i>
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CPPI	Centro de Pesquisa e Produção de Imunobiológicos
<i>D. emetocathartica</i>	<i>Doyerea emetocathartica</i>
DTN	Doenças tropicais negligenciadas
EB	Extrato bruto
FB	Fase butanol
FH	Fase hexano
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
HTAB	Brometo de hexadeciltrimetilamônio
MEC	Membrana extracelular
SAB	Soro antibotrópico
SIABI	Sistema Integrado de Automação de Bibliotecas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	Ácido hialurônico.....	13
3.2	<i>Bothrops sp.</i>	13
3.2.1	<i>Bothrops erythromelas</i>	14
3.3	Etnobotânica.....	16
3.3.1	<i>Doyerea emetocathartica</i>	17
4	METODOLOGIA	19
4.1	Caracterização da pesquisa.....	19
4.2	Materiais.....	19
4.2.1	Peçonha ofídica.....	19
4.2.2	Material Vegetal.....	20
4.2.3	Obtenção da droga vegetal.....	20
4.2.3.1	<i>Obtenção do extrato hidroalcoólico</i>	20
4.2.3.2	<i>Obtenção das fases</i>	21
4.3	Ensaio de inibição de atividade hialuronidásica.....	23
4.4	Tratamento estatístico.....	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
5.1	Inibição de atividade hialuronidásica.....	25
6	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas é um grupo composto por enfermidades que prevalecem majoritariamente em áreas de zonas tropicais, de modo a impactar gravemente comunidades carentes e em situação de vulnerabilidade. Estas doenças causam consequências graves para a saúde de milhares de pessoas. O empoçonhamento por serpentes é um grave problema de saúde pública em muitas regiões do mundo, representando cerca de 2,7 milhões de acidentes por ano. No Brasil, em 2020, foram registrados 31.395 de acidentes por serpentes peçonhentas, dos quais aproximadamente 70% são infligidos pelo gênero *Bothrops*, ou jararacas, como são popularmente chamadas. Vítimas de acidentes ofídicos por espécies de serpentes do gênero *Bothrops* desenvolvem manifestações locais e sistêmicas como edema, dor, equimose, bolhas, mionecrose, hemorragia gengival, hematúria, epistaxe, hemorragia, e infiltração de leucócitos (Who, 2017; Who, 2019; Brasil, 2022). Na peçonha de serpentes peçonhentas, incluindo o gênero *Bothrops*, 90% do peso seco das suas peçonhas consiste em proteínas, podendo estas serem enzimáticas ou não como: serino-peptidases, metalopeptidases, L-aminoácido oxidase, fosfolipases, hialuronidases, desintegrinas, lectinas de tipo C e peptídeos natriuréticos (Nunes et al. 2020).

O tratamento específico indicado pelo Ministério da Saúde para empoçonhamentos com serpentes se baseia em soros antiofídicos (Mol, 2018). No Brasil são produzidos pelo Centro de Pesquisa e Produção de Imunobiológicos (CPPI), Instituto Butantan, Instituto Vital Brasil e Fundação Ezequiel Dias – FUNED, através da utilização de anticorpos provenientes de equinos, e por meio deste, o soro antibotrópico (SAB), é produzido com peçonhas oriundas de um pool de espécies do gênero *Bothrops* que mais ocorrem no território nacional, sendo elas: *B. jararaca* (50%), *B. alternatus* (12,5%), *B. moojeni* (12,5%), *B. jararacuçu* (12,5%) e *B. mattogrossensis* (12,5%), este soro por sua vez é distribuído pelo Ministério da Saúde, abastecimento este, sujeito a complicações e até a escassez, o que potencializa o risco de sequelas relacionadas aos efeitos locais da peçonha, principalmente nos casos envolvendo crianças e idosos, sendo infelizmente a soroterapia não se mostra totalmente eficaz frente aos efeitos locais causados pela

peçonha de *Bothrops erythromelas*. (Nunes et al., 2020; Fan et al., 2019; Silva et al., 2017).

A serpente *Bothrops erythromelas* pertence à família Viperidae, e é considerada como a espécie que causa mais incidentes de picadas no Nordeste brasileiro, é encontrada em todo o território da Caatinga, que por sua vez é um bioma exclusivo do Brasil (Nery et al., 2020).

Desta forma, a etnobotânica se define pelo conhecimento do ser humano para com as formas de vida vegetais e suas preparações terapêuticas ou não. O conhecimento que envolve as plantas e suas partes, tanto na forma de preparações de alimento como na forma de modos de tratamentos medicinais de diversas condições clínicas visando a cura ou a sua atenuação de sinais e sintomas (Fontana et al., 2021).

O Brasil sendo detentor de uma flora robusta e diversificada, possui potenciais terapêuticos e tóxicos altíssimos. Tendo em vista estes atributos, estudos em torno da etnobotânica e sua divulgação em meios científicos requer atenção especial. As plantas com propriedades medicinais são aquelas capazes de interferir na fisiologia de um sistema biológico através de seus metabólitos secundários, provocando um efeito farmacológico (Silva; Bündchen, 2012).

Sendo os acidentes por serpentes peçonhentas responsáveis por um número abundante de casos graves, que são capazes ou não de acarretar desde sequelas, que podem ir de necroses até amputações de membros, gerando incômodos permanentes e redução na qualidade de vida, até óbitos e tendo ciência desses fatos, é de interesse público que sejam investigadas e apresentadas novas vias terapêuticas que busquem atingir resultados similares ou complementares à soroterapia na abordagem médica. Em compostos naturais ou seus produtos isolados podemos encontrar candidatos com potencial de demonstrar avanços como terapia alternativa para a intoxicação por *B. erythromelas*, uma espécie ausente no pool da confecção do SAB, e com grande incidência de acidentes ofídicos no Nordeste brasileiro. De modo a reduzir a morbidade dos acidentes bem como sequelas (Silva; Pardal, 2018; Araújo et al., 2018; Nunes et al., 2020; Arruda et al., 2021).

2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos obter fases separadas do extrato hidroetanólico da espécie vegetal *Doyerea emetocathartica* e investigar o potencial efeito das mesmas, na neutralização de toxinas da peçonha da serpente *B. erythromelas*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Ácido Hialurônico

O ácido hialurônico (AH) é classificado como um glicosaminoglicano (polissacarídeo) composto de unidades alternadas e repetitivas de ácido D-glicurônico e N-acetil-D-glicosamina com propriedades hidrofílicas, as quais provocam aumento do volume tecidual. Este polissacarídeo é abundante na matriz extracelular e bastante presente em muitos órgãos bem como no líquido sinovial, cordão umbilical, humor vítreo e cartilagem, tendo uma ampla gama de funções morfofisiológicas, dentre elas, a função de estabilizar a matriz extra celular que juntamente com outros componentes retarda a infiltração de microorganismos e também atua em cascatas de sinalização celular que geram respostas biológicas, principalmente relacionadas a imunologia do indivíduo, sendo sintetizado principalmente pelos fibroblastos (França; Tambourgi., 2023; Vasconcelos et al., 2020; Souza, 2023).

As descobertas sobre esse componente biológico se prolongaram durante muito tempo, e por muitas vezes houve testes em animais sob variadas demandas terapêuticas que foram desde a traumatologia até a oftalmologia e a dermatologia, consolidando o AH como substância fundamental em diversos compartimentos dentro de um sistema biológico, onde se viu a necessidade de sintetizar esta molécula, visando fins terapêuticos, tendo sido o AH como molécula desenvolvido em 1989 por Endre A. Balazs, possuindo biocompatibilidade e ausência de imunogenicidade (Souza, 2023).

