



Aplicações farmacológicas dos venenos de serpentes brasileiras enfoque para *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus ruruima*¹

Ilia Gilmará Carvalho dos Santos², Consuelo Latorre Fortes-Dias³, Maria Cristina dos Santos⁴

Submetido 07/11/2016 – Aceito 09/11/2016 – Publicado on-line 09/11/2016

Resumo

As peçonhas animais são secreções ricas em toxinas, sintetizadas e armazenadas em glândulas, altamente especializadas, e injetadas em suas vítimas por presas, ou dentes, ou acúleos para que possam exercer suas atividades biológicas. Alguns pesquisadores definem a peçonha como uma saliva modificada, contendo uma mistura de diferentes compostos usados, pelo animal, para sua defesa contra predadores ou para imobilizar presas, que servirão de alimentação. As peçonhas animais constituem uma das mais ricas fontes de substâncias biologicamente ativas encontradas na natureza. Estudos farmacológicos e bioquímicos, realizados nas últimas décadas, têm mostrado a diversidade de proteínas com atividade enzimática, toxinas, peptídeos, amins bioativas, dentre outros compostos, nos venenos de serpentes. Nesse contexto, os venenos de serpentes brasileiras têm sido alvo de uma série de estudos, os quais resultaram, por exemplo, no desenvolvimento de medicamentos como o Captopril®—derivado de um peptídeo isolado do veneno de *Bothrops jararaca*—e o Batroxobin®—uma enzima isolada do veneno de *Bothrops atrox*. Portanto, os constituintes dos venenos podem ser ferramentas importantes no desenvolvimento de protótipos de novas drogas.

Palavras-Chave: cascavel amazônica, antitumoral, antimicrobiana, veneno, *Crotalus durissus terrificus*

Abstract

Pharmacological applications of Brazilian snake venoms with emphasis in *Crotalus durissus terrificus* and *Crotalus durissus ruruima*. Animal venoms are toxin-rich secretions, which are synthesized and stored in highly specialized glands and injected into their victims by fangs, teeth or spines, so that they can exert their biological activities. Some authors believe that some venoms are a modified saliva composed of a mixture of different compounds aiming at defending against predators or immobilizing preys for feeding. Animal venoms are among the richest natural sources of biologically active substances. Concerning snake venoms, in recent decades pharmacological and biochemical studies revealed a diversity of enzymes, toxins, peptides, bioactive amines, and other bioactive molecules in their composition. The results led to the development of important drugs, such as Captopril® — derived from a peptide isolated from *Bothrops jararaca* venom —, and Batroxobin®—an enzyme present in *Bothrops atrox* venom. Therefore, venom components can be important tools in the development of new drug prototypes.

Key-words: Amazonian rattlesnake, antitumor, antimicrobial, venom, *Crotalus durissus terrificus*

¹ Revisão referente a parte da Tese de Doutorado do primeiro autor

² Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia na Universidade Federal do Amazonas. e-mail: iliagilmará@hotmail.com

³ Serviço de Enzimologia, Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Minas Gerais

⁴ Laboratório de Imunoquímica, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, Japiim, CEP: 69077-000, Manaus, Amazonas, Brasil

1. Introdução

As peçonhas (ou venenos) de serpentes consistem em uma mistura complexa de proteínas, com ou sem atividade catalítica, como fosfolipases A₂ (PLA₂), serinoproteases, hialuronidasas, L-aminoácido oxidases (LAO), acetilcolinesterases, fatores de crescimento, ativadores de proteína C, dentre outros. Compostos orgânicos de baixo peso molecular também fazem parte da composição das peçonhas como hidratos de carbono, serotonina, histamina, citrato, nucleosídeos, e íons inorgânicos, tais como cálcio, cobalto, magnésio, cobre, ferro e potássio, assim como inibidores enzimáticos (RAMOS; SELISTRE-DE-ARAÚJO, 2006). A composição química quantitativa e qualitativa dos venenos pode apresentar variações interfamílias, intergêneros, interespecies e intraespecies. As variações intraespecies podem ocorrer devido à localização geográfica, sazonalidade, dieta, idade e sexo, além de outras (CHIPPAUX et al., 1991).

Embora grande número de compostos tenha sido isolado de diferentes venenos, as proteínas e peptídeos de baixa massa molecular representam aproximadamente 90% de seu peso seco e são responsáveis pela maioria dos efeitos biológicos observados (BIEBER, 1979).

Recentemente, a procura por substâncias farmacologicamente ativas tem aumentado consideravelmente, sendo que a busca, por compostos bioativos naturais, desperta grande interesse. O estudo dos compostos presentes em venenos tem se mostrado uma importante ferramenta nesta busca, pois podem servir de base para o desenho de protótipos e consequente desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (KUMAR et al., 2013).

Atualmente já são utilizados, na clínica médica, fármacos derivados de venenos de serpentes, como, o Captopril®, derivado de um peptídeo isolado do veneno de *Bothrops jararaca*, descoberto em 1975, graças à observação do efeito desse veneno sobre a pressão arterial de pacientes acidentados por essa espécie de serpente. O Captopril® foi o primeiro fármaco derivado de veneno de serpente a chegar ao mercado farmacêutico e trata-se de um potente inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA) utilizado como anti-hipertensivo (KOH et al., 2006). Outro fármaco derivado de veneno de serpente é a hemocoagulase comercializada como Batroxobin®, uma enzima *trombin-like* utilizada para prevenir e tratar hemorragias, que foi isolada

do veneno de *Bothrops atrox*, uma das espécies de jararaca encontrada na região Norte do Brasil. A tirofibana, comercializada como Agrastat®, é derivada do veneno de uma serpente asiática, a *Echis carinatus*, e é indicada para prevenir a formação de coágulos de sangue, que podem causar ataque cardíaco e outros sérios problemas do fluxo sanguíneo (KOH et al., 2006).

Os venenos de serpentes brasileiras são alvo de uma série de estudos. No que se refere ao gênero *Crotalus*, grande parte das pesquisas foram realizadas com a espécie *Crotalus durissus terrificus*, que segundo a ferramenta *Derwent* da plataforma de busca *Web of Science*, resultaram em vinte patentes, sendo que apenas duas estão depositadas no Brasil. Este fato demonstra que são necessárias mais pesquisas a cerca das atividades farmacológicas de venenos e suas possíveis aplicações terapêuticas, visto que o Brasil possui um grande número de gêneros e espécies de serpentes peçonhentas.

2. Metodologia

Para a elaboração do presente artigo foram consultados os seguintes sítios de busca de bancos de dados: *Pubmed*, *Scopus*, *SciELO*, *ScienceDirect* e *Web of Science* no período de 1938 a 2016. As palavras chaves utilizadas foram: “snake venom” associada com as palavras “isolation”, “biological activities”, “antimicrobial”, “antitumoral” e *Crotalus durissus*.

