

Biologia Geral e Experimental

Universidade Federal de Sergipe

Biol. Geral Exper., São Cristóvão, SE 6 (1): 3-36

30.xii.2005

ISSN 1519-1982

Ofidismo e plantas utilizadas como antiofídicas

J.C. Vilar¹

C.M. Carvalho²

M.F.D. Furtado³

¹ Departamento de Biologia, Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, São Cristóvão, Se, 49100-000. jvilar@bol.com.br

² Departamento de Biologia, Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, São Cristóvão, Se, 49100-000. cmorato@bol.com.br

³ Instituto Butantan, Secretaria da Saúde de São Paulo, Av. Vital Brazil, 1500, CEP 05503-900, fatifurtado@butantan.gov.br

INTRODUÇÃO

Dentre as serpentes que ocorrem na América do Sul, aproximadamente 75 espécies e 45 subespécies pertencem aos gêneros *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrocophias*, *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis*, *Porthidium* (Viperidae), *Micrurus* e *Pelamis* (Elapidae), o último é marinho. Estas cobras possuem o maxilar reduzido portando um único dente funcional, que é percorrido por um canal conectado à glândula de veneno localizada na região temporal. Nas viperídeas, o dente é perfeitamente canaliculado (solenóglifo), o maxilar é móvel e ao girar coloca o dente em posição de picar; nas elapídeas o canal é formado pelo fechamento de um sulco (proteróglifo), o maxilar é imóvel e a inoculação do veneno dá-se através de uma persistente mordida. Distribuídas em todos os domínios morfoclimáticos brasileiros ocorrem aproximadamente 40 espécies e 46 subespécies de serpentes venenosas, pertencentes aos gêneros *Bothriopsis*, *Bothrocophias*, *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis* e *Micrurus* (Peters & Orejas-Miranda, 1986; Campbell & Lamar, 1989; Vanzolini, Ramos-Costa & Vitt, 1980; Vanzolini & Caleffo, 2002; Cunha & Nascimento, 1993; Fernandes *et al.*, 2004). A Tabela 1 apresenta uma lista das viperídeas e elapídeas brasileiras, com as respectivas distribuições geográficas.

No Brasil são registrados cerca de vinte mil acidentes ofídicos por ano, com incidências que variam entre sete a vinte e quatro casos anuais em cada cem mil habitantes. Nas regiões com dificuldades de assistência à saúde, os índices podem estar subestimados. A maioria destes acidentes é causada por *Bothrops* (jararaca, jararacuçu, urutu, patrona), uma pequena parte por *Crotalus* (cascavel, boiçininga) e menos ainda por *Micrurus* (coral) e *Lachesis* (surucucu pico-de-jaca, surucucu da patioba, surucucu de fogo, surucutinga). Não há na literatura registro para acidentes com *Bothriopsis* e *Bothrocophias*, embora estes ocorram em outras regiões ao norte da América do Sul (Brazil, 1901; Brasil, 1991, 1999; Amaral *et al.*,

1986; Vilar *et al.*, 2004; Otero *et al.*, 2000).

Apesar das estratégias do Ministério da Saúde em distribuir imunobiológicos para as Secretarias Estaduais de Saúde, freqüentemente os casos de envenenamentos por serpentes (e outros animais) são tratados com preparados populares feitos com plantas medicinais regionais. Muitas destas plantas estão identificadas, porém a maioria nunca foi estudada para verificar suas ações e validar os usos, as quais são indicadas por rezadores e raizeiros somente pelos nomes populares. O problema do reconhecimento das plantas pelos nomes populares é que estas variam de região para região. Por exemplo, as plantas conhecidas como cabeça-de-negro e batata-de-teiú são citadas na literatura como tendo propriedades antiofídicas, mas estudá-las para verificar estas propriedades é complicado, porque existem pelo menos dez espécies com estes nomes, distribuídas em todas as regiões brasileiras (Mors *et al.*, 2000; Martz, 1992). A Tabela 2 traz uma lista de plantas utilizadas popularmente como antiofídicas.

Neste levantamento bibliográfico fazemos breves comentários sobre os aspectos populares e científicos do ofidismo e das plantas medicinais utilizadas como antiofídicas. São também resumidamente apresentados os resultados dos experimentos realizados por um de nós (JCVilar) com plantas da caatinga que inibem em camundongos as ações hemorrágicas do veneno de *B.jararaca*. Na parte sobre toxinologia e dos primeiros relatos de estudos realizados com venenos de serpentes utilizamos como base principalmente as revisões de Gutiérrez (2002), Habermehl (1994); Hawgood (1995, 1996, 1999), Otero, Fonegra & Jiménez (2000) e os relatos originais de Vital Brazil. No contexto do desenvolvimento do soro antiveneno, além de Vital Brazil, as bases referenciais principais foram os trabalhos de Raw & Sant'Ana (2002), Wen (2003), Brygoo (1982) e as citações contidas na publicação de Cardoso *et al.* (2003). Os demais autores, cujos relatos abordam temas específicos sobre o assunto, estão citados no texto.

Origem e Evolução dos Estudos Sobre Serpentes e Venenos Ofídicos

Os relatos antigos a Lineu, Ray e os naturalistas dos séculos XVIII e XIX

O reconhecimento e a descrição das espécies de serpentes com base em caracteres morfológicos foi fundamental para o estudo dos venenos ofídicos e só pôde ser sistematizado após as publicações dos trabalhos de Lineu (Caroli a Linné 1707-1778) no século XVIII, que implantou o sistema da nomenclatura binomial e a homogeneização do conhecimento zoológico. Desse modo, os conhecimentos antigos sobre as serpentes e envenenamentos ofídicos se baseavam principalmente nas representações carregadas de simbolismos, em grande parte religiosas. Dentre estas, destacava-se a crença de que as serpentes possuíam “espíritos ruins”, os quais eram responsáveis pelos sintomas do envenenamento. Estes mitos não impediram que o jesuíta Athanasius Kirsher (1602-1680) colocasse várias espécies de cobras na Arca de Noé idealizada por ele na sua obra *Arca Noë* publicada em 1675, com descrições fantásticas de criaturas como *Cerastes* e *Boa*, a primeira era uma serpente provida de chifres, a outra sugava o leite de vacas (Papavero, Teixeira & Llerente-Bousquets, 1997:82).

Os relatos sobre a história natural dos animais, com algumas menções às serpentes, apareceram de forma mais organizada nos escritos de Aristóteles (384 – 322 a.C.), reunidos em nove volumes na sua “*Historia animalium*”. Aristóteles, discípulo de Platão, foi um grande zoólogo e o primeiro a classificar os organismos com base nos caracteres morfológicos, registrando também suas observações sobre fisiologia e reprodução dos animais nas obras “*De Partibus Animalium*” e “*De Generatione Animalium*”. Os relatos de Plínio (23 – 79 d.C), narrados em 37 volumes na sua “*História Natural*”, também continham informações sobre fenômenos naturais e animais selvagens e domésticos, porém carregadas de fantasias (Goin, Goin & Zug, 1978).