3.2 *Bothrops sp.*

Dentre as serpentes pertencentes à família Viperidae, no Brasil, o gênero *Bothrops* é o que desperta maior interesse do ponto de vista médico, uma vez que é o responsável pelo maior número de acidentes ofídicos notificados no país, bem como apresenta um grande potencial farmacológico (Nery et al., 2016; Brasil, 2020).

Assim como as demais espécies da família Viperidae, subfamília Crotaline, o gênero *Bothrops* é munido de um órgão sensorial que serve como diferencial na identificação de serpentes peçonhentas, a fosseta loreal, órgão termorreceptor que permite que o animal perceba a variação de temperatura entre o ambiente e sua presa e as caudas das jararacas não possuem maiores modificações o que as diferencia

das espécies do gênero *Crotalus*, possuindo uma cauda com um simples e abrupto afunilamento. Elas se distribuíram por toda a América do Sul, ocupando todos os biomas brasileiros e possuem cerca de 47 espécies catalogadas atualmente (Uetz e Hosek, 2023).

A soroterapia específica tem sido eficaz contra a letalidade e no tratamento das alterações fisiológicas induzidas pela peçonha botrópica, no entanto pouco eficaz para os efeitos locais, tendo o SAB um pool que integrado por anticorpos para as peçonhas de quatro espécies do gênero *Bothrops* sendo elas: 12,5% *B. Jararacacussu*; 12,5%; *B. alternatus*; 12,5% *B. moojeni*; 12,5% *B. jararaca*; 12,5% *B. neuwiedi* (Silva, 2018). A *B. erythromelas* é uma espécie ausente no pool, mesmo sendo a espécie mais proeminente em números de acidentes no Nordeste brasileiro. Isso implica em efeitos bioquímicos mais acentuados no ser humano decorrentes das diferenças bioquímicas da toxina produzida por essa espécie para as outras presentes no pool, o que vai acarretar na singularidade clínica no paciente acometido pela intoxicação. Uma consequência da ausência da peçonha no pool são agravos principalmente locais, agravos esses que são devidos às particularidades da peçonha da *B. erythromelas*, concedem poder proteolítico, edematogênico e inflamatório além de afetar diretamente a coagulação sanguínea. (Nunes et al., 2019).

A peçonha botrópica provoca ação proteolítica sobre os tecidos biológicos, decorrente da atuação de enzimas como a hialuronidases, esse componente é visto como potencial agente no dano da matriz extracelular e é provável que desempenhem um papel de fator de disseminação. Esta toxina está presente nas peçonhas de serpentes, principalmente do gênero *Bothrops*. A hialuronidase integra um grupo de proteínas enzimáticas constituídos de toxinas capazes de hidrolisar preferencialmente o AH, um polissacarídeo longo e linear que consta na matriz extracelular das células, ela é uma glicoproteína popularmente conhecida como “fatores de disseminação” sendo elas, atuantes no rompimento estrutural da membrana extracelular (MEC) através da degradação do AH, facilitando a difusão de toxinas do local da picada para a circulação e demais compartimentos do corpo do paciente. E, por aumentarem a taxa de distribuição de outras toxinas, agem como toxinas “amplificadoras” (Boldrini-França et al., 2017; Silva, 2018).

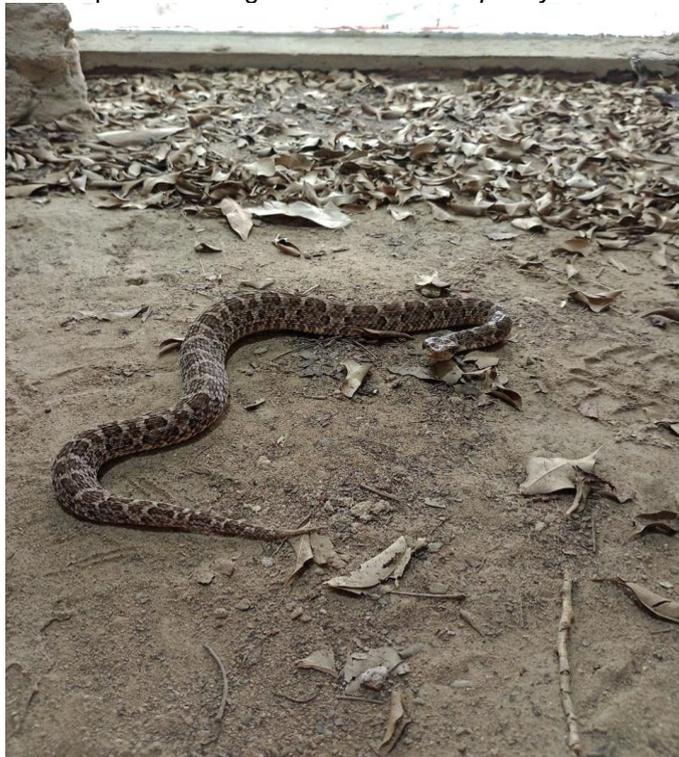
3.2.1 *Bothrops erythromelas*

No estado da Paraíba, observa-se um predomínio de acidentes botrópicos, sendo estes 6 vezes maiores que acidentes crotálicos e 16 vezes maior que acidentes elapídicos, entre os anos de 2007 e 2015, variando sua incidência de acordo com a região e do Estado (Brasil, 2018; Bernarde, 2014).

No Nordeste brasileiro a *B. erythromelas* é a espécie dominante do gênero *Bothrops*. Sendo a única representante desse grupo endêmica da Caatinga. A espécie apresenta hábitos noturnos, sendo ela terrestre, de dieta generalista, podendo ocorrer preferencialmente em ambientes secos e em ambientes úmidos da Caatinga (Menezes, 2018).

A *B. erythromelas* (**figura 1**) é considerada uma serpente que habita preferencialmente as áreas quentes do Nordeste brasileiro da Bahia ao Ceará e áreas de transição. É o único viperídeo endêmica da Caatinga, sendo registrada em toda a região (Modesto; Menezes, 2018).

Figura 1: Captura da imagem de uma *Bothrops erythromelas* *in situ*.



Fonte: acervo de pesquisa, equipe de estudos.

A maioria dos registros da *B. erythromelas* são de áreas de baixa altitude, abaixo dos 600 metros. Além disso é uma espécie conspícua encontrada em vegetações arbóreas, arbustivas e herbáceas, embora possa ser encontrada em áreas transição com a Mata Atlântica do Nordeste, nos estados de Rio Grande do

Norte, Paraíba, Pernambuco e Bahia (Uchôa et al., 2023; Reis, 2016).

É estimado que as peçonhas das serpentes de interesse médico sejam compostas por proteínas em praticamente todo seu conteúdo total (aproximadamente 90% do peso seco), principalmente por enzimas (fosfolipases, L-aminoácido oxidase, metalopeptidases e serinopeptidases) além de proteínas não enzimáticas (desintegrinas, lectinas de tipo C e peptídeos). A menor parte da peçonha, isto é, a parte não proteica, compreende ânions e cátions inorgânicos além de lipídeos, carboidratos e aminoácidos. Peçonha esta, detentora de frações que apresentam bandas com massa molecular entre 24, 29, 31, 36, 55 e 100 KDa, as quais não são inibidas pelo soro antiveneno comercial para acidentes com este gênero de serpente. (Nunes et al., 2019).

A peçonha de *B. erythromelas* como exposto anteriormente, potencial local de proteólise e de interferência direta na cascata de coagulação, ativando isoladamente ou simultaneamente o fator X e a protrombina, podendo atuar simulando efeitos da trombina, convertendo o fibrinogênio em fibrina, podendo gerar posteriormente uma incoagulabilidade e conseqüentemente um quadro de hemorragia local. Tendo em vista as limitações da soroterapia anti-peçonha descritas, torna-se importante a busca por alternativas complementares para o tratamento de acidentes ofídicos (Nunes et al., 2019).