3. Serpentes Brasileiras enfoque para *Crotalus* sp.

As serpentes da fauna brasileira de importância médica pertencem às famílias Colubridae (*Philodryas olfersii*, *Philodryas patagoniensis*) (ARAÚJO; DOS-SANTOS, 1997) (*Clelia* sp.) (ALBUQUERQUE et al., 2013) Elapidae (*Micrurus* sp.) e Viperidae (*Bothrops* sp., *Bothriopsis* sp., *Porthidium* sp., *Crotalus* sp. e *Lachesis* sp.).

As serpentes do gênero *Crotalus* sp. são encontradas somente no Novo Mundo (do sul do Canadá à Argentina Central). No Brasil, o gênero *Crotalus* é amplamente distribuído, apesar de possuir apenas uma espécie *C. durissus* e cinco subespécies: *C. d. terrificus* (regiões Sul e Sudeste), *C. d. collilineatus* (Minas Gerais e Goiás), *C. d. cascavella* (região de caatinga nordestina), *C. d. ruruima* (Roraima) e *C. d. marajoensis* (ilha do Marajó – Pará) (JORGE;

RIBEIRO, 1992; PINHO; PEREIRA, 2001). Popularmente são conhecidas como cascavel, cascavel-quatro-ventas, boicininga, maracambóia, maracá, dentre outras denominações. Habitam campos abertos, áreas secas, arenosas, pedregosas e, raramente, a faixa litorânea. Porém, não são encontradas em florestas ou no Pantanal. Não tem por hábito atacar suas vítimas e, quando excitadas, denunciam sua presença pelo ruído característico do guizo ou chocalho, presente em sua cauda (BRASIL, 2001). As cascavéis são responsáveis por 7,7% dos acidentes ofídicos registrados no Brasil, podendo representar até 30% dos acidentes em algumas regiões, como no Estado de Roraima (BRASIL, 2001). O acidente crotálico apresenta alto coeficiente de letalidade, pois, frequentemente, evolui para insuficiência renal aguda (AMARAL et al., 1986).

Os venenos das subespécies de *Crotalus durissus* são compostos por uma mistura de moléculas de natureza proteica com ou sem atividade catalítica, como fosfolipases A₂, serinoproteases, hialuronidasas, L-aminoácido oxidases, peptídeos, compostos orgânicos de baixo peso molecular como carboidratos, serotonina; íons inorgânicos como o cálcio, magnésio, cobre, ferro, bem como inibidores enzimáticos (RAMOS; SELISTRE-DE-ARAÚJO, 2006). Diversos trabalhos foram realizados com os venenos brutos ou com frações isoladas dos venenos das subespécies de *C. durissus* e esses demonstraram uma variedade de ações farmacológicas, dentre as quais se destacam as atividades antifúngica, antileishmania, antiplasmódica, antiviral, antibacteriana e antitumoral (DIZ FILHO et al., 2009; SOARES et al., 2010; BARROS et al., 2011; MULLER et al., 2012; QUINTANA et al., 2012; VARGAS et al., 2013; BARROS et al., 2015; NEVES et al., 2015). Embora os venenos das subespécies apresentem um perfil eletroforético semelhante, existem diferenças em suas atividades biológicas, que podem ser atribuídas à existência de isoformas de proteínas, presentes nesses venenos (RANGEL-SANTOS et al., 2004).

3.1 O veneno de *Crotalus durissus terrificus*.

Dentre os venenos de cascavéis brasileiras, o mais estudado quanto à sua composição química e atividades biológicas, é o de *Crotalus durissus terrificus*; logo, a maior parte dos dados acerca das manifestações locais e

sistêmicas do acidente crotálico diz respeito a ações induzidas pelo veneno dessa subespécie (DOS-SANTOS, 2014). O veneno de *C. d. terrificus* causa poucas manifestações no local da picada. Segundo Jorge e Ribeiro (1992), as manifestações mais frequentes na região da picada são dor, edema, eritema e parestesia. Em relação a manifestações sistêmicas, esse veneno induz três ações principais: neurotóxica, miotóxica e coagulante (JORGE; RIBEIRO, 1992). O acometimento renal causado pela miotoxicidade sistêmica é frequente (AZEVEDO MARQUES et al., 1985) e associado a sinais decorrentes da ação neurotóxica do veneno como alterações do estado de consciência, ptose palpebral bilateral, fraqueza muscular generalizada e diplopia (AMARAL et al., 1986).

As proteínas e peptídeos de pequeno peso molecular representam aproximadamente 90% do veneno total seco (BIEBER, 1979). A peçonha de *Crotalus durissus terrificus*, quando fracionada, apresenta quatro principais toxinas: a crotoxina, convulxina, giroxina (trombina-similes) e, em alguns venenos, a crotamina (MARTINS et al., 2002; TOYAMA et al., 2003).

A crotoxina foi isolada pela primeira vez, em 1938, por Slotta e Fraenkel-Conrat, do veneno de *Crotalus durissus terrificus* e apresentou peso molecular de aproximadamente 30.000 daltons e ponto isoelétrico de 4.7 (SLOTTA; FRAENKEL-CONRAT, 1938; HENDON; FRAENKEL-CONRAT, 1971).

A crotoxina é o componente mais tóxico na peçonha de *Crotalus durissus terrificus* e está presente em grande proporção (cerca de 40 a 60% de seu peso seco). Essa neurotoxina é formada por duas subunidades, uma básica, a fosfolipase A₂ (Componente B ou Crotoxina B) e a outra ácida, a crotapotina (Componente A ou Crotoxina A). Quando as subunidades são injetadas isoladamente apresentam baixa toxicidade, como é o caso da fosfolipase A₂, ou não apresentam ação tóxica, como a crotapotina. No entanto, quando é restaurada a interação iônica entre essas duas subunidades, formando a crotoxina, este complexo apresenta alta toxicidade (BANCHER et al., 1973). A crotapotina atua como chaperonina para a fosfolipase A₂, direcionando esta enzima para o alvo e, com isso, evita a sua ligação inespecífica, potencializando a ação tóxica (BOUCHIER et al., 1991).

Desde que a crotoxina foi isolada, vários estudos investigaram suas atividades biológicas,

que incluem, principalmente, neurotoxicidade, mas também miotoxicidade, nefrotoxicidade e a cardiotoxicidade. No entanto, nos últimos anos, uma variedade de outras importantes ações como imunomoduladora, anti-inflamatória, antitumoral, antimicrobiana e analgésica, foram descritas para este complexo proteico (YAN et al., 2006; ZHANG et al., 2006; ZAMBELLI et al., 2008; DIZ FILHO et al., 2009; NUNES et al., 2010).