As primeiras ilustrações científicas e descrições sistemáticas que incluíram serpentes, ao lado de animais fabulosos, foram feitas pelo naturalista suíço Conradus von Gesner (1516 – 1565), na sua obra “*Historia Animalium*” publicada entre 1559 e 1583. As descrições de Gesner serviram de base (foram traduzidas para o inglês) para o reverendo Edward Topsell (1562 – 1675) escrever em 1609 a sua “*Historie of Serpents or the Second Book of living Creatures*”, porém o seu conceito de serpente abrangia também outros animais. A obra *Synopsis Methodica Animalium Quadrupedum et Serpentinae Generis*, publicada em 1693 pelo naturalista inglês John Ray (1628 – 1725) foi a que realmente arranhou os anfíbios e répteis de forma ordenada e sistemática antes de Lineu, agrupando-os com base na similaridade da estrutura do coração com um ventrículo. Nesta obra Ray relata as suas observações sobre as diferenças na dentição das serpentes, reconhecendo as venenosas pelos dentes anteriores aumentados.

A partir daí vários naturalistas contribuíram para os estudos sobre serpentes, como Bernard Lacépède (1756 – 1825), que continuou a obra de George L.L. de Buffon (1707 – 1788) *Histoire Naturelle*; François M. Daudin (1774 – 1804), que em 1802 publicou *Histoire Naturelle des Reptiles*; André Marie Constant Duméril (1764 – 1860) e Gabriel Bibron (1806 – 1848), que publicaram uma série de 10 volumes e atlas intitulados *Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle Complète de Reptiles*, com a ajuda do filho de André Marie, Auguste H.A. Duméril nos últimos volumes; Marie Firme Bocourt, que auxiliou na obra de Duméril; Hermann Schlegel (1804 – 1884), que escreveu *Essai Sur La Physionomie des Serpents* em 1837; Karl Hoffmann (1841 – 1903), e a sua obra *Klassen und Ordnungen des Thierreichs*; Willelm Carl Hartwig Peters (1815 – 18830), que contribuiu na *Reise nach Mossambique*; C.L. Bonaparte e a sua obra *Iconografia della Fauna Italica*, iniciada por George Jan (1791 – 1866); John Edward Gray (1800 – 1875), que publicou vários artigos sobre herpetologia no Museu Britânico;

Albert C.L.G. Günther, que em 1864 publicou *Reptiles of British India*; George Albert Boulenger (1858 – 1937), cuja contribuição foi enorme para a herpetologia, tendo realizado várias revisões dos catálogos do Museu Britânico; Thomas Say (1787 – 1843; John Edward Holbrook (1794 – 1871); Spencer Fullerton Baird (1823 – 1887); Charles Frédéric Girard (1822 – 1895) e Edward Drinker Cope (1840 – 1897), todos ligados a Museus da Europa, os cinco últimos dos Estados Unidos (Goin, Goin & Zug, 1978; Porter, 1972; Pough *et al.*, 1998).

As pesquisas toxinológicas

As primeiras informações da literatura sobre experimentos com venenos de serpentes foram publicadas em 1664 pelo italiano Francesco Redi (1626-1696). Nestes relatos ele descreveu a cor amarelada e a consistência do veneno de serpentes, bem como a morfologia dos dentes, narrando minuciosamente suas observações sobre os canais por onde escorre o veneno. Redi observou também que alguns animais sobreviviam sem tratamento ao envenenamento por serpentes e descreveu diferenças morfológicas entre as venenosas e não-venenosas, utilizando os dentes como principal caráter definidor, descrito também por John Ray.

Outra obra pioneira da toxinologia foi *Mechanical Account of Poisons*, escrita pelo médico inglês Richard Mead (1673-1754), publicada em 1702 e republicada em 1743, na qual ele relata seus experimentos *in vitro* com venenos de serpentes. Mead caracterizou o veneno de cobras no grupo dos ácidos, porque ele associou algumas propriedades do veneno com os compostos ácidos conhecidos. Vem desta época a idéia de que um álcali volátil, como a amônia, funcionaria como antídoto para venenos ofídicos.

Um século após os experimentos de Francesco Redi, o também italiano Abeé Felice Fontana (1730-1805), escreveu um texto clássico de toxinologia, traduzido do italiano para o francês, “*Traité sur le vénin de la vipère*”, publicado em 1781. Ao lado dos

trabalhos de Redi e Mead, embora com muitos anos de diferença, os trabalhos de Fontana foram pioneiros em utilizar a experimentação nos estudos sobre venenos de cobras. Ele descreveu a glândula e o ducto de veneno, o sulco dos dentes e o mecanismo pelo qual as serpentes articulam a boca e inoculam o veneno na presa através dos dentes anteriores. Fontana relatou ações miotóxicas e hemorrágicas do veneno de viperídeas não identificadas, que poderiam ser *Vipera berus* ou *V. aspis* (Viperidae), demonstrando que o veneno de serpentes não era um ácido e que a amônia era ineficaz em neutralizá-lo. Apesar disso, o uso da amônia continuou a ser utilizado nos casos de envenenamentos ainda por muitos anos.

A identificação das espécies de serpentes nos relatos pioneiros da toxinologia da segunda metade do século XVIII foi um passo importante para dar consistência e especificidade às observações e experimentos. Como dito, o *Systema Naturae* de Lineu (1707-1778), fundamental para estabelecer a nomenclatura zoológica, já estava na 12a. edição em 1758. A partir do estabelecimento desta primeira fase da zoologia moderna, isto é, um catálogo profissional dos animais conhecidos (Vanzolini, 1996), os estudos sobre venenos de serpentes passaram a trazer as identificações zoológicas das espécies, como nos relatos do médico e naturalista escocês Patrick Russel (1727-1805), que publicou em 1796 *An Account of Indian Serpents Collected on the Coast of Coromandel*. Neste estudo, embora com muitos erros de identificação de gênero, Russel fez um relato sobre serpentes da Índia e descreveu as diferenças entre as serpentes venenosas e não venenosas

Os estudos dos venenos de serpentes dos gêneros *Naja* (Elapidae) e *Crotalus* (Viperidae) deram importantes avanços na toxinologia. Dentre estes se destacam os relatos do médico inglês Joseph Fayrer (1824-1907), que estudou os efeitos sistêmicos do veneno de *Naja*. Ele trabalhou no Serviço Médico da Índia e em 1872 publicou “*The thanatophidia of India being a description of the venomous snakes of the*

Indian Peninsula with an account of the influence of their poison on life and a series of experiments". Fayrer relacionou com o "curare" os efeitos do envenenamento por *Najanaaja*, ambos causam bloqueio da junção neuro-muscular. Em 1875 uma comissão médica da Índia apoiou definitivamente os estudos de Felice Fontana, Russel e Fayrer sobre a ineficácia da amônia em inibir veneno de serpentes e, em 1878, Fayrer e o farmacologista escocês Thomas Lauder Brunton (1844-1916) relataram em Londres que o permanganato de potássio destruía *in vitro* a atividade letal do veneno de *N. naja*, mas não protegia completamente o organismo quando submetido a altas doses de veneno. Apesar disso, permanganato de potássio passou a ser comumente utilizado nos casos de envenenamentos ofídicos (Brasil, 1918).