3.3 Etnobotânica

3.3.1.1 Família Curcubitacea

As espécies que integram a família das cucurbitáceas são caracterizadas por se apresentarem como trepadeiras, possuindo aparência herbácea ou lenhosa, sendo perenes ou anuais. Possuem na sua estrutura a presença de tubérculos subterrâneos ou superficiais e por se tratarem de organismos de natureza tropical são em sua grande parte sensíveis a baixas temperaturas, característica essa que acaba por gerar condições que dificultam sua propagação por territórios onde as temperaturas não são ideais (Brandão Filho et al., 2018).

Nacionalmente, as cucurbitáceas possuem uma enorme diversidade de espécies vegetais, algumas de interesse econômico pelo seu uso alimentar, ornamental e terapêutico. As plantas dessa família são cultivadas principalmente para

fins alimentares, aromáticos, medicinais, ornamentais ou como fonte de matérias-primas para alguns produtos (Brandão Filho et al., 2018; Pereira, 2017).

3.3.1.2 *Doyerea emetocathartica*

A *Doyerea emetocathartica*, cujo sinônimo botânico em desuso é *Apodanthera congestiflora* antes se sofrer reclassificação botânica, é uma planta da família das cucurbitáceas e se distribui pela América do Sul bem como pelo território brasileiro e em especial na região Nordeste. É popularmente conhecida no Brasil como: cabeça-de-negro, batata-de-teiú, cabeça-de-tiú, a qual é utilizada medicinalmente em diferentes partes do mundo e é utilizada como chá para tratar dores de coluna e para tornar o sangue menos viscoso, este que é preparado através do uso das raízes da planta (Videres, 2017; Pereira, 2017).

Em relatos populares, a presença da *D. emetocathartica* é encontrada em diversas regiões do Brasil em conjunto com o Lagarto popularmente conhecido teiú (*Salvator merianae*), onde o mesmo em embates com serpentes peçonhentas como a jararaca da seca e outros membros do gênero *Bothrops*, utilizaria o consumo de partes da *D. emetocathartica* para anular os efeitos da peçonha da serpente (Costa-Neto, 2000).

Embora haja poucos estudos com a nova nomenclatura da planta (*D. emetocathartica*), há alguns estudos sobre a espécie vegetal em si, ainda que grande parte destes sejam destinados exclusivamente às raízes, ainda existe muito a se saber sobre os demais componentes (Silvestre, et al., 2021). Ainda baseando-se na antiga nomenclatura da espécie (*A. congestiflora*), foi elaborado um ensaio *in vivo* com outra espécie do gênero (*A. villosa*) conduzido por Vilar, Carvalho e Furtado (2007) que resultou em efeitos favoráveis ao retardo dos efeitos da peçonha de uma espécie do gênero *Bothrops* (*B. jararaca*) *in vivo*, com a sobrevivência dos roedores testados.

A morfologia da *D. emetocathartica* é muito característica da família *Cucurbitaceae*, ela perde suas folhas na época de estiagem e sobrevive basicamente com a água armazenada no paquípodio, uma parte característica da planta, possui caule delgado juntamente com gavinhas, que são modificações de ramos que representam uma sinapomorfia presente na família *Cucurbitaceae*. Nessa família as folhas são espiraladas, simples ou compostas frequentemente ovalado-oblongadas,

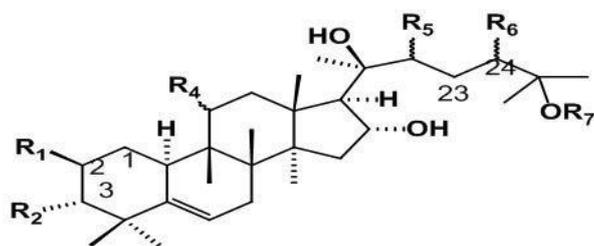
lobuladas ou trilobuladas, sem estípulas com presença de dentes cucurbitóides e suas flores são estaminadas reunidas em fascículos nodais e frutos elípticos, rostrados, alaranjados (Lima, 2010).

De acordo com os dados levantados na literatura, a *D. emetocathartica* é uma planta que se distribuindo por todo semiárido nordestino e além, desde o sertão do Piauí até o norte de Minas Gerais onde ainda afirma-se que o preparo do chá além de efeitos no tratamento de dores também é apontado como eficiente no uso externo para o tratamento de manchas e pruridos na pele, mas até os dias atuais, os relatos na literatura dessa espécie são escassos e se referem apenas ao uso das raízes (Silvestre et al., 2021).

As cucurbitacinas (**figura 2**), quimicamente identificadas como saponinas triterpênicas são os metabólitos mais presentes nessa família, onde a maioria dos compostos pertencentes a esta classe possuem uma ampla capacidade terapêutica, visto que possuem variações estruturais de grande potencial farmacológico, entre estas variações estão as norcucurbitacinas das quais três foram identificadas na espécie *D. emetocathartica* por Silvestre et al (2021) (cayaponosídeo C5b, cabenosídeo C e fevicordina C2 glicosídeo), onde no respectivo trabalho dentre as atividades que esses compostos desempenham está a atividade anti-inflamatória, demonstrando que essas substâncias têm potencial para atuar nas vias do sistema imunológico (Silvestre et al., 2021).

Mediante o exposto, destacam-se as plantas medicinais como candidatas a precursoras de substâncias inibitórias naturais e componentes farmacologicamente ativos, uma vez que podem aliviar alguns dos sintomas do empeçonhamento, especialmente os efeitos locais (Silva, 2018). Sendo assim, plantas medicinais apresentando atividades anti-inflamatória e antioxidante apresentam potencial aplicação no tratamento, especialmente, dos efeitos locais induzidos pelo empeçonhamento ofídico (Silva et al., 2018)

Figura 2: Estrutura geral da cucurbitacina



Fonte: Ali et al., 2019

4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização da pesquisa

Este trabalho é de natureza aplicada, caracterizado por uma metodologia de abordagem quantitativa, com objetivo exploratório e procedimentos experimentais, conforme a classificação proposta por Lakatos (2022). As etapas a seguir descrevem o processo de realização de todas as etapas do projeto proposto, desde a coleta do material vegetal e tratamento, até a interpretação dos dados estatísticos obtidos.

4.2 Materiais

4.2.1 Peçonha ofídica

A peçonha de *B. erythromelas* foi obtida em parceria com museu vivo Répteis da Caatinga, Puxinanã, Paraíba, Brasil (7°18'17.3"S 35°96'78.3"W), através de ordenha de espécimes em cativeiro (**figura 3**), e o mesmo passou pelo processo de liofilização e foi acondicionado à 4 °C protegida de incidência solar até o seu uso. O projeto encontra-se registrado no SISGEN sob número de cadastro A590C61.

Figura 3: Captura do processo de extração manual da peçonha bruta



Fonte: acervo de pesquisa, elaborada pela equipe de pesquisa

4.2.2 Material Vegetal

O material vegetal de *D. emetocathartica* (**figura 4**) foi coletado na cidade de barra de Santana, Paraíba (7°30'12.4"S 35°57'39.8"W), no dia 21 de outubro de 2022, em época de estiagem, e utilizou-se as folhas e caules das plantas adultas selecionadas. Mediante esta ação, foi confeccionada uma exsicata para identificação etnobotânica da planta citada e para análises de verificação da sua autenticidade, além disso, foi feito o depósito desta no Herbario Manuel de Arruda Câmara (ACAM), na Universidade Estadual da Paraíba sob o número de registro 1000.