A crotamina, presente apenas em alguns venenos de *Crotalus durissus terrificus*, foi isolada em 1950, pela primeira vez, por Moura-Gonçalves e trata-se de um polipeptídeo composto por 42 aminoácidos, com massa molecular de aproximadamente 4.900 Daltons (LAURE, 1975). Sua estrutura tridimensional, determinada por espectroscopia de ressonância magnética nuclear aplicada à proteína em solução, demonstrou que, pelo enovelamento apresentado, a crotamina pertence à família estrutural das defensinas β , que são peptídeos antimicrobianos encontrados em animais vertebrados (FADEL et al., 2005). A injeção intramuscular de crotamina de *Crotalus durissus terrificus* em camundongos induz hiperextensão imediata na pata afetada com posterior paralisia, ptose palpebral, hipersecreção lacrimal, dispneia, taquicardia e ausência de resposta a estímulos mecânicos, vinte minutos após a injeção. A paralisia total dos membros, taquicardia, dispneia, e ptose pronunciada podem permanecer até 24 horas após a injeção. O estudo histológico do músculo gastrocnêmico revelou vacuolização intensa do citoplasma (DOS-SANTOS et al., 1993a). A crotamina induz ação miotóxica sobre células musculares esqueléticas, causando danos ou até morte celular; acredita-se que este efeito se deve às alterações cinéticas dos canais de Na^+ (MATAVEL et al., 1998). Além da atividade miotóxica, já foram descritas atividades antibacteriana, antifúngica, antiparasitária e antitumoral para a crotamina (HAYASHI et al., 2008; OGUIURA et al., 2011; PEREIRA et al., 2011; YAMANE et al., 2013; MALUF et al., 2016).

A giroxina pertence ao grupo das enzimas trombina-símile, importantes serinoproteases, e foi isolada pela primeira vez do veneno de *Crotalus durissus terrificus* por Barrio, em 1961. Essa neurotoxina não é letal, mas causa uma síndrome, em animais, caracterizada por movimentos rotacionais em volta do eixo central do corpo. Daí a origem do seu nome (BARRIO, 1961). A giroxina é na realidade a enzima

trombina-símile, responsável pela ação coagulante do veneno, transformando diretamente fibrinogênio em fibrina (ALEXANDER et al., 1988). A ação girotóxica é devida a formação de neuropeptídeos, durante a clivagem do fibrinogênio endógeno pela trombina-símile ou giroxina (ALEXANDER et al., 1988).

A convulxina, encontrada no veneno de algumas subespécies de *Crotalus durissus*, recebeu essa denominação, pois acreditava-se ser a responsável pelas convulsões e distúrbios observados em vítimas de acidentes com essas serpentes. Porém, a convulxina não induz atividade convulsiva, sendo sim uma potente ativadora de plaquetas (MELLO; CAVALHEIRO, 1989).

3.2 O veneno de *Crotalus durissus ruruima*.

Apesar de *Crotalus durissus ruruima* ser responsável por um grande número de acidentes em Roraima e alguns espécimes dessa subespécie apresentarem atividade hemorrágica, os sinais e sintomas induzidos por seu veneno são pouco conhecidos. As atividades biológicas e os componentes bioquímicos de misturas de venenos das variedades “branca” e “amarela” da subespécie *C. d. ruruima* foram caracterizados, pela primeira vez por Dos-Santos e colaboradores, em 1993b, e foram observadas para a variedade branca as seguintes atividades: letal, coagulante, miotóxica, edematogênica e miolítica. A variedade amarela, além das atividades apresentadas pela “branca”, induziu hemorragia local, necrose e atividade caseinolítica. Embora, outros venenos de *Crotalus* sp. de exemplares oriundos das Américas Central e do Norte apresentem também hemorraginas, vale ressaltar que para os venenos de outras subespécies de *C. durissus*, encontradas no Brasil, até o momento, não foi relatada atividade hemorrágica, sendo, portanto esta atividade exclusiva da subespécie *C. d. ruruima* (DOS-SANTOS et al., 1993b).

Dos-Santos e colaboradores (2005) analisaram, isoladamente, os venenos de seis exemplares de *Crotalus durissus ruruima* (coletados em uma mesma localidade), quanto às suas atividades biológicas e constituintes proteicos, e observaram que as serpentes com venenos da variedade branca apresentaram maior concentração de crotamina do que as da variedade amarela, além de variações no perfil proteico, nas atividades biológicas e nas intensidades de suas ações induzidas. Tais resultados corroboram com

a existência de uma variabilidade intrapopulacional nas composições dos venenos de *C. d. ruruima*, e a importância de usar misturas de venenos para a produção de antivenenos, a fim de assegurar a neutralização do maior número possível de toxinas produzidas por serpentes de dada espécie (DOS-SANTOS et al., 2005). Em 2010, Calvete e colaboradores, demonstraram que 82,7% do veneno de um desses exemplares da variedade branca de *C. d. ruruima* era composto por crotoxina e, dentre os venenos estudados, foi o que apresentou maior concentração desta toxina. No mesmo estudo, a concentração de crotoxina determinada no veneno de *C. d. terrificus* foi de 59,5%.

O fracionamento do veneno branco de *Crotalus durissus ruruima*, por cromatografia de fase reversa, resultou em dezoito frações e duas destas, a Cdr-12 e a Cdr-13, apresentaram atividade PLA₂. O sequenciamento e posterior alinhamento dos aminoácidos destas frações mostrou um alto grau de similaridade, tratando-se, portanto, de duas isoformas de PLA₂. No entanto, a análise comparativa da atividade enzimática dessas duas isoformas mostrou diferenças entre as atividades fosfolipásicas (PONCE-SOTO et al., 2007). As enzimas nativas, Cdr-12 e Cdr-13, foram submetidas ainda a um processo de modificação química e em seguida, suas características físico-químicas e biológicas foram avaliadas e apresentaram baixa atividade catalítica, revelando a importância de se conhecer a relação estrutura-função (VARGAS, 2007). Em 2009, Diz Filho também isolou duas isoformas de PLA₂ distintas e denominou-as de PLA₂A e PLA₂B. Após as caracterizações das estruturas primárias de PLA₂A e PLA₂B, foram constatadas semelhanças com as isoformas Cdr-12 e Cdr-13, confirmando a presença de duas isoformas de PLA₂ distintas, com características farmacológicas particulares. Fonseca e colaboradores, em 2010, modificaram as estruturas de fosfolipases A₂, isoladas do veneno de *C. d. ruruima* com etil 2-oxo-2H- chromen-3-carboxilato (EOCC), uma cumarina sintética. As PLA₂ foram inibidas irreversivelmente e apresentaram redução nas atividades de agregação plaquetária e de edema de pata, demonstrando o potencial antitrombótico e anti-inflamatório do EOCC frente à ação fosfolipásica A₂.