Nos relatos de estudos com venenos de *Crotalus* destacam-se os de Silas Weir Mitchell (1829-1914), neurofisiologista americano, que em 1860 descreveu a natureza protéica do veneno de *Crotalus horridus*, as pesquisas de Brunton e Fayrer, os quais relataram em 1873 que parada respiratória era a causa da morte pelo envenenamento de *C. horridus*, e os estudos de Victor Razotzi, que em 1890 mostrou experimentalmente que a parada respiratória causada pelo veneno de *C. horridus* era devido ao bloqueio da junção neuro-muscular, e que este veneno tinha ação miotóxica sobre o músculo cardíaco e esquelético.

Apesar destes estudos pioneiros sobre as ações sistêmicas e biológicas dos venenos crotálicos e elapídicos, não havia até o final do século XIX um método eficaz para neutralizar os efeitos dos envenenamentos. Um dos métodos correntes, com base em experimentos, era o permanganato de potássio, conforme relatado por Brunton e Fayrer em 1878. No Museu Nacional do Rio de Janeiro, o pesquisador brasileiro João Batista de Lacerda (1846-1915) descreveu em 1890 a eficácia do permanganato de potássio (1%) em neutralizar *in vitro* a ação letal do veneno de *Bothrops*, tendo sido muito criticado (Brasil, 1911a). Esta situação só foi resolvida com o

desenvolvimento da soroterapia, quando Vital Brazil mostrou em 1901 a ineficácia de todos os demais procedimentos, indicando a soroterapia como única opção capaz de neutralizar os venenos de serpentes.

O contexto científico do desenvolvimento do soro antiveneno ofídico no século XIX

Os estudos pioneiros sobre soros antivenenos ofídicos (e de outros soros antivenenos) tiveram como base as pesquisas sobre microorganismos e métodos de imunização, desenvolvidas na Europa principalmente durante as décadas de 1880 e 1890. O relato sobre os experimentos de vacinação contra a varíola, feito em 1796 pelo médico inglês Edward Jenner (1749-1823), foi pioneiro na história moderna da busca por métodos mais eficazes que pudessem combater as epidemias. A procura estava centrada na idéia certa de que haveria uma forma de proteger, atenuar ou inativar as ações infecciosas e tóxicas causadas no organismo por agentes externos. Primeiro descobriu-se que estes agentes eram micróbios, depois que estes produziam substâncias tóxicas (toxinas) ao organismo e, já no final do século XIX, foram isoladas e produzidas as toxinas em laboratório, descobertas as propriedades celulares em resposta às toxinas e estudado os processos que causam bacteriólise. Muitos cientistas, no Instituto Pasteur em Paris e nas instituições alemãs, principalmente em Berlim, contribuíram para esta busca, através de estudos que levaram às descobertas dos processos imunológicos e ao desenvolvimento dos soros e vacinas. Dentre estes são relevantes no presente contexto:

- O cientista francês Louis Pasteur (1822-1895), que dentre os seus estudos sobre vários aspectos da microbiologia, imunologia, cristalografia e fermentação, ele procurou verificar se organismos poderiam ser imunizados, como fez Jenner,

- Os bacteriologistas franceses Pierre Paul Émile Roux (1853-1933) e Charles Chamberland (1851-1908), os quais, juntamente com Pasteur, descobriram em 1880 que micróbios atenuados do cólera de galinhas

poderiam imunizar outras; Roux também demonstrou que a bactéria da difteria liberava exotoxinas absorvidas pela faringe,

- O bacteriologista alemão Henrich Hermann Robert Koch (1843-1910), que dentre tantas contribuições científicas, em 1882 ele descobriu o bacilo da tuberculose e a partir de uma cultura destes (tuberculina) mostrou que era possível detectá-los quando presentes no organismo; em 1890 ele descreveu a hipersensibilidade do tipo retardada ao bacilo da tuberculose,

- O bacteriologista prussiano Richard Friedrich Johannes Pfeiffer (1856-1945) descobriu em 1894 que os vibriões do cólera morrem quando injetados no peritônio de animais imunizados contra estes (bacteriólise induzida),

- Os fisiologistas franceses Jules Hericourt e Charles Robert Richet (1850-1935), Victor Babes e M. Lepp, os quais relataram processos de imunizações, os primeiros em 1888, sobre a transferência de imunização de um animal para outro, através da injeção do soro obtido do animal imunizado; Babes e Lepp relataram em 1889 a eficácia na aplicação do soro anti-rábico para fins terapêuticos,

- O bacteriologista alemão Emil Adolpho von Behring (1854-1917), descobriu em 1890 a vacina contra a toxina diftérica, juntamente com o bacteriologista japonês Shibasaburo Kitasato (1852-1931); em 1890 produziram pela primeira vez um soro antitetânico,

- O bacteriologista suíço Alexandre Emile Jean Yersin (1863-1943), que isolou a bactéria da peste bubônica, durante uma epidemia na China em 1894; Kitasato também isolou a bactéria e ambos os cientistas, simultânea e independentemente, produziram vacinas antipestosas;

- O bacteriologista austríaco Max von Gruber (1853-1927) e seu aluno inglês Herbert E. Durham (1866-1945) descobriram que no soro de animais imunizados havia uma substância que matava os vibriões do cólera, a qual denominaram aglutinina, por formar aglomerados de vibriões,

- O imunologista alemão Paul Ehrlich (1854-1915), que desenvolveu métodos de imunização em cavalos e estabeleceu bases mais firmes para estudos imunológicos; em 1891 descreveu as especificidades das antitoxinas produzidas por animais inoculados com toxinas de plantas, entre 1898-1900 formula teorias da formação de anticorpos,

- O biólogo russo Ilya Ilich Metchnikoff (1845-1916), descreveu em 1893 o processo da fagocitose e foi pioneiro nos estudos sobre processos inflamatórios,

- O médico belga Jules Jean Baptiste Vincent Bordet (1870-1961), que em 1895 descreveu o processo da ligação antígeno-complemento-anticorpo.

Os experimentos de Phisalix e Bertrand e de Calmette

Seguindo a linha destas pesquisas sobre imunizações e antitoxinas, o médico e naturalista francês Césaire August Phisalix (1852-1906) e seu colega Gabriel Bertrand (1867-1962), ambos do Muséum National d'Histoire Naturelle, realizaram vários experimentos entre 1893-94. Eles estenderam o método de neutralizar toxinas não bacterianas, utilizando antitoxinas extraídas do sangue de animais imunizados contra o veneno de *Vipera aspis* (Viperidae). Em 1894 Phisalix e Bertrand apresentaram na Societé de Biologie de Paris um relato de seus experimentos intitulado *Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère*. Os experimentos descritos por eles foram os primeiros sobre imunização eficaz contra veneno de serpentes, embora já houvesse relatos anteriores: em 1877 o fisiologista americano Henry Sewall (1835-1936), relatou no artigo *Experiments on the preventive inoculation of rattlesnake venom*, que doses diluídas e repetidas de veneno de *Sistrurus* inoculados em pombos produziam resistência contra o veneno da cascavel; entre 1889-1894 o fisiologista francês M. Kaufmann relatou suas tentativas para imunizar animais contra o veneno de *Vipera aspis*. Entretanto os experimentos de Phisalix e Bertrand foram mais vanguarda científica, na linha dos

trabalhos correntes sobre imunização: o soro obtido de um animal previamente imunizado se inoculado em outro poderia ter ação preventiva e curativa contra o veneno.