Figura 4: Exemplos de *Doyerea emetocathartica* *in situ*



Fonte: acervo de pesquisa, elaborada pela equipe de pesquisa

4.2.3 Obtenção da droga vegetal

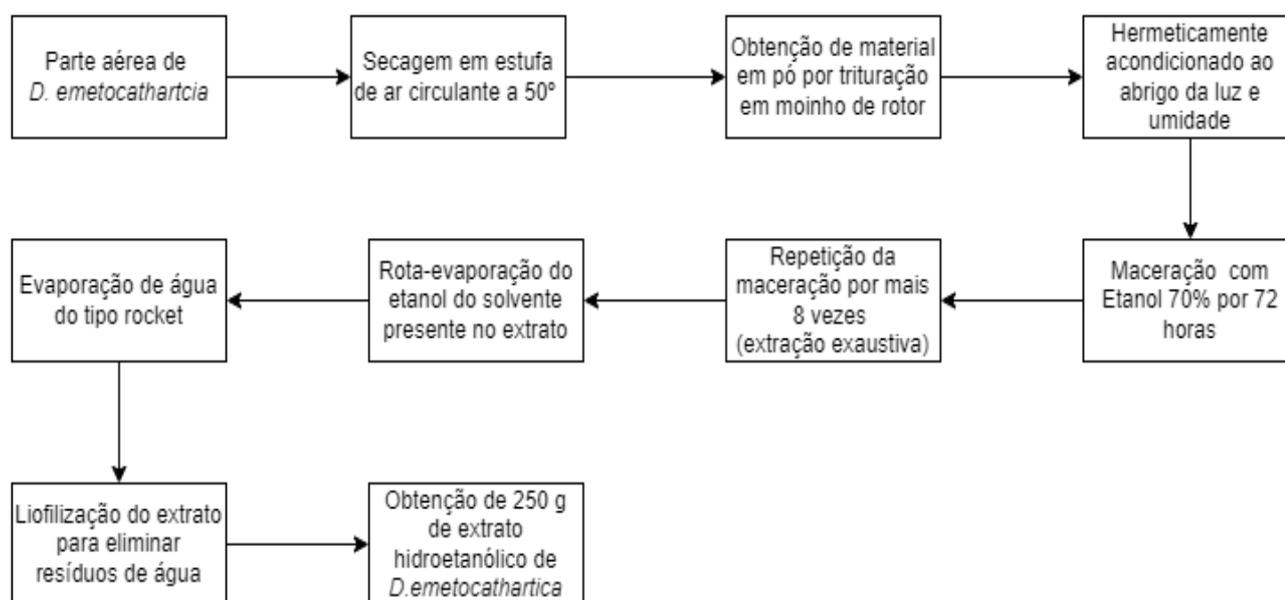
O processo de secagem das plantas foi realizado em estufa com renovação e circulação de ar, à temperatura de cerca de 50 °C, até atingir a estabilização da umidade dos exemplares. Após a secagem, o material foi triturado usando um moinho de rotor. Em seguida, foi acondicionado em frasco, hermeticamente fechado, protegendo-o do ar e da radiação solar (Silvestre, 2020).

4.2.3.1 Obtenção do extrato hidroalcoólico

Para obter o extrato hidroalcoólico, 1000g de pó de *D. emetocathartica* e 5000 mL de etanol (70%), foi submetida à maceração e descanso por 72 horas em recipiente de vidro, sendo feita uma agitação de duração de 1 minuto a cada 24 horas, sendo esse um processo de extração por exaustão, mediante isso o material foi mantido em repouso e após o término das 72 horas foi retirado o solvente do frasco. Feito isso, foi repetido esse processo de extração por mais 8 ciclos, chegando ao total de extrações.

Havendo a necessidade de remoção do etanol do extrato, foi feita a rota evaporação do etanol presente no solvente, como descrito por Silvestre, 2020, retirando quase totalmente o etanol, sendo o etanol 70% de difícil remoção completa do extrato, lançou-se mão de um método adicional, que foi a evaporação do tipo rocket, sendo esse útil para fazer a secagem do resíduo aquoso do extrato. Embora tenha sido eficaz, ainda foi possível observar umidade no material e sabendo que o rota evaporador não elimina a água contida na mistura, submeteu-se o extrato à liofilização, visando obter um material ideal, resultando em aproximadamente 250 gramas de extrato hidroetanólico dos galhos secos de *D. emetocathartica* (**figura 5**).

Figura 5: Fluxograma da obtenção do material vegetal



Fonte: Acervo de pesquisa, elaborada pelo autor

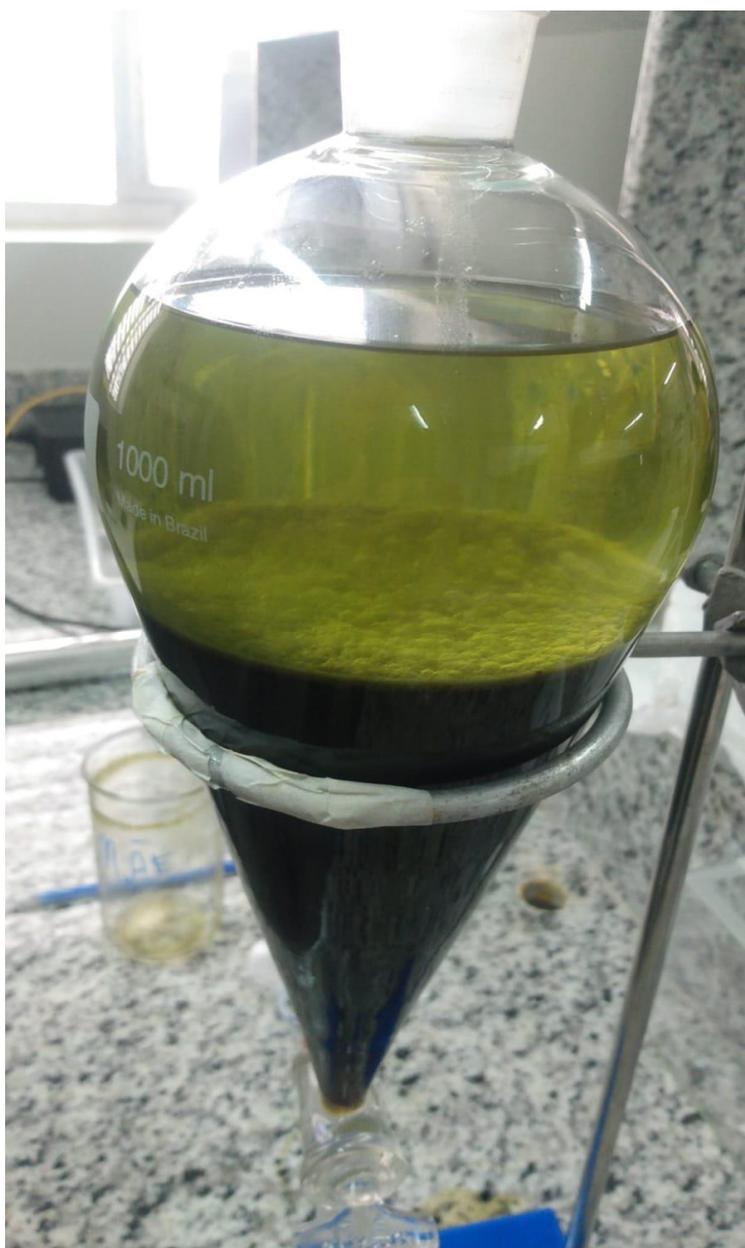
4.2.3.2 Obtenção de fases

Para as partições líquido-líquido, foram submetidos 100 gramas do extrato hidroetanólico e submetemos ao processo de partição líquido/líquido, que é realizada através de uma suspensão do extrato em uma mistura entre metanol e água (7:3). Utilizamos primeiramente o hexano, sendo ele o solvente mais apolar, logo em seguida diclorometano, seguido de acetato de etila e por fim adicionamos o butanol, sendo este o mais polar.