Veneno total de *Crotalus durissus ruruima* foi também comparado ao de *C. d. cumanensis*, uma subespécie encontrada na

Venezuela e Colômbia. Efeitos neuromusculares dos venenos brutos e das crotoxinas isoladas, revelaram que ambos possuem atividade neurotóxica como consequência da presença de crotoxina. A crotoxina de *C. d. cumanensis* foi mais potente do que a de *C. d. ruruima*, pois, nas mesmas concentrações induziu atividades neurotóxica e miotóxica direta comparativamente mais altas (CAVALCANTE et al., 2015). A análise das sequências de aminoácidos amino-terminais das PLA₂s de *C. d. ruruima* foram semelhantes às de *C. d. terrificus* enquanto as PLA₂ de *C. d. cumanensis* apresentaram maior homologia com as PLA₂ de *C. d. cascavella* e de *C. d. collilineatus* (FONSECA, 2011).

Uma isoforma de crotamina denominada ILe19, foi isolada de um exemplar de *Crotalus durissus ruruima* que secretava veneno amarelo, coletado em Pacaraima (RR). A única diferença desta crotamina para a de *C. d. terrificus* é que a crotamina ILe19, apresenta uma isoleucina ao invés de leucina na posição 19 e essa troca de aminoácido impede a ação miotóxica da crotamina ILe19 (DOS-SANTOS et al., 1993a; ALCÂNTARA et al., 2011). Outros venenos de *C. d. ruruima* das variedades branca ou amarela, coletados em Boa Vista (RR), não apresentaram crotamina em suas composições, corroborando com a existência de variabilidade interpopulacional (DOS-SANTOS et al., 2005; CALVETE et al., 2010). Quando a crotamina de *C. d. ruruima* foi injetada em camundongos, foi observada a hiperextensão da pata com subsequente paralisia dos membros posteriores, ptose e taquicardia, de forma semelhante ao que ocorre com a crotamina de *C. d. terrificus*. No entanto, todos os sinais e sintomas desapareceram 30 minutos após a injeção e não foram observadas lesões celulares (DOS-SANTOS et al., 1993a). Alcântara e colaboradores (2011) relataram mudanças conformacionais induzidas pela troca do aminoácido da posição 19, entre as moléculas de crotaminas de *C. d. terrificus* e de *C. d. ruruima*, o que poderia explicar as diferenças nas atividades biológicas observadas por Dos-Santos et al., 1993b.

3.3. Atividades antimicrobiana, antiviral, antiparasitária e antifúngica de venenos ofídicos.

As infecções bacterianas estão entre as dez principais causas de morte em todo o mundo. O surgimento de resistência bacteriana, decorrente

do uso indiscriminado de antimicrobianos, tem sido o principal fator responsável pelo aumento da morbidade e mortalidade causadas por essas infecções (SANTOS, 2004). Assim, a busca de substâncias de origem animal e vegetal para o desenvolvimento de drogas mais eficazes constitui uma estratégia promissora no campo da Biotecnologia, uma vez que possibilita a iniciativa de prospecção de novas classes de moléculas naturais ou sintéticas (HEINEMANN et al., 2000).

Os primeiros relatos sobre a atividade antibacteriana em venenos de serpente foram feitos em 1948 e em 1968, envolvendo serpentes das famílias Elapidae e Viperidae (GLASER, 1948; ALOOF-HIRSCH et al., 1968). Os venenos de *Naja* spp. e *Hemachatus haemachatus* foram capazes de romper as membranas fosfolipídicas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, respectivamente (ALOOF-HIRSCH et al., 1968). Queiroz (2010) verificou que diferentes diluições do veneno bruto da serpente *Bothrops moojeni* inibiram o crescimento de bactérias gram-negativas produtoras e não produtoras de metalo- β -lactamases e β -lactamases, e que o tamanho do halo de inibição do crescimento bacteriano diminuiu na medida em que diminui a concentração do veneno bruto e conseqüentemente a quantidade de proteínas, demonstrando que o efeito foi dose dependente. Já Ferreira (2007) demonstrou que o veneno de *B. atrox* possui atividade contra *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*, enquanto o veneno de *B. jararaca* foi ativo contra a cepa de *S. aureus*. Neste estudo, todos os venenos testados foram tão promissores quanto os controles positivos utilizados (vancomicina, oxacilina e o cloranfenicol), o que sugere serem fontes potenciais para desenvolvimento de novos antimicrobianos.

Em estudos com subespécies de *Crotalus durissus*, a fosfolipase A₂ do veneno branco de *C. d. ruruima* exibiu atividade antibacteriana notável frente a *Xanthomonas axonopodis pv passiflorae*, uma vez que 75 μ g de proteína foram capazes de inibir 96% da taxa de crescimento bacteriano (DIZ FILHO et al., 2009). O veneno bruto apresentou discreta inibição de crescimento de *Candida albicans* (NEVES et al., 2015). No veneno *C. d. cascavella*, a enzima L-amino ácido oxidase (LAO) inibiu o crescimento da bactéria gram-negativa *X.s axonopodis pv passiflorae* e da gram-positiva *Streptococcus mutans*, sugerindo

que o peróxido de hidrogênio produzido por LAO induz ruptura da membrana e, conseqüentemente, perda de conteúdo citoplasmático. Essa LAO também apresentou alta atividade leishmanicida *in vitro* contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (TOYAMA et al., 2006). A PLA₂ de *C. d. cumanensis* demonstrou ação antimalárica, exercendo atividade antiplasmódica frente ao *Plasmodium falciparum*, em doses que não são letais para os camundongos e que não são citotóxicas para células mononucleares do sangue humano (QUINTANA et al., 2012).

Em relação à atividade antiviral, veneno bruto de *Crotalus durissus terrificus* conferiu resistência às infecções de células Vero E6 pelos vírus de dengue ou de febre amarela, porém as células que foram tratadas com crotocina apresentaram maior proteção contra as infecções virais. Por outro lado, em células já infectadas com vírus dengue ou da febre amarela, que foram tratadas, posteriormente, com o veneno bruto ou toxinas, a replicação viral não foi inibida (MULLER et al., 2012).