O médico francês Albert Charles Calmette (1863-1933), chegou simultaneamente aos mesmos resultados que Phisalix e Bertrand, desenvolvendo também um soro antiofídico eficaz contra o veneno de *Naja tripudians*. Calmette iniciou em 1888 seus estudos sobre vacina anti-rábica, em Saigon, então capital da Indochina. De volta à França ele foi trabalhar no Instituto Pasteur, onde em 1894, com a ajuda de Émile Roux, deu continuidade às suas pesquisas sobre neutralização de toxinas, mas utilizando veneno de serpentes. Fundamentado nas pesquisas correntes sobre vacinas e imunizações, Calmette verificou que doses repetidas do veneno de *Naja* (recebido da Indochina) injetadas em cavalos conferiam imunidade aos animais e destes obteve o soro capaz de neutralizar o veneno da espécie de naja que trabalhou.

Em 1894, Calmette publicou o resultado das suas pesquisas no artigo *Contribution a l'étude du venin des serpents. Immunisation des animaux et traitement de l'envenimation*. Ambos os experimentos, de Phisalix e Bertrand, e o de Calmette, chegaram ao mesmo resultado e às mesmas conclusões sobre imunizações contra venenos de serpentes através de soros obtidos do sangue imunizado de animais inoculados com doses de venenos. A diferença, talvez, foi que enquanto os experimentos dos naturalistas do Muséum d'Histoire Naturelle ficaram no relato acadêmico, os de Calmette, desenvolvidos no Instituto Pasteur de Lille, foram utilizados como base para produzir em 1896 o primeiro soro antiveneno ofídico disponibilizado para o público, como os demais soros e vacinas produzidos pelo Instituto Pasteur.

O relato de Calmette para tratamento de envenenamentos ofídicos, *Le venin des serpents. Physiologie et traitement de l'envenimation*, foi publicado em Paris, em 1896. Estimulado por estes resultados, Calmette aperfeiçoou o método para

neutralizar o veneno de várias espécies de serpentes e o seu protocolo de produção de soro antiveneno ofídico foi adotado por Vital Brazil no Brasil em 1899, por MacFarland nos Estados Unidos em 1899, por Tidswell na Austrália em 1901, por Lamb na Índia em 1904 e por Ishizaka no Japão em 1907. Nas suas pesquisas subseqüentes, Calmette verificou que as ações bioquímicas dos venenos mostravam especificidades, porque o soro elaborado com o veneno de *Naja* não neutralizava o veneno de outras serpentes, nem mesmo as espécies da família Elapidae. Calmette então formulou a hipótese, que não verificou, de que os venenos de serpentes possuíam dois tipos de proteínas: uma predominante nos viperídeos, que era destruída pelo calor a 75-85°C, de alto peso molecular, outra predominante nos elapídeos, mais resistente ao calor e de baixo peso molecular.

O Instituto Butantan e a Contribuição de Vital Brazil

Um fato fundamental na história do ofidismo no Brasil (e também para a imunologia e microbiologia), foi a criação do Instituto Butantan, na cidade de São Paulo. Em 1899, o epidemiologista Adolpho Lutz (1855-1940) e seu assistente Vital Brazil Mineiro da Campanha (1865-1950), então com 34 anos, identificaram e caracterizaram uma epidemia de peste bubônica no porto de Santos. Para combatê-la era necessário aplicar o soro antipestoso na população, mas como este era produzido em Paris, tornou-se urgente produzi-lo no Brasil. A fim de suprir esta necessidade, em 1899 foi criado o Instituto Serumtherápico do Estado de São Paulo, localizado a poucos quilômetros da capital, na fazenda Butantan.

O novo órgão foi vinculado ao Instituto Bacteriológico do Estado de São Paulo, que já funcionava desde 1892, como Laboratório de Bacteriologia, e desde 1893 como Instituto. Dois anos depois de fundado, o Serumtherápico foi desmembrado do Bacteriológico e passou a ser chamado Instituto Butantan, cuja principal atribuição era produzir soro antipestoso para conter a epidemia de 1899. Com a

mesma finalidade, em 1900 foi criado também o Instituto Sorotherápico Federal, localizado na fazenda de Manguinhos, no Rio de Janeiro, cujo nome foi mudado para Instituto Oswaldo Cruz em 1908. Para dirigir o Seruntherápico de São Paulo foi nomeado Vital Brazil, também designado diretor quando o Instituto em 1901 passou a ser chamado Butantan. Atualmente este órgão da Secretaria Estadual da Saúde de São Paulo, além de realizar pesquisas básicas e tecnológicas, é responsável pela maior parte da produção dos soros e vacinas consumidos no Brasil (Camargo & Sant'Ana, 2004; Furtado, Colleto e Dias da Silva, 1991a).

Os experimentos de Vital Brazil sobre imunização de animais contra os venenos de cobras foram iniciados em 1897, num anexo do Instituto Bacteriológico. Seus experimentos demonstraram as especificidades dos soros antivenenos, cujos resultados, já nos primeiros anos do Butantan, permitiram o desenvolvimento e a produção dos soros monovalentes contra o veneno de *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus*. Num dos experimentos, ele inoculou os venenos pelas vias gástrica (oral), hipodérmica, venosa, intramuscular e intraserosa (intraperitoneal), utilizando pombos, cobaias, coelhos e cães. Com base nos resultados, Vital Brazil descreveu duas ações dos venenos sobre o organismo, as quais denominou fenômenos locais e gerais (sistêmicos), descrevendo também alguns sintomas específicos (Brazil, 1901a).

Vital Brazil realizou vários estudos; no presente contexto destacam-se as suas pesquisas sobre a catalogação das serpentes venenosas brasileiras, descrições da morfologia dos dentes e glândulas de veneno, estudos sobre a toxicidade do veneno de *Crotalus durissus terrificus*, *Bothrops jararaca*, *B. alternatus* e *B. jararacussu* para determinar a dose letal (em microgramas) dos venenos e descrições dos efeitos fisiopatológicos dos envenenamentos. Com relação à composição química dos venenos, Vital Brazil relatou a presença de água, sais, materiais corantes e substâncias albuminóides, as quais considerou como partes tóxicas do veneno. Após imunizar cães contra o veneno de

cascaavel e jararacas, separadamente, ele conseguiu soros bastante ativos e foi o primeiro a demonstrar a especificidade dos soros antivenenos, ao verificar que o soro do animal imunizado contra o veneno da jararaca não tinha ação sobre o veneno da cascaavel, bem como o soro ativo contra o veneno crotálico se mostrou inócuo sobre o veneno botrópico (Brazil, 1901a, 1901b).