Em uma ampola de separação (**figura 6**) foram adicionamos 500 mL da suspensão previamente obtida. Em seguida foram adicionados 500 mL de hexano, que foi utilizado para a extração dos componentes lipofílicos do extrato. Pela grande

diferença de densidade entre os solventes utilizados, eles se tornam imiscíveis, possibilitam a separação. Coletou-se o hexano, reservou-se o mesmo e repetimos o processo até atingir a exaustão. Após isso, o processo foi repetido utilizando separadamente diclorometano, acetato de etila e butanol, para a obtenção das fases hexânica, diclorometano, acetato de etila e butanol.

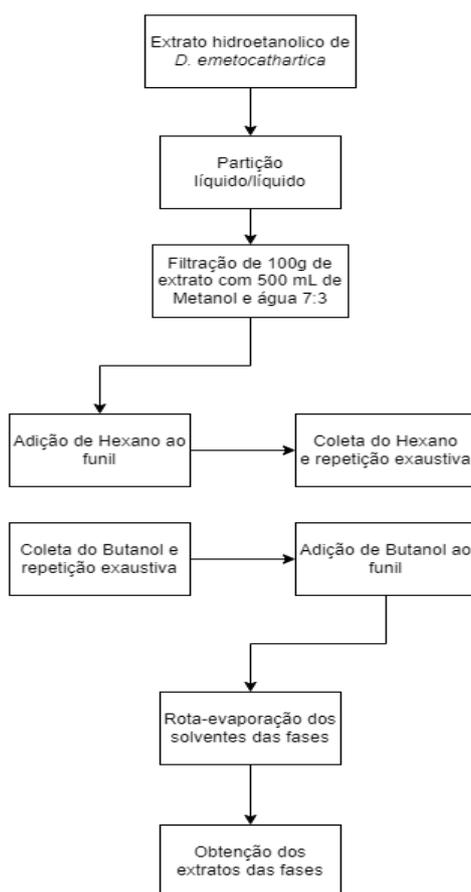
Figura 6: Processo de partição líquido-líquido da amostra.



Fonte: Acervo de pesquisa, elaborado pelo autor

Com o final do processo e tendo sido obtido essas extrações completas, utilizou-se o aparelho rota-evaporador para remover todo o restante dos solventes de suas respectivas fases para obter-se os extratos de fases Hexânica e Butanólica.

Figura 7: Fluxograma obtenção das fases



Fonte: Acervo de pesquisa, elaborado pelo autor

4.3 Ensaio de inibição de atividade hialuronidásica

Visando avaliar a potencial eficácia das fases do extrato perante a ação inflamatória da peçonha de *B. erythromelas*, utilizou-se o método turbidimétrico,

usando AH como substrato, tendo base em ensaios anteriores com algumas adaptações (Félix-Silva et al., 2017; Paixão-Cavalcante et al., 2015; Da Silva et al, 2022).

Lançou-se mão de diferentes concentrações de extrato que por sua vez foram pré-incubadas em banho maria por 30 minutos a 37°C em um volume final de 80 µL em tampão acetato de sódio 0,2 M, pH 6,0, este contendo em si NaCl 0,15 M. Em seguida, 20 µL de substrato (0,5 µg/mL⁻¹ em tampão acetato) foram adicionados e incubados durante 60 minutos a 37°C em estufa. O processo enzimático cessou mediante adição de 200 µL de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB) a 2,5% em hidróxido de sódio a 2%. Após 10 minutos exatos em temperatura ambiente, as absorbâncias foram lidas em 405 nm em aparelho leitor de microplacas (Epoch-Biotek, Winooski, VT, EUA). Brancos foram preparados semelhantemente, substituindo o substrato por tampão em volume igual ao do substrato utilizado. Uma concentração mínima hialuronidásica foi definida como a menor fração de peçonha suficientemente capaz de gerar um decréscimo de 50% da turbidez do substrato em relação ao controle em que se incubou apenas o mesmo (ausência de peçonha).

Durante os ensaios de inibição enzimática, a concentração mínima hialuronidásica (1 mg) foi pré-incubada com proporções crescentes de cada fase do extrato (1:12,5, 1:25, 1:50 1:100, 1:200), a 37°C durante 30 minutos e, logo após isso, o ensaio foi realizado de acordo com a descrição antes mencionada. Os resultados foram expressos em porcentagem de atividade hialuronidásica em relação ao controle, o qual se caracteriza por apenas a peçonha ter sido incubada (1:0 m/m peçonha:extrato, considerando 100% de atividade hialuronidase), como média ± erro padrão da média, com N = 3.

4.4. Tratamento estatístico

Os resultados foram expressos em média e desvio padrão ($N \cong 3$) após tratamento de dados por ANOVA, os testes foram executados por meio do software Excel versão 16.0. Os valores para significância foram definidos como $p > 0,05$.

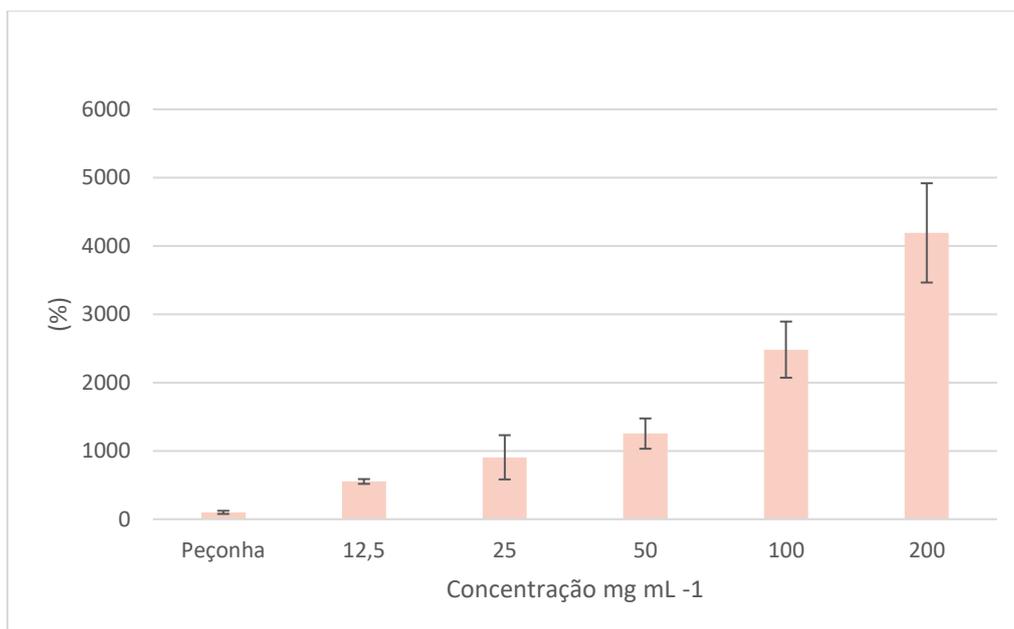
5.1 Inibição de atividade hialuronidásica

Os experimentos expressaram resultados promissores, indicando que as amostras de extrato hidroetanólico de *D. emetocathartica* sendo das fases Butanol (**figura 10**) e Hexano (**figura 9**), bem como o extrato hidroetanólico bruto (**figura 8**) demonstraram ser eficazes na inibição de atividade hialuronidásica. O controle se deu por considerar a atividade da peçonha sem extratos referente à 100% negativo. Implicando dizer que a concentração do extrato é proporcional à conservação do substrato.