Nos últimos anos, a crotamina se tornou alvo de estudos de atividade antimicrobiana, devido a sua semelhança estrutural com β -defensinas. Oguiura e colaboradores (2011) verificaram que crotamina de *Crotalus durissus terrificus* exibiu atividade antibacteriana contra cepas de *E. coli*, com valores de concentrações inibitórias mínimas variando de 25 a 100 μ g/ml; no entanto, não foi observada atividade frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus* e *Listeria monocytogenes*. Segundo os autores, a toxina mata as bactérias pela permeabilização da membrana. Posteriormente, Yamane et al. (2013) demonstraram que a crotamina não tem atividade contra fungos filamentosos como *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum*, mas tem atividade antifúngica frente a levedura *Candida* spp. A crotamina de *C. d. terrificus* demonstrou atividade antiparasitária dose-dependente contra *Plasmodium falciparum* e foi sugerido que o efeito citotóxico observado pode envolver o rompimento de vesículas ácidas comprometendo a homeostase do parasita (MALUF et al., 2016).

3.4. Atividade citotóxica de venenos ofídicos.

O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo. As modalidades de tratamento incluem a radiação, cirurgia,

quimioterapia, imunoterapia e terapia hormonal. Atualmente, o uso de quimioterápicos é a opção predominante para a terapia do câncer. No entanto, um dos principais problemas é que os pacientes muitas vezes não respondem ou, eventualmente, desenvolvem resistência após o tratamento inicial (KUMAR et al., 2013). Essa limitação levou ao aumento da busca por substâncias que auxiliem no tratamento e cura do câncer a partir de fontes naturais, como plantas e animais. A biodiversidade de venenos os torna fonte única, a partir da qual podem ser desenvolvidas novas terapias. De 1940 a 2007, das 155 novas moléculas citotóxicas desenvolvidas, 47% são produtos naturais ou derivados diretamente dessas fontes (NEWMAN; CRAGG, 2007). Estudos realizados durante as três últimas décadas, em busca de propriedades anticâncer, em venenos, levaram à descoberta de moléculas promissoras com essa atividade, algumas das quais estão em ensaios clínicos e poderão se tornar drogas terapêuticas, futuramente (GOMES et al., 2010).

Venenos brutos de serpentes das famílias Elapidae, Crotalidae e Viperidae causaram lise em células de sarcoma de Yoshida (BRAGANÇA et al., 1967). Mais especificamente, o veneno bruto de *Crotalus durissus terrificus* atua diretamente sobre as células tumorais e essa atividade pode ser devida a resposta inflamatória mediada pelas citocinas e quimiocinas (DA SILVA et al., 1996). Em linhagem de células tumorais de carcinoma ovariano de hamster CHO-K1, foram observadas alterações estruturais significativas em filamentos de actina, retículo endoplasmático e núcleo, além de fragmentação do DNA sugerindo que o veneno *C. d. terrificus* induziu apoptose nessa linhagem celular (TAMIETI et al., 2007). Efeito antitumoral foi também descrito para o mesmo veneno em células das glioblastoma (RT2) e adenoma benigno de pituitária (GH3), o que pode ser atribuído, pelo menos parcialmente, à crotoxina, indicando um potencial biotecnológico deste veneno na terapia do câncer (SOARES et al., 2010). A crotoxina de *C. d. terrificus* foi citotóxica para linhagens celulares Hs578T (carcinoma de ducto mamário humano) e SK-LU-1 (adenocarcinoma pulmonar - RUDD et al., 1994), células escamosas de carcinoma pulmonar humano SK-MES-1 (por apoptose e autofagia) (HAN et al., 2014), como também para eritroleucemia de murinos *in vitro* (mediada pela fosfolipase A₂ - CORIN et al., 1993).

Em ensaio clínico de fase I, realizado em 2002, a PLA₂ de *Crotalus durissus terrificus* administrada em pacientes com câncer promoveu a inibição no crescimento tumoral, sendo 83% para carcinoma pulmonar, 69% para carcinoma mamário humano e 44% para leucemia. Os efeitos colaterais relatados foram diplopia, ptose palpebral, nistagmo, ansiedade, sialorréia, aumentos transitórios nos níveis de creatinina quinase, aspartato aminotransferase e alanina transaminase, efeitos esses atribuídos à miotoxicidade da crotoxina e à reação anafilática (CURA et al., 2002).

Hayashi e colaboradores (2008) observaram, que diferentemente de outras drogas anticâncer, a crotamina de *Crotalus durissus terrificus* tem como alvo primário, a mitocôndria e os lisossomos, levando a um aumento das concentrações de cálcio livre nas células cancerosas. Na concentração de cinco micrograma/ mL, a crotamina foi letal para as linhagens B16-F10 (melanoma de murino), SK-Mel-28 (melanoma humano) e Mia PaCa-2 (carcinoma pancreático humano) e inofensiva para células não tumorais. Tratamento com crotamina por 21 dias, em modelo de melanoma murino *in vivo*, retardou significativamente a implantação do tumor, inibiu o crescimento tumoral e aumentou a sobrevivência dos animais (PEREIRA et al., 2011).

4. Conclusão

Os compostos presentes no veneno da serpente amazônica *Crotalus durissus ruruima* se assemelham aos encontrados no veneno de *C. d. terrificus*, porém, com variações quantitativas e qualitativas que se refletem em suas atividades biológicas. Atividades antimicrobianas e antitumorais já foram descritas para os componentes do veneno de *C. d. terrificus*, principalmente em relação à crotoxina e crotamina, toxinas presentes também no veneno de *C. d. ruruima*. Diante do exposto, o veneno bruto e as frações isoladas do veneno de *C. d. ruruima* e das demais espécies peçonhentas amazônicas apresentam um elevado potencial biotecnológico, sendo relevante o estudo de suas ações e de seus potenciais farmacológicos.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Produtividade a Maria Cristina dos Santos. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do



Amazonas pela concessão da Bolsa de Doutorado a Ilia Gilmara Carvalho dos Santos. À FAPEMIG pela concessão de Bolsa de Incentivo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico a Consuelo Latorre Fortes-Dias.

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

ALBUQUERQUE, P. L. M. M.; SILVA JUNIOR, G. B.; JACINTO, C. N.; LIMA, C. B.; LIMA, J. B.; VERAS, M. D. S. B.; DAHER, E. F. Epidemiological profile of snakebite accidents in a metropolitan area of northeast Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, p. 347-351, 2013.

ALCÂNTARA, A. F. C.; VELOSO, D. P.; FERNANDES, A. J.; DOS-SANTOS, M. C. Theoretical Investigation of the Structural Properties of Two Crotoamines. **The Open Natural Products Journal**, v. 4, p. 16-20, 2011.

ALEXANDER, G.; GROTHUSEN, J.; ZEPEDA, H.; SCHWARTZMAN, R. J. Gyroxin, a toxin from the venom of *Crotalus durissus terrificus*, is a thrombin-like enzyme. **Toxicon**, v. 26, n. 10, p. 953-960, 1988.