Atualmente o soro antiveneno ofídico é obtido de cavalos imunizados contra o antígeno correspondente – o veneno. Depois de aplicado algumas doses, a concentração de anticorpos é grande e o animal é sangrado. As hemácias são colocadas para decantar, o soro é retirado e as hemácias devolvidas ao cavalo, para o animal não ficar anêmico. A fração de imunoglobulinas é precipitada com sulfato de amônia e depois tratada com pepsina para digerir as proteínas e remover o segmento *Fc* das moléculas de anticorpo; estas neutralizam o veneno.

A Composição Bioquímica dos Venenos Ofídicos

- Crotoxina, bothropotoxina e bradicinina

Desde os trabalhos pioneiros de Vital Brazil (e.g. Brazil, 1901, 1902, 1904a, 1904b, 1918, 1927; Brazil, 2003), evoluíram os estudos sobre a composição bioquímica dos venenos, como os de Dionysio Klobusitzky, realizados no Instituto Butantan em 1935, onde ele descreveu um método de purificação para isolamento do princípio ativo do veneno de *B.jararaca*, o qual denominou "*bothropotoxina*", comparando suas propriedades tóxicas com a "*ophiotoxina*" e a "*crotalotoxina*", citando os trabalhos de E.S.Faust publicados em 1907 e 1911 (Klobusitzky, 1935). Importante também para a história da toxinologia foi o estudo de Slotta & Fraenkel-Conrat (1939), no qual eles relatam a purificação e cristalização da "*crotoxina*", principal componente tóxico de várias espécies de *Crotalus*, responsável pelas ações neurotóxicas e miotóxicas do veneno crotálico.

Outra pesquisa que abriu vários caminhos na toxinologia foi realizada por Rocha e Silva, Beraldo & Rosenfeld no final da década de 1940, com implicações

terapêuticas até hoje na utilização do veneno de *B.jararaca* como agente anti-hipertensivo. Mauricio Rocha e Silva (1910-1983) e colaboradores, em estudos realizados na Faculdade de Medicina da USP em Ribeirão Preto, descobriram a “*bradiginina*”, um polipeptídeo de natureza endógena liberada no plasma, através da ação enzimática do veneno, por um precursor protéico – o bradigininogênio. As principais ações farmacológicas da bradiginina incluem a estimulação da musculatura lisa, vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e dor. A bradiginina libera cininogenases que interferem no mecanismo das cininas no sangue; a atividade das cininas sob a ação do veneno de serpentes rapidamente inativa a bradiginina, devido à ação proteolítica do veneno. Os estudos de Rocha e Silva e seus colegas foram continuados por Sérgio Henrique Ferreira, o qual foi seu aluno e em cuja tese de doutorado, em 1964, ele isolou um princípio ativo do veneno de *B.jararaca* capaz de intensificar a resposta à bradiginina. Este fator potenciador da bradiginina é composto por polipeptídeos, os quais atuam inibindo as cininas e a conversão da angiotensina-A em angiotensina-B. A descoberta serviu de modelo molecular para a produção de medicamento anti-hipertensivo, que é industrializado e largamente utilizado (Rocha e Silva, Beraldo & Rosenfeld, 1950; Ferreira, 1965, 1966; Ferreira & Silva, 1962, 1965; Amorim *et al.*, 1967).

- Botroxina, crotamina, convulxina e miotoxina

Em 1976 Stocker & Barlow descreveram a “*botroxina*”, uma enzima tipo trombina isolada do veneno de *B. atrox*, a qual afeta a coagulação sanguínea (mas ver também Klobusitzky, 1935). Mandelbaum e colegas, em 1976, contribuíram para identificar as proteínas responsáveis pelos efeitos hemorrágicos locais e sistêmicos de serpentes da família Viperidae. Chang e Tseng descreveram em 1978 os efeitos da “*crotamina*”, peptídeo básico isolado de *C. durissus terrificus*, o qual ativa os canais de sódio dependentes da voltagem, induzindo à despolarização

que culmina na contração muscular. Outra substância do veneno da cascavel é a “*convulxina*”, isolado em 1981 por Prado-Franceschi e Vital Brazil, a qual atribuíram ação convulsivante, mas Francischetti e colegas, em 1998, também isolaram a “*convulxina*” do veneno de *C. durissus terrificus* e a caracterizaram como um potente agente agregador de plaquetas e não como uma substância convulsivante (ver sobre “*convulxina*”: Francischetti, Carlini & Guimaraes, 1998, Francischetti *et al.*, 2000a, 2000b; Lagrue *et al.* 1999 e Zingali *et al.*, 1988, 1990). Com relação às miotoxinas, Lomonte *et al* (1990) isolaram três miotoxinas de *Bothrops* – duas do veneno de *B. moojeni* e uma do veneno de *B. atrox* –, e descreveram a composição química e atividades biológicas destes venenos.

- Metaloproteínas hemorrágicas

Em 1983, H. Hofmann, C. Dumarey e C. Bon identificaram metaloproteínas que ativam os fatores X e II da cascata de coagulação. O primeiro fator hemorrágico do veneno de *Bothrops neuwiedi* foi obtido por Mandelbaum, Assakura & Reichl (1984), os quais isolaram duas proteínas ácidas do veneno de *B. neuwiedi* (jararaca pintada), denominadas fatores hemorrágicos *neuwiedi* NHFa e NHFb. O fator NHFb apresentou atividade hemorrágica vinte e três vezes maior do que NHFa; mas o segundo foi mais ativo em relação à atividade proteolítica sobre caseína. Com relação às metaloproteínas isoladas na última década do século XX, Paine *et al* (1992) purificaram, seqüenciaram e clonaram pela primeira vez a “*jararagina*”, uma metaloproteína hemorrágica presente no veneno de *B. jararaca*. Em 1993, R.B. Zingali e colaboradores isolaram um componente inibidor de trombina, “*botrojaracina*” do veneno de *B. jararaca*. Borkow, Gutiérrez & Ovadia (1993) isolaram e caracterizaram três hemorraginas do veneno de *B. asper*, as quais foram denominadas BaH1, BH2 e BH3. As doses mínimas hemorrágicas destas hemorraginas foram 0.18mg, 2.0mg e 16.6mg, respectivamente. A atividade hemorrágica dos três fatores foi inibida pelo

EDTA (ácido etilenodiaminotetracético).

Lomonte *et al.* (1994) investigaram “*in vitro*” os efeitos da metaloproteína hemorrágica BaH-1 do veneno de *B. asper* nas células endoteliais de capilares e não relataram efeito citotóxico direto no endotélio capilar. Kamiguti *et al.* (1996) discutiram o mecanismo de ação da principal metaloproteína hemorrágica do veneno de *B. jararaca*, a “*jararagina*”, nas plaquetas e proteínas do plasma envolvidas na homeostase. Eles sugeriram que metaloproteínas hemorrágicas além de causarem sangramento local, podem também contribuir para a hemorragia sistêmica. Outra substância isolada de veneno botrópico (*B. alternatus*) foi a “*botroalternina*”, inibidor de trombina que forma um complexo equimolar não-covalente com a “*botrojaracina*” (Castro *et al.*, 1998).