Tal panorama indica a presença de potenciais compostos com diferentes polaridades capazes de propiciar a neutralização da atividade hialuronidásica desencadeada pela peçonha de *B. erythromelas*.

O extrato bruto obteve bons resultados no teste de inibição da atividade da hialuronidase da toxina de *B. erythromelas*, contendo degradação de aproximadamente 4.191% na proporção do melhor desempenho testado (1:200), diminuindo a eficácia em concentrações mais baixas (**figura 8**).

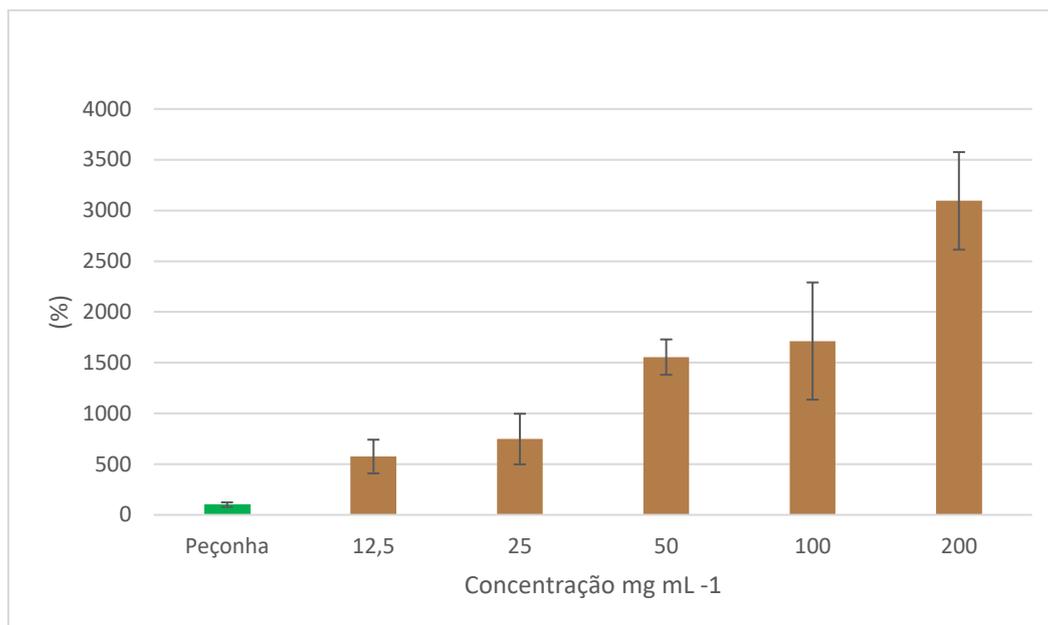
Figura 8: Avaliação do desempenho inibitório da degradação do ácido hialurônico causada pelo veneno de *B. erythromelas* em diferentes concentrações na presença do Extrato bruto de *Doyerea emetocathartica*.



Fonte: Acervo de pesquisa, elaborado pelo autor.

O extrato de fase hexânica de número 5 gerou bons resultados no teste de inibição da atividade da hialuronidase da toxina de *B. erythromelas*, proporcionando uma inibição de aproximadamente 3.095% na proporção do melhor desempenho testado (1:200), diminuindo a eficácia em concentrações mais baixas (**figura 9**).

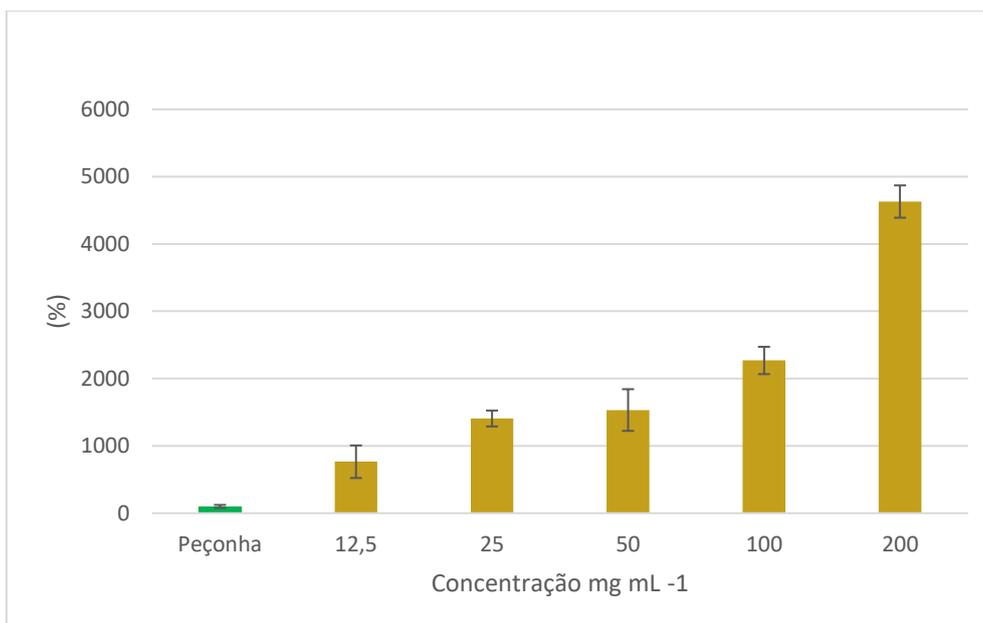
Figura 9: Avaliação do desempenho inibitório da degradação do ácido hialurônico causada pelo veneno de *B. erythromelas* em diferentes concentrações na presença do Extrato de fase hexânica de *Doyerea emetocathartica*.



Fonte: acervo da pesquisa elaborado pelo autor

Se destacando dos anteriores o extrato de fase butanólica obteve os melhores resultados dentre os três extratos testados, onde no teste de inibição da atividade da hialuronidase da toxina de *B. erythromelas*, ele gerou um grau de inibição de aproximadamente 4.630% na proporção do melhor desempenho testado (1:200), diminuindo a eficácia em concentrações mais baixas (**Figura 10**)

Figura 10: Avaliação do desempenho inibitório da degradação do ácido hialurônico causada pelo veneno de *B. erythromelas* em diferentes concentrações na presença do Extrato de fase butanólica de *Doyerea emetocathartica*.



Fonte: acervo da pesquisa elaborado pelo autor

Embora os resultados estejam de acordo com os resultados obtidos no trabalho de Medeiros (2018) e o extrato bruto de *D. emetocathartica* tenha obtido sucesso nos testes frente a peçonha, suas fases separadas igualmente geraram resultados satisfatórios, os quais geraram respostas positivas.

A fase Butanólica se mostrou mais eficaz nos testes feitos, fato esse que se dá pela capacidade de conservar a integridade do substrato (AH) em contato com a toxina, o que indica uma possível interação do extrato com o conteúdo da peçonha no lugar do AH, o que indica uma possível presença de maior quantidade de compostos com potencial inibitório ou compostos com maior poder de inibição da atividade exercida pela peçonha da serpente em um sistema biológico, considerando que a efetividade de hialuronidases implica diretamente na degradação de outras proteínas, sendo essa deterioração do AH uma porta de entrada que permite maiores danos ao organismo num todo (Silva, 2018).