ALOOF-HIRSCH, S.; DE VRIES, A.; BERGER, A. The direct lytic factor of cobra venom: purification and chemical characterization. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure**, v. 154, n. 1, p. 53-60, 1968.

AMARAL, C. F. S.; REZENDE, N. A.; SILVA, O. A.; RIBEIRO, M. M. F.; MAGALHÃES, R. A.; REIS, R. J.; CARNEIRO, J. G.; CASTRO, J. R. S. Insuficiência Renal Aguda Secundária a Acidentes Ofídicos Botrópico e Crotálico. Análise de 63 Casos. **Rev. Inst. Med trop. São Paulo**, v. 28, n. 4, p. 220-227, 1986.

ARAÚJO, M. E.; DOS-SANTOS, A. C. M. C. A. Cases of human envenoming caused by *Philodryas olfersii* and *Philodryas patagoniensis* (serpentes:

Colubridae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 517-519, 1997.

AZEVEDO MARQUES, M. M.; CUPO, P.; COIMBRA, T.M.; HERING, S. E.; ROSSI, M. A.; LAURE, C. J. Myonecrosis, myoglobinuria and acute renal failure induced by South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) envenomation in Brazil. **Toxicon**, v. 23, p. 613-636, 1985.

BANCHER, W.; ROSA, R. R.; FURLANETO, R. S. Estudos sobre a fixação eletiva e quantitativa do veneno *Crotalus durissus terrificus* nos tecidos nervosos, renal, hepático e muscular de *Mus musculus* Linnaeus, 1758. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 37, p. 139-148, 1973.

BARRIO, A. Gyroxin, a new neurotoxin of *Crotalus durissus terrificus* venom. **Acta Physiol Latinoamer**, v. 11, p. 224-232, 1961.

BARROS, G. A. C.; PEREIRA, A. V.; BARROS, L. C.; JR, A. L.; CALVI, S. A.; SANTOS, L. D.; BARRAVIERA, B.; FERREIRA, R. S. In vitro activity of phospholipase A2 and of peptides from *Crotalus durissus terrificus* venom against amastigote and promastigote forms of *Leishmania (L.) infantum chagasi*. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2015.

BARROS, L.; SOARES, A.; COSTA, F.; RODRIGUES, V.; FULY, A.; GIGLIO, J.; GALLACCI, M.; THOMAZINI-SANTOS, I.; BARRAVIERA, S.; BARRAVIERA, B.; FERREIRA JUNIOR, R. Biochemical and biological evaluation of gyroxin isolated from *Crotalus durissus terrificus* venom. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 17, p. 23-33, 2011.

BIEBER, A. L. Metal and Nonprotein Constituents in Snake Venoms. In: LEE, C.-Y. (Eds.). **Snake Venoms**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1979. p. 295-306.

BOUCHIER, C.; BOULAIN, J.-C.; BON, C.; MÉNEZ, A. Analysis of cDNAs encoding the two subunits of crotoxin, a phospholipase A2 neurotoxin from rattlesnake venom: the acidic non enzymatic subunit derives from a phospholipase A2-like precursor. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression**, v. 1088, n. 3, p. 401-408, 1991.



BRAGANÇA, B. M.; PATEL, N. T.; BADRINATH, P. G. Isolation and properties of a cobra venom factor selectively cytotoxic to yoshida sarcoma cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 136, n. 3, p. 508-520, 1967.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. 2. ed. Brasília, 2001.

CALVETE, J. J.; SANZ, L.; CID, P.; DE LA TORRE, P.; FLORES-DÍAZ, M.; DOS SANTOS, M. C.; BORGES, A.; BREMO, A.; ANGULO, Y.; LOMONTE, B.; ALAPE-GIRÓN, A.; GUTIÉRREZ, J. M. Snake Venomics of the Central American Rattlesnake *Crotalus simus* and the South American *Crotalus durissus* Complex Points to Neurotoxicity as an Adaptive Paedomorphic Trend along *Crotalus* Dispersal in South America. **Journal of Proteome Research**, v. 9, n. 1, p. 528-544, 2010.

CAVALCANTE, W. L. G.; PONCE-SOTO, L. A.; MARANGONI, S.; GALLACCI, M. Neuromuscular effects of venoms and crotoxin-like proteins from *Crotalus durissus ruruima* and *Crotalus durissus cumanensis*. **Toxicon**, v. 96, p. 46-49, 2015.

CHIPPAUX, J. P.; WILLIAMS, V.; WHITE, J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. **Toxicon**, v. 29, n. 11, p. 1279-1303, 1991.

CORIN, R. E.; VISKATIS, L. J.; VIDAL, J. C.; ETCHEVERRY, M. A. Cytotoxicity of crotoxin on murine erythroleukemia cells in vitro. **Investigational New Drugs**, v. 11, n. 1, p. 11-15, 1993.

CURA, J. E.; BLANZACO, D. P.; BRISSON, C.; CURA, M. A.; CABROL, R.; LARRATEGUY, L.; MENDEZ, C.; SECHI, J. C.; SILVEIRA, J. S.; THEILLER, E.; ROODT, A. R.; C.2, V. J. Phase I and Pharmacokinetics Study of Crotoxin (Cytotoxic PLA2, NSC-624244) in Patients with Advanced Cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 8, p. 1033 a 1041, 2002.

DA SILVA, R. J.; FECCHIO, D.; BARRAVIERA, B. Antitumor effect of snake venoms. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 2, p. 79-90, 1996.

DIZ FILHO, E. B. S.; MARANGONI, S.; TOYAMA, D. O.; FAGUNDES, F. H. R.; OLIVEIRA, S. C. B.; FONSECA, F. V.; CALGAROTTO, A. K.; JOAZEIRO, P. P.; TOYAMA, M. H. Enzymatic and structural characterization of new PLA2 isoform isolated from white venom of *Crotalus durissus ruruima*. **Toxicon**, v. 53, n. 1, p. 104-114, 2009.

DOS-SANTOS, M. C. Crotoxina e Crotoxina-Simile Isoladas de Venenos de Subespécies de *Crotalus durissus* e suas múltiplas atividades biológicas. **Scientia Amazonia**, v. 3, n. 2, 2014.

DOS-SANTOS, M. C.; ASSIS, E. B.; MOREIRA, T. D.; PINHEIRO, J.; FORTES-DIAS, C. L. Individual venom variability in *Crotalus durissus ruruima* snakes, a subspecies of *Crotalus durissus* from the Amazonian region. **Toxicon**, v. 46, n. 8, p. 958-961, 2005.