Em 1989, Andrews e colegas descreveram dois peptídeos do veneno de viperídeos, que induzem agregação plaquetária – “*botroacetina*” e “*aspercetina*”. Gené *et al.* (1989), conseguiram um antiveneno polivalente com a mistura dos venenos de *B. asper*, *L. muta* e *Crotalus durissus durissus*; que foi capaz de neutralizar as atividades coagulantes, desfibrinolíticas, fibrinolíticas e fibrinogenolíticas das serpentes que estudou.

Gutiérrez & Rucavado (2000) propuseram uma hipótese para explicar o mecanismo “*per rexis*” de ação das metaloproteínas hemorrágicas de venenos de serpentes da família Viperidae: os eritrócitos atravessariam os vasos sanguíneos através de células endoteliais rompidas. Apesar da hipótese de Gutiérrez e Rucavado ter suporte bioquímico e ultraestrutural, os autores não descreveram como ocorrem as alterações na lâmina basal da lesão endotelial. Os estudos de Gonçalves & Mariano (2000) forneceram parte das respostas. Eles estudaram as alterações morfológicas induzidas pelo veneno de *B. jararaca* (via subcutânea) em ratos e a mediação da hemorragia local, comparando-a com a mediação do edema de pata de rato. Os resultados deste estudo mostraram desorganização das fibras colágenas perivasculares e perineurais,

degranulação de mastócitos, além de alterações vasculares, como congestão e hemorragia. A hemorragia ocorreu por diapedese, fenômeno no qual os eritrócitos atravessam o vaso sanguíneo através da abertura de junções endoteliais. A hemorragia local foi parcialmente controlada pela serotonina e por mediadores neuro-humorais. Os produtos do metabolismo do ácido araquidônico, principais mediadores do edema induzido pelo veneno de *B. jararaca*, não participaram como mediadores da ação hemorrágica local.

Isla, Malaga & Yarlequé (2003) caracterizaram a hemorragina isolada do veneno de *B. brazili*, relatando a presença de hexosas, hexosamina e ácido siálico. Neste estudo, eles também verificaram que o soro polivalente (antiveneno crotálico mais botrópico) reconhecia a fração hemorrágica do veneno e inibia a ação do veneno bruto, mas não da hemorragina purificada.

A revisão de Gutiérrez (2002) é fundamental para qualquer estudo sobre composição bioquímica dos venenos ofídicos e mecanismo de ação das toxinas dos venenos de serpentes da América do Sul. Gutiérrez descreveu as neurotoxinas dos venenos, as proteínas que afetam a coagulação sanguínea, as inflamações e necroses musculares induzidas por toxinas dos venenos, as metaloproteínas e fosfolipases. Além disso, analisou criteriosamente os estudos sobre as novas terapias antiofídicas e estudos clínicos para compreensão da fisiopatologia dos envenenamentos ofídicos; analisando também o desenvolvimento de novas tecnologias para a melhoria da qualidade dos antivenenos produzidos nas instituições sul-americanas.

Determinação das atividades dos venenos ofídicos

Os estudos toxinológicos exigem a realização de experimentos manipulativos que possam ser verificados; a verificação é feita através da utilização de métodos quantitativos. Neste contexto dois trabalhos realizados nas décadas 1960-70 foram

relevantes. O primeiro foi o de Kondo *et al.* (1960), cujo método é até hoje utilizado como referência. Partindo do princípio que a hemorragia é o efeito sistêmico mais importante causado por envenenamentos de viperídeas, eles propuseram um método quantitativo para determinar a atividade hemorrágica dos venenos. Kondo e colegas definiram a dose mínima hemorrágica como sendo a menor quantidade de veneno capaz de produzir uma lesão de 10 mm de diâmetro, após injeção cutânea em coelhos. Eles também analisaram curvas log-dose para verificar as relações existentes entre as dosagem e respostas: encontraram para cada preparação respostas lineares e paralelas, com manchas variando entre 10 a 18 milímetros de diâmetro.

A técnica de Kondo e colaboradores foi modificada por Ownby, Colberg e Odel em 1984 e por Gutiérrez *et al.* (1985) para ser utilizada em camundongos. Gutiérrez *et al.* (1990) discutiram os métodos utilizados para estudo das atividades tóxicas dos venenos de serpentes da Costa Rica. Eles estudaram as ações hemorrágicas, edematogênicas, miotóxicas, necrosantes, coagulantes, a ação letal e os efeitos desfibrinante e enzimático dos venenos, propondo a substituição do método “*in vivo*” pela técnica “*in vitro*” para estudar os antivenenos.

Outro trabalho relevante referente aos métodos quantitativos utilizados na pesquisa sobre venenos de serpentes, foi o de Villarroel (1977), sobre probites, animais experimentais e dose mínima necrosante. A metodologia desenvolvida por Vital Brazil utilizava pombos para determinar a toxicidade de venenos botrópicos e Villarroel propôs a utilização de camundongos como modelo animal para determinação da DL₅₀ (unidade tóxica de veneno definida como a quantidade de veneno capaz de em 48 horas provocar a morte de 50% dos animais inoculados). Seu método utiliza a via intraperitoneal em camundongos para dosar antivenenos botrópicos. Ele verificou “*in vivo*” a soroneutralização cruzada, utilizando antivenenos de *B. jararaca*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi*, para neutralizar os venenos de *B. jararaca*, *B. alternatus*, *B. cotiara*,

B. neuwiedi, *B. pradoi*, *B. jararacussu* e *B. moojeni*. Villarroel definiu e determinou pela primeira vez a dose mínima necrosante (menor quantidade de veneno necessária para provocar uma área de necrose de 0.6 a 0.8mm², durante 72 horas de observação) de venenos botrópicos, bem como a quantidade necessária de antiveneno específico para impedir a ação local dessa dose mínima após a aplicação de veneno necrosante.

Como aplicação destes métodos quantitativos, Furtado, Colletto & Dias da Silva (1991a) realizaram um elegante trabalho sobre venenos de serpentes, envolvendo, entre outras análises, as determinações das doses mínimas hemorrágicas e DL₅₀. A pesquisa de Furtado e colaboradores utilizou um método que se tornou referência na pesquisa e na rotina do controle de qualidade na produção de antivenenos do Instituto Butantan. Eles padronizaram os métodos de ensaios para determinar as atividades dos venenos de várias espécies de *Bothrops* e *Crotalus*: i) determinaram a DL₅₀ em camundongos, ii) padronizaram os métodos para verificar atividades promotoras da coagulação do fibrinogênio e do plasma e atividades indutoras da hemorragia, necrose, edema e atividades caseinolíticas. A importância do trabalho de Furtado e colaboradores está em que pela primeira vez no Brasil foram analisadas comparativamente amostras de veneno liofilizado e seco a vácuo, como era tradicionalmente preparado no Instituto Butantan. As amostras não apresentaram diferenças entre as variáveis estudadas, o que permitiu a adoção do processo de liofilização para a preparação da secagem dos venenos ofídicos.