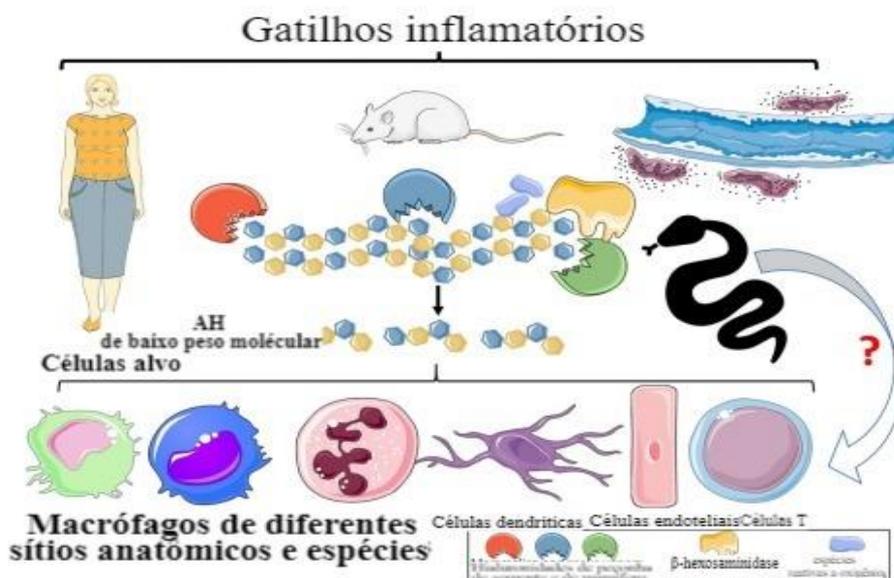
O empeçonhamento botrópico é caracterizado pelo rápido desenvolvimento de um processo inflamatório local. A fisiopatologia da formação do edema é gerado por muitos fatores, envolvendo a ação direta de componentes da peçonha na microvasculatura, aumentando o acesso às matrizes celulares pelos capilares sanguíneos, e o efeito de mediadores endógenos liberados por componentes da peçonha, tais como: histamina, prostaglandinas, cininas e produtos do sistema complemento. Esta resposta imunológica frequentemente gera no corpo edemas

graves, isquemia e compressão neural, que podem resultar (o que geralmente ocorre) em uma síndrome compartimental que pode levar à perdas permanentes de tecidos ou amputação do local, quando afetado por necrose (Félix-Silva, 2018; França et al., 2023).

Félix-Silva et al., (2018), ao estudar a atividade edematogênica das espécies *Jathropa mollisiima* e *Jathropa gossipiifolia* (Euphorbiaceae) frente à peçonha da serpente *B. erythromelas*, observou indícios do seu potencial antiedematogênico. Apesar das espécies vegetais pertencerem a uma família diferente da espécie estudada na presente pesquisa, fica clara a relação de extratos vegetais diversos na neutralização das atividades locais deflagradas por toxinas botrópicas. Sendo o AH um importante fator para o espalhamento dos componentes tóxicos pelo organismo (França et al., 2023), proporcionando condições que contribuem para diferentes toxinas a atingirem seu alvo fisiológico com maior competência.

O artigo acima referenciado, ao indicar o potencial antiedematogênico dessas duas espécies, ainda corrobora com nossos resultados para atividade anti hialuronidásica da *D. emetocathartica*, uma vez que o AH, como fator de disseminação, auxilia na produção de células e mediadores inflamatórios (França et al., 2023) (figura 11). Ou seja, os compostos de *D. emetocathartica* avaliados constituem, ainda, potenciais neutralizantes dessa atividade.

Figura 11: Processo de interação de peçonha com matrizes celulares contendo ácido hialurônico.



Fonte: França et al., 2023

Os dados apresentados neste trabalho indicam que uma provável e futura possibilidade de produto que alcance inibição de componentes nocivos ao ser humano presentes na peçonha de *B. erythromelas*, visto que o SAB produzido no Brasil se mostra incapaz de incapacitar integralmente o poder tóxico da peçonha, ilustrando a necessidade de novas estratégias na produção de soros anti peçonha com um amplo potencial neutralizante no tratamento do empeçonhamento botrópico ao redor do País. Juntos, os resultados destacam o potencial antiofídico do extrato hidroetanólico de *D. emetocathartica* e suas fases hexânica e butanólica, sugerindo que esta espécie é um potencial auxiliar na manutenção do tratamento de efeitos locais decorrentes do empeçonhamento botrópico.

6 CONCLUSÃO

Produtos naturais foram e continuam sendo ótimas vias de pesquisa, de onde podemos extrair compostos e isolar moléculas ativas com inúmeros potenciais farmacológicos. No ofidismo os extratos vegetais se mostram promissoras ferramentas de tratamento paralelo e adjuvante aos acidentes com serpentes peçonhentas.

A espécie vegetal *D. emetocathartica*. é uma espécie valiosa para os estudos fitoquímicos, a qual mediante os experimentos executados com sucesso frente às capacidades bioquímicas da peçonha da espécie *B. erythromelas*. Como exposto, os resultados destacam que o extrato hidroetanólico de *D. emetocathartica*. bem como suas fases hexânica e butanólica, demonstram possuir poder de intervenção contra a peçonha no organismo, e, portanto, são candidatos a serem precursores de substâncias cada vez mais isoladas para este fim, no entanto mais estudos são necessários para garantir a eficácia clínica destes compostos.

REFERÊNCIAS

- ALI, M.S. et al. Cucurbitacins a vibrant triterpenoid: a review on its anticancer property. **Pharmatutor**. 2019, 7, 43. Disponível em: <<https://www.pharmatutor.org/articles/cucurbitacins-a-vibrant-triterpenoid-a-review-on-its-anticancer-property>>. Acesso em: 20 out. 2023.
- ARAÚJO, Maurício. Farmacocinética e neutralização do veneno da serpente *Bothrops erythromelas* (jararaca da seca): novas fontes terapêuticas e desafios. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE*, 3., 2018, Campina Grande. **Anais eletrônicos** [...] Campina Grande, Realize Eventos Científicos e Editora Ltda, 2018. Disponível em: <<https://www.editorarealize.com.br/artigo/visualizar/41071>>. Acesso em: 18/07/2023
- ARRUDA, M. et al. Conhecimento etnobotânico dos alunos de Ensino Médio sobre plantas medicinais em Maranguape-Ceará. **Research, Society and Development** v. 10, n. 3, p. e8910313008-e8910313008, 7 mar. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/13008/11764/171867>. Acesso em: 25 jul. 2023.
- BRASIL. **Ministério da saúde**. Biblioteca virtual em saúde. 19/9 – Dia Internacional de Conscientização sobre Picadas de Cobra. 2022. Disponível em: <<https://bvsmis.saude.gov.br/19-9-dia-internacional-de-conscientizacao-sobre-picadas-de-cobra/>> . Acesso em: 10 de out. 2023.
- COSTA-NETO, E. M. Conhecimento e usos tradicionais de recursos faunísticos por uma comunidade afro-brasileira: resultados preliminares. **Interciência**, v.25, n.9, p.423-431, 2000. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/pdf/339/33905105.pdf>> Acesso em: 20 out. 2023.
- DE FRANÇA, F. S.; TAMBOURGI, D. V. Hyaluronan breakdown by snake venom hyaluronidases: From toxins delivery to immunopathology. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 10, 17 mar. 2023b.
- DE MEDEIROS, B. D. Avaliação de produtos vegetais na inibição de atividades induzidas pela peçonha de *Bothrops erythromelas* Amaral (1923). **Trabalho de conclusão de curso** (Bacharel em ciências biológicas) Universidade Estadual da Paraíba, 2018. Disponível em:<<http://dspace.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/123456789/17825>>. Acesso em 10 out. 2023.
- FAN, H. W. et al. Situación de los laboratorios públicos productores de antivenenos en América Latina. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 43, p. 1, 19 nov. 2019.
- FONTANA, L. B. et al. ETNOBOTÂNICA: UMA ABORDAGEM CONTEXTUALIZADA, E ATIVA PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS. **Revista de Produtos Educacionais e Pesquisas em Ensino**, v. 5, n. 2, p. 167–193, 2021. Disponível em: <<https://seer.uenp.edu.br/index.php/reppe/article/view/992/958>> . Acesso em 20 abr. 2023.