DOS-SANTOS, M. C.; FERREIRA, L. C. L.; DA SILVA, W. D.; FURTADO, M. D. F. D. Caracterización de las actividades biológicas de los venenos 'amarillo' y 'blanco' de *Crotalus durissus ruruima* comparados con el veneno de *Crotalus durissus terrificus*. Poder neutralizante de los antivenenos frente a los venenos de *Crotalus durissus ruruima*. **Toxicon**, v. 31, n. 11, p. 1459-1469, 1993.

DOS-SANTOS, M. C.; MORHY, L.; FERREIRA, L. C. L.; OLIVEIRA, E. B. Purification and properties of a crotoxin analog from *Crotalus durissus ruruima* venom. **Toxicon**, v. 31, n. 2, p. 166-166, 1993.

FADEL, V.; BETTENDORFF, P.; HERRMANN, T.; DE AZEVEDO JR, W. F.; OLIVEIRA, E. B.; YAMANE, T.; WÜTHRICH, K. Automated NMR structure determination and disulfide bond identification of the myotoxin crotoxin from *Crotalus durissus terrificus*. **Toxicon**, v. 46, n. 7, p. 759-767, 2005.

FERREIRA, B. L. **Identificação da atividade antibiótica e relação estrutura atividade de moléculas de origem sintética e animal**. 2007. Dissertação (Mestrado em Neuroimunologia). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2007.

FONSECA, F. V. **Modificação estrutural de PLA2 de *Crotalus durissus ruruima* e *Crotalus durissus cumanensis* com p-bromofenacil e cumarinas sintéticas – Caracterização bioquímica e biológica**.



Estudo da agregação plaquetária e efeito edematogênico. 2011. Tese (Doutorado). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

GLASER, H. S. R. Bactericidal Activity of Crotalus Venom in Vitro. **Copeia**, v. 1948, n. 4, p. 245-247, 1948.

GOMES, A.; BHATTACHARJEE, R. M.; BISWAS, A. K.; DASGUPTA, S. C.; GIRI, B. Anticancer potential of animal venoms and toxins. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 48, p. 93-103, 2010.

HAN, R.; LIANG, H.; QIN, Z.; LIU, C. Crotoxin induces apoptosis and autophagy in human lung carcinoma cells in vitro via activation of the p38 MAPK signaling pathway. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 35, p. 1323-1332, 2014.

HAYASHI, M. A. F.; NASCIMENTO, F. D.; KERKIS, A.; OLIVEIRA, V.; OLIVEIRA, E. B.; PEREIRA, A.; RÁDIS-BAPTISTA, G.; NADER, H. B.; YAMANE, T.; KERKIS, I.; TERSARIOL, I. L. S. Cytotoxic effects of crotoxin are mediated through lysosomal membrane permeabilization. **Toxicon**, v. 52, n. 3, p. 508-517, 2008.

HEINEMANN, J. A.; ANKENBAUER, R. G.; AMÁBILE-CUEVAS, C. F. Do antibiotics maintain antibiotic resistance? **Drug Discovery Today**, v. 5, p. 195-204, 2000.

HENDON, R. A.; FRAENKEL-CONRAT, H. Biological roles of the two components of crotoxin. **Proc Natl Acad Sci**, v. 68, p. 1560-1563, 1971.

JORGE, M. T.; RIBEIRO, L. A. Epidemiologia e quadro clínico do acidente por cascavel sul-americana (*Crotalus durissus*). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, p. 347-354, 1992.

KOH, D. C.; ARMUGAN, A.; JEYASEELAN, K. Snake venom components and their applications in biomedicine. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 63, p. 3030-3041, 2006.

KUMAR, S.; SARKAR, P.; JAIN, R. Venoms can be a boon for cancer patients. **Forum on Immunopathological diseases and Therapeutics**, v. 4, p. 255-273, 2013.

LAURE, C. J. [The primary structure of crotoxin (author's transl)]. **Hoppe Seylers Z Physiol Chem**, v. 356, n. 2, p. 213-215, 1975.

MALUF, S. C.; MAS, C. D.; OLIVEIRA, E. B.; MELO, P. M.; CARMONA, A. K.; GAZARINI, M. L.; HAYASHI, M. A. F. Inhibition of malaria parasite *Plasmodium falciparum* development by crotoxin, a cell penetrating peptide from the snake venom. **Peptides**, v. 78, p. 11-16, 2016.

MARTINS, A. M. C.; TOYAMA, M. H.; HAVT, A.; NOVELLO, J. C.; MARANGONI, S.; FONTELES, M. C.; MONTEIRO, H. S. A. Determination of *Crotalus durissus cascavella* venom components that induce renal toxicity in isolated rat kidneys. **Toxicon**, v. 40, n. 8, p. 1165-1171, 2002.

MATAVEL, A. C. S.; FERREIRA-ALVES, D. L.; BEIRÃO, P. S. L.; CRUZ, J. S. Tension generation and increase in voltage-activated Na⁺ current by crotoxin. **European Journal of Pharmacology**, v. 348, n. 2-3, p. 167-173, 1998.

MELLO, L. E. A. M.; CAVALHEIRO, E. A. Behavioural, electroencephalographic and neuropathological effects of the intrahippocampal injection of the venom of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*). **Toxicon**, v. 27, n. 2, p. 189-199, 1989.

MULLER, V. D. M.; RUSSO, R. R.; OLIVEIRA CINTRA, A. C.; SARTIM, M. A.; DE MELO ALVES-PAIVA, R.; FIGUEIREDO, L. T. M.; SAMPAIO, S. V.; AQUINO, V. H. Crotoxin and phospholipases A₂ from *Crotalus durissus terrificus* showed antiviral activity against dengue and yellow fever viruses. **Toxicon**, v. 59, n. 4, p. 507-515, 2012.

NEVES, M. S.; SOUSA, D. R. T.; SOCORRO, M. P.; FERREIRA, B. C.; FROTA, M. Z. M.; SOUZA, J. V. B.; LOZANO, L. L. L. Evaluation of antifungal activity of snake venoms from the Amazon forest. **Journal of Yeast and Fungal Research**, v. 6, n. 2, p. 11-16, 2015.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.

NUNES, F. P. B.; ZYCHAR, B. C.; DELLA-CASA, M. S.; SAMPAIO, S. C.; GONÇALVES, L. R. C.; CIRILLO, M. C. Crotoxin is responsible for the long-lasting anti-inflammatory effect of *Crotalus*



durissus terrificus snake venom: involvement of formyl peptide receptors. **Toxicon**, v. 55, n. 6, p. 1100-1106, 2010.

OGUIURA, N.; BONI-MITAKE, M.; AFFONSO, R.; ZHANG, G. In vitro antibacterial and hemolytic activities of crotoamine, a small basic myotoxin from rattlesnake *Crotalus durissus*. **The Journal of Antibiotics**, v. 64, p. 327-331, 2011.