Ações dos venenos ofídicos

Dentre os vários componentes dos venenos de serpentes (ânions e cátions, aminoácidos livres e peptídeos, nucleotídeos e nucleosídeos, lipídeos, carboidratos, amins biogênicas e proteínas) três componentes são de extrema importância nos envenenamentos: i) as enzimas, tais como a fosfolipase A₂, proteases, enzimas proteolíticas, cininogenase (liberadora da bradicinina), enzimas procoagulantes,

fibrinogenolíticas e fibrinolíticas, ii) as proteínas e polipeptídeos não enzimáticos, como as neurotoxinas (pré e pós-sinápticas), cardiotoxinas capazes de provocar parada cardíaca e mionecrose, miotoxinas, responsáveis pelos eventos que levam à necrose muscular, iii) as hemorraginas, que são metaloproteínas dependentes de cátions bivalentes, como Ca^{++} , Mg^{++} e Zn^{++} , cujas ações são inibidas pelo EDTA (Bolaños, 1984; Kamiguti *et al.*, 1996; Borkow, Gutiérrez & Ovadia, 1993).

A função biológica dos venenos das serpentes é imobilizar e matar a presa, bem como auxiliar na digestão. Depois de inoculados os venenos podem ter efeitos locais e sistêmicos, que acometem tanto a região da picada (e.g., dor, edema, necrose, equimose) quanto os tecidos e órgãos à distância (e.g., coagulação sangüínea, neurológicos, musculares e cardíacos), como o veneno botrópico e laquétrico, ou apenas efeitos sistêmicos predominantes, como os venenos crotálico e elapídico; sobre os venenos dos colubrídeos existem poucos trabalhos (Brasil, 1999; Melgarejo 2003; Mackesy, 2002; Prado-Franceschi & Hyslop, 2002).

A miotoxicidade do veneno botrópico é um efeito local causado por miotoxinas. As Miotoxinas são proteínas com estrutura de fosfolipase A_2 da classe II, que atuam nas células musculares causando necrose no tecido muscular (mionecrose). As miotoxinas podem ser caracterizadas em dois grupos, de acordo com o grupamento protéico: i) as que apresentam lisina no resíduo 49 (Lis49), ii) ou aspartato (Asp49). Ambas atuam diretamente na membrana plasmática das células musculares, originando um fluxo de cálcio no citosol, o qual induz a uma série de eventos degenerativos que causam lesões celulares irreversíveis. A primeira miotoxina do veneno de *Bothrops* foi isolada em 1984 por Gutiérrez e colaboradores, utilizando o veneno de *B. asper* (Gutiérrez, Ownby & Odell, 1984). Alguns anos depois, Lomonte *et al.* (1990) isolaram três miotoxinas de *Bothrops*, duas do veneno de *B. moojeni* e uma de *B. atrox*, e descreveram a composição química e atividades biológicas destes venenos.

O principal efeito sistêmico do veneno botrópico deve-se principalmente à ação coagulante do veneno, que ativa o fator X e a protrombina, isolada ou simultaneamente. O veneno botrópico possui também ação semelhante à trombina, convertendo o fibrinogênio em fibrina, formando coágulos de fibrinogênio. Como o fibrinogênio é um fator de coagulação sangüínea, estas ações induzem as deficiências na coagulação do sangue. A insuficiência renal aguda pode ser causada pelos microcoágulos de fibrina nos capilares, desidratação e hipotensão arterial devido à ação da bradicinina. O choque nos casos graves de envenenamento botrópico é decorrente da liberação de substâncias vasoativas, do aumento do líquido na área edemaciada e perda de líquido por hemorragias (Meaume, 1966; Brasil, 1999, França & Málaque, 2003).

O veneno laquétrico apresenta basicamente as ações locais e sistêmicas semelhantes ao botrópico. A ação local é devida ao efeito proteolítico do veneno, que produz lesão tecidual devido às proteases e metaloproteinases, que causa também inflamação local. A ação sistêmica manifesta-se pelo efeito coagulante, que tem a interferência da fração do veneno com atividade semelhante à trombina; e a ação hemorrágica pode estar relacionada com a fosfolipase A_2 , que tem atividade inibidora da ativação plaquetária e efeito miotóxico (Silva, Diniz & Magalhães, 1985; Aguiar *et al.*, 1996; Malaque & França; 2003).

O veneno crotálico tem principalmente ação sistêmica com três efeitos: neurotóxico, miotóxico e coagulante. O efeito neurotóxico é produzido pela crotoxina, uma neurotoxina que age na junção pré-sináptica, interferindo nas terminações nervosas motoras através da inibição da liberação de acetilcolina pelos impulsos nervosos. Este processo causa bloqueio neuromuscular e parada respiratória. O efeito miotóxico do veneno crotálico pode ser devido à crotoxina e à crotamina, produzindo lesões nas fibras musculares esqueléticas, liberando enzimas e mioglobina, as quais são excretadas pela urina. O efeito coagulante é semelhante ao do veneno botrópico, o veneno

crotálico também tem componentes do tipo trombina, interferindo no tempo de coagulação ao converter o fibrinogênio em fibrina, levando à incoagulabilidade do sangue (Brasil, 1999; Azevedo-Marques, Hering & Cupo, 2003).

Uma boa revisão sobre as ações dos venenos de serpentes e os agentes modificadores da coagulação sanguínea, foi feita por Meaume (1966). Ele discutiu a ação de venenos de serpentes das famílias Hydrophiidae, Elapidae, Crotalidae e Viperidae sobre a coagulação do sangue, ressaltando o papel das fibrinas e trombinas. Mais recentemente a revisão de Gutiérrez (2003) é indispensável para atualizações sobre venenos ofídicos.

O veneno elapídico tam ação predominantemente sistêmica, como o crotálico, com efeitos neurotóxicos e miotóxicos. O efeito neurotóxico é devido à atuação de toxinas do veneno das corais nos mecanismos pré-sinápticos, que inibem a liberação da acetilcolina, efeito verificado em *Micrurus corallinus*. Também apresentam ações pós-sinápticas devido à atuação das toxinas que competem com a acetilcolina pelos receptores colinérgicos da junção neuromuscular, semelhante ao efeito do curare, como observado em *M. frontalis* (Brasil, 1999; Silva Júnior & Bucarechi, 2003; Lomonte, Tarkowski & Hanson, 1993).

Sobre as ações do veneno no músculo esquelético, Lomonte, Tarkowski & Hanson (1993) desenvolveram uma técnica para estimar a atividade metabólica do músculo esquelético após mionecrose induzida pelo veneno da cobra-coral da América Central *Micrurus nigrocinctus*; a técnica foi comparada com outros métodos utilizados como referência. Eles investigaram também a neutralização da ação miotóxica desse veneno pelo seu antiveneno através deste novo método, concluindo que a atividade miotóxica foi neutralizada pelo antiveneno.

Dentre as ações dos venenos das colubrídeas, merece atenção as espécies do gênero *Phyllodryas*, dentre as quais são relatados que o veneno de *olfersii* tem atividades locais edematogênicas, fibrinogenolítica

e fibrinolítica. As frações coagulantes, pró-coagulantes, fosfolipases e fator agregador de plaquetas parecem estar ausentes no veneno de *olfersii*, mas apresenta hemorraginas e atividade miotóxica (Assakura *et al.*, 1992; Assakura Reichl & Mandelbaum, 1994; Prado-Franceschi *et al.*, 1998).

Mecanismo de ação dos venenos ofídicos

Um bom trabalho sobre o mecanismo de ação dos venenos ofídicos, com citações da literatura farmacológica, é o de Trebien & Calixto (1989), que utilizaram o modelo de edema de pata-de-rato induzido pelo veneno de *B. jararaca*. Eles concluíram que o edema foi mediado pela ativação de adrenoreceptores (α_1 e α_2) e, principalmente, por produtos da ciclooxigenase e lipoxigenase.

Chacur *et al.* (2001) investigaram em ratos a hiperalgesia causada pelo veneno de *B. asper*; os mediadores químicos envolvidos no fenômeno e uma possível associação entre hiperalgesia e edema, ambas induzidas pelo veneno. Eles concluíram que a hiperalgesia induzida experimentalmente pelo veneno de *B. asper* foi parcialmente mediado pela bradicinina, fosfolipase A₂ e leucotrienes, diferentemente da mediação do edema induzido por este veneno.

Os antivenenos ofídicos

O único método comprovadamente eficaz no tratamento dos envenenamentos humanos por serpentes é a utilização dos antivenenos ofídicos. O método para obtenção destes antivenenos é um processo lento, pois envolve várias etapas de produção. Os venenos coletados de serpentes saudáveis, identificadas até espécie, são liofilizados e armazenados a -20°C . Conforme o antiveneno a ser produzido, venenos de diferentes espécies são inoculados em cavalos em um esquema básico de imunização, que compreende nove injeções subcutâneas de 5 mg de veneno em 10 mL, a cada 7 dias. Na primeira imunização é utilizado coadjuvante de Freund completo, uma com Freund incompleto e as

sete restantes com 2% de hidróxido de alumínio. É feita uma sangria de prova avaliando as quantidades de anticorpos produzidos e, estando os títulos satisfatórios, os cavalos são sangrados e o plasma separado. Os antivenenos são basicamente frações de imunoglobulinas tratadas com pepsina (Raw & Sant'Anna., 2002).

No Brasil são produzidos antivenenos para neutralizar os venenos dos quatros principais gêneros de serpentes causadoras de acidentes.

- Antielapídico: antiveneno capaz de neutralizar os venenos de serpentes do gênero *Micrurus* (corais). Os antígenos utilizados na imunização são os venenos de *M. corallinus* e *M. frontalis*, em iguais quantidades.

- Antilaquéico: antiveneno capaz de neutralizar o veneno de serpentes *Lachesis* (surucucu). O antígeno é o veneno de *L. muta*.

- Anticrotálico: antiveneno capaz de neutralizar os venenos de serpentes do gênero *Crotalus* (cascavéis). Os antígenos utilizados na imunização são os venenos de *Crotalus durissus terrificus* e *C. d. collilineatus*, em iguais quantidades.

- Antibotrópico: antiveneno que neutraliza os venenos de serpentes do gênero *Bothrops*. O antígeno é composto por uma mistura de venenos de *B. jararaca* (50%), *B. moojeni*, *B. neuwiedi*, *B. alternatus* e *B. jararacussu* em iguais proporções.

- Botrópico-crotálico: antiveneno produzido porque as serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* são responsáveis pela maioria dos acidentes no Brasil.

- Botrópico-laquéico: antiveneno produzido devido às semelhanças entre as sintomatologias clínicas dos envenenamentos por *Lachesis* e *Bothrops*. Estas espécies são simpátricas e às vezes os acidentes podem ser confundidos, principalmente na região amazônica.

Com relação ao uso combinado de antivenenos, Santos *et al.* (1992) compararam a eficácia do antiveneno botrópico e antiveneno botrópico-crotálico na neutralização das atividades hemorrágicas, coagulantes, miotóxicas e da ação letal do veneno de

B. jararacussu. Os dois antivenenos neutralizaram de maneira semelhante a atividade hemorrágica, mas o antiveneno botrópico-crotálico foi mais potente em neutralizar a letalidade e as ações coagulante e miotóxica desse veneno. Eles sugeriram a utilização do antiveneno botrópico-crotálico no tratamento de pacientes picados por *B. jararacussu*.

Nas formações abertas de Roraima, localmente conhecidas como lavrado, e ao sul da Venezuela ocorrem populações de *Crotalus durissus ruruima* que apresentam dois tipos de venenos, “branco” e “amarelo”. O veneno tipo “branco” tem características parecidas com o de *Crotalus durissus terrificus* – são miotóxicos de ação sistêmica, neurotóxicos e coagulantes. Já o veneno tipo “amarelo”, além destas atividades, tem também ação hemorrágica local. Por isso, a neutralização destas atividades é mais efetiva quando se utiliza o antiveneno botrópico-crotálico (Santos *et al.*, 1996).

Os relatos de Borkow, Gutiérrez & Ovadia (1997a) sobre a neutralização de atividades hemorrágicas por envenenamentos ofídicos são muito bons. Eles testaram a capacidade de vários soros antivenenos (e inibidores sintéticos) em neutralizar a atividade hemorrágica causada pelo veneno de *B. asper*. Em outro estudo (1997b) eles selecionaram os seis melhores compostos anti-hemorrágicos e testaram em camundongos para verificar a capacidade dos compostos em neutralizar a ação letal e as atividades proteolíticas e hemorrágicas “*in vitro*” de cobras da subfamília Crotalinae (Viperidae). Além disso, eles testaram também uma mistura constituída por antiveneno polivalente produzido em cavalos, o antídoto “natural” isolado do soro de *B. asper* frente à atividade hemorrágica desse veneno, obtendo total neutralização deste efeito.

Possível imunidade natural

Alguns animais parecem ter alguma imunidade natural ao veneno de serpentes. Rodrigues, Ferreira-Alves & Diniz (1988) analisaram as atividades

hemorrágicas e necrosantes dos venenos de *B. jararaca* e *C. durissus terrificus* e testaram um antiveneno utilizando soro de gambás, *Didelphis albiventris*. Eles verificaram que o soro aumentou a sobrevivência dos animais e inibiu as lesões hemorrágicas induzidas pelo veneno. Outro estudo sobre a possibilidade de imunização natural foi desenvolvido por Neves-Ferreira *et al.* (1997), que caracterizaram as propriedades de inibição do complexo anti-botrópico do soro de *Didelphis marsupialis* testado contra o veneno de *B. jararaca*. O complexo anti-botrópico isolado do soro do gambá foi seis vezes mais eficaz em inibir a atividade hemorrágica deste veneno do que o antiveneno comercial.

Variações dos venenos de serpentes

Algumas pesquisas relatam variações dos venenos entre indivíduos da mesma população. Lomonte *et al.* (1983) estudaram as variações ontogênicas do veneno de *C. durissus durissus*