HORA, R.C.; CAMARGO, J.; BUZANINI, A.C. Cucurbitáceas e outras. In: BRANDÃO FILHO, J.U.T., FREITAS, P.S.L., BERIAN, L.O.S., GOTO, R., comps. Hortaliças-fruto [online]. Maringá: **EDUEM**, 2018, pp. 71-111. Disponível em: <<https://books.scielo.org/id/bv3jx/pdf/brandao-9786586383010-05.pdf>> Acesso em: 20 out. 2023.

JUNIOR, M.A.R. Estudo comparativo do veneno de Bothrops jararaca do continente e de espécimes da ilha de São Sebastião. 2008. 75 p. **Dissertação** (Mestrado em tecnologia nuclear) - Instituto de Pesquisa em ciências energéticas e nucleares, São Paulo, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ipen.br/handle/123456789/11746>. Acesso em: 8 out. 2023.

LAKATOS E.M; **Metodologia científica**. 8ed. São Paulo; Atlas, 2022. 314p. ISBN: 9786559770656

LIMA, Luis F. Paiva. 2010. **Estudos taxonômicos e morfológicos em Cucurbitaceae brasileiras**. 2010. 232 f. Tese (Doutorado em botânica) - Programa de pós graduação em botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MENEZES, Luciano Modesto Nascimento. Distribuição geográfica de Bothrops erythromelas AMARAL, 1923 (SERPENTES, VIPERIDAE) e os efeitos das mudanças climáticas sobre a sua distribuição. **Trabalho de conclusão de curso** (Bacharel em ciências biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2018. Disponível em: <http://www.cemafauna.univasf.edu.br/arquivos/files/tcc_Modesto.pdf>. Acesso em: 20 set. 2023

MOL, L.P. Estudo epidemiológico dos acidentes por serpentes associados aos usos da terra em Manhuaçu, **Dissertação** (Mestrado em Ciência animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, – MG, de 2007 a 2015. 2018. 79 f.

NERY, Neriane Monteiro et al. Bothrops erythromelas venom and its action on isolated murine macrophages. **Interdisciplinary Journal on the Toxins Derived from Animals, Plants and Microorganisms**. 2020, v. 185, p. 156-163, 21 jul. 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.07.017>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041010120303214?via%3Dihub>>. Acesso em: 19 set. 2023.

NERY N.M.; LUNA K.P.; FERNANDES C.F.; ZULIANI J.P. Uma visão geral do veneno de Bothrops erythromelas. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 49, n.6, pp.680-686, 2016. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/B4WCgL3H7JyXLqXhVxnQWMD/abstract/?lang=en>>. Acesso em: 19 set. 2023.

NUNES, E. A. C. et al. ESTUDO DA NEUTRALIZAÇÃO DOS COMPONENTES DA SERPENTE *Bothrops erythromelas*. Ponta Grossa: **Atena Editora**, 2019. Disponível em: <<https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/ebook/prospeccao-de-moleculas-bioativas-em-animais-e-plantas-uma-visao-biotecnologica>> Acesso em: 10 out. 2023

PEREIRA, H. N. Estudo fitoquímico e atividade biológica das raízes de *Apodanthera congestiflora* Cogn. (Cucurbitaceae). **Dissertação** (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017. Disponível em: <<https://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/4499>> . Acesso em: 20 set. 2023.

REIS, P. M. A. G. BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Bothrops erythromelas* AMARAL, 1923 (SERPENTES, VIPERIDAE), ESPÉCIE ENDÊMICA DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO. **Trabalho de conclusão de curso** (Bacharel em ciências biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2016. Disponível em: <http://www.cemafauna.univasf.edu.br/arquivos/files/tcc_Paulo.pdf> Acesso em: 10 out. 2023.

SILVA, J. A.; BÜNDCHEN, M. Conhecimento etnobotânico sobre as plantas medicinais utilizadas pela comunidade do Bairro Cidade Alta, município de Videira, Santa Catarina, Brasil. **Unoesc & Ciência - ACBS**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 129–140, 2012. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/acbs/article/view/1358>. Acesso em: 25 jul. 2023.

SILVA, J. F et al. Comparison of two *Jatropha* species (Euphorbiaceae) used popularly to treat snakebites in Northeastern Brazil: chemical profile, inhibitory activity against *Bothrops erythromelas* venom and antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 213, p. 12-20, 2018.

SILVA, J. F. et al. Inhibition of local effects induced by *Bothrops erythromelas* snake venom: Assessment of the effectiveness of Brazilian polyvalent bothropic antivenom and aqueous leaf extract of *Jatropha gossypifolia*. **Toxicon**, v. 125, p. 74–83, jan. 2017.

VILAR, J. C.; CARVALHO, C. M. D.; FURTADO, M. D. F. D. Effects of the aqueous extracts of plants of the genera *Apodanthera* (Cucurbitaceae) and *Jatropha* (Euphorbiaceae) on the lethality of the venom of *Bothrops jararaca* (serpentes, Viperidae). **Biologia Geral Experimental**, São Cristóvão, vol. 7, no. 2, pp. 32–39, 2007. Disponível em: <<https://www.biologiageralexperimental.bio.br/temas/plantas/9.pdf>>. Acesso em: 20 ou. 2023.

SILVA, E. O. DA; PARDAL, P. P. DE O. Envenenamento por serpente *Bothrops* no município de Afuá, Ilha de Marajó, estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 9, n. 3, set. 2018. Disponível em: <<http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v9n3/2176-6223-rpas-9-03-57.pdf>> .Acesso em: 20 set. 2023.

SILVESTRE, G. F. G. Estudo fitoquímico e farmacológico de Apodanthera congestiflora Cogn.: Uma Cucurbitaceae da caatinga brasileira. 2020. 133f. **Dissertação** (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2022.

SILVESTRE, G. F. G. et al. Anti-tumor and anti-inflammatory activity in vivo of Apodanthera congestiflora Cogn. (Cucurbitaceae). **Pharmaceutics** 2021, 13, 743. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/5/743/review_report>. Acesso em: 20 de set. 2023.

SOUZA, M. L. R. Ácido Hialurônico: uma revisão bibliográfica. 2023. 44 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação em Química Industrial) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023.

UCHÔA, M. et al. ENVENENAMENTO POR BOTHROPS. **Ampla Editora eBooks**, p. 168–184, 28 jul. 2023. Disponível em: <<https://ampllaeditora.com.br/books/2023/07/ToxicooogiaClinica.pdf>>. Acesso em 10 out. 2023.

VASCONCELOS, Suelen Consoli Braga et al. O uso do ácido hialurônico no rejuvenescimento facial. **Revista brasileira militar de ciências**, 2020, v. 6, ed. 14, p. 8-15, 30 jan. 2020. DOI: 10.36414/rbmc.v6i14.28. Disponível em: <<https://rbmc.emnuvens.com.br/rbmc/article/view/28/24>>. Acesso em: 27 set. 2023.

VIDERES, LARISSA CARDOSO CORRÊA DE ARAÚJO. Apodanthera congestiflora e Myracrodruon urundeuva: Investigação das propriedades biológicas em preparações brutas e produtos isolados. **Tese** (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/25242>>. Acesso em: 20 set. 2023.

WHO. **The neglected tropical diseases: a rags-to-riches story**, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1>. Acesso em: 10 out, 2023.

WHO. **SNAKEBITE ENVENOMING A strategy for prevention and control**. 2019. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1230920/retrieve>>. Acesso em: 10 out, 2023.