PEREIRA, A.; KERKIS, A.; HAYASHI, M. A. F.; PEREIRA, A. S. P.; SILVA, F. S.; OLIVEIRA, E. B.; SILVA, A. R. B. P.; YAMANE, T.; RÁDIS-BAPTISTA, G.; KERKIS, I. Crotoamine toxicity and efficacy in mouse models of melanoma. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 20, n. 9, p. 1189-1200, 2011.

PINHO, F. M. O.; PEREIRA, I. D. Ofidismo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 47, p. 24-29, 2001.

PONCE-SOTO, L. A.; BALDASSO, P. A.; ROMERO-VARGAS, F. F.; WINCK, F. V.; NOVELLO, J. C.; MARANGONI, S. Biochemical, Pharmacological and Structural Characterization of Two PLA2 Isoforms Cdr-12 and Cdr-13 from *Crotalus durissus ruruima* Snake Venom. **The Protein Journal**, v. 26, n. 1, p. 39-49, 2007.

QUEIROZ, S. J. **Identificação da atividade antimicrobiana no veneno da serpente *Bothrops moojeni* em bactérias gram negativas**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde), Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiás, 2010.

QUINTANA, J. C.; CHACÓN, A. M.; VARGAS, L.; SEGURA, C.; GUTIÉRREZ, J. M.; ALARCÓN, J. C. Antiplasmodial effect of the venom of *Crotalus durissus cumanensis*, crotoxin complex and Crotoxin B. **Acta Tropica**, v. 124, n. 2, p. 126-132, 2012

RAMOS, O. H. P.; SELISTRE-DE-ARAUJO, H. S. Snake venom metalloproteases — structure and function of catalytic and disintegrin domains. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 142, n. 3-4, p. 328-346, 2006.

RANGEL-SANTOS, A.; DOS-SANTOS, E. C.; LOPES-FERREIRA, M.; LIMA, C.; CARDOSO, D. F.; MOTA, I. A comparative study of biological activities of crotoxin and CB fraction of venoms from *Crotalus durissus terrificus*, *Crotalus durissus*

cascavella and *Crotalus durissus collilineatus*. **Toxicon**, v. 43, n. 7, p. 801-810, 2004.

RUDD, C. J.; VISKATIS, L. J.; VIDAL, J. C.; ETCHEVERRY, M. A. In vitro comparison of cytotoxic effects of crotoxin against three human tumors and a normal human epidermal keratinocyte cell line. **Investigational New Drugs**, v. 12, n. 3, p. 183-184, 1994.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enferm**, v. 13, p. 64-70, 2004.

SLOTTA, K. H.; FRAENKEL-CONRAT, H. Two Active Proteins from Rattlesnake Venom. **Nature**, v. 142, p. 213-213, 1938.

SOARES, M.; PUJATTI, P.; FORTES-DIAS, C.; ANTONELLI, L.; SANTOS, R. *Crotalus durissus terrificus* venom as a source of antitumoral agents. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 16, p. 480-492, 2010.

TAMIETI, B. P.; DAMATTA, R. A.; COGO, J. C.; DA SILVA, N. S.; MITTMANN, J.; PACHECO-SOARES, C. Cytoskeleton, endoplasmic reticulum and nucleus alterations in CHO-K1 cell line after *Crotalus durissus terrificus* (South American rattlesnake) venom treatment. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 13, p. 56-68, 2007.

TOYAMA, M. H.; DE OLIVEIRA, D. G.; BERIAM, L. O. S.; NOVELLO, J. C.; RODRIGUES-SIMIONI, L.; MARANGONI, S. Structural, enzymatic and biological properties of new PLA2 isoform from *Crotalus durissus terrificus* venom. **Toxicon**, v. 41, n. 8, p. 1033-1038, 2003.

TOYAMA, M. H.; TOYAMA, D. D. O.; PASSERO, L. F. D.; LAURENTI, M. D.; CORBETT, C. E.; TOMOKANE, T. Y.; FONSECA, F. V.; ANTUNES, E.; JOAZEIRO, P. P.; BERIAM, L. O. S.; MARTINS, M. A. C.; MONTEIRO, H. S. A.; FONTELES, M. C. Isolation of a new l-amino acid oxidase from *Crotalus durissus cascavella* venom. **Toxicon**, v. 47, n. 1, p. 47-57, 2006.

VARGAS, F. F. R. **Modificações químicas de fosfolipases A2 procedentes do veneno de *Crotalus durissus ruruima* e *Crotalus durissus cumanensis*: estudos dos efeitos catalíticos e farmacológicos**. 2007. Dissertação (Mestrado), Instituto de Biologia,



Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

VARGAS, L. J.; QUINTANA, J. C.; PEREAÑEZ, J. A.; NÚÑEZ, V.; SANZ, L.; CALVETE, J. Cloning and characterization of an antibacterial L-amino acid oxidase from *Crotalus durissus cumanensis* venom. **Toxicon**, v. 64, p. 1-11, 2013.

YAMANE, E. S.; BIZERRA, F. C.; OLIVEIRA, E. B.; MOREIRA, J. T.; RAJABI, M.; NUNES, G. L. C.; DE SOUZA, A. O.; DA SILVA, I. D. C. G.; YAMANE, T.; KARPEL, R. L.; SILVA JR, P. I.; HAYASHI, M. A. F. Unraveling the antifungal activity of a South American rattlesnake toxin crotamine. **Biochimie**, v. 95, n. 2, p. 231-240, 2013.

YAN, C.-H.; LIANG, Z.-Q.; GU, Z.-L.; YANG, Y.-P.; REID, P.; QIN, Z.-H. Contributions of autophagic and apoptotic mechanisms to CrTX-induced death

of K562 cells. **Toxicon**, v. 47, n. 5, p. 521-530, 2006.

ZAMBELLI, V. O.; SAMPAIO, S. C.; SUDO-HAYASHI, L. S.; GRECO, K.; BRITTO, L. R. G.; ALVES, A. S.; ZYCHAR, B. C.; GONÇALVES, L. R. C.; SPADACCI-MORENA, D. D.; OTTON, R.; DELLA-CASA, M. S.; CURI, R.; CURY, Y. Crotoxin alters lymphocyte distribution in rats: Involvement of adhesion molecules and lipoxigenase-derived mediators. **Toxicon**, v. 51, n. 8, p. 1357-1367, 2008.

ZHANG, H.-L.; HAN, R.; CHEN, Z.-X.; CHEN, B.-W.; GU, Z.-L.; REID, P. F.; RAYMOND, L. N.; QIN, Z.-H. Opiate and acetylcholine-independent analgesic actions of crotoxin isolated from *crotalus durissus terrificus* venom. **Toxicon**, v. 48, n. 2, p. 175-182, 2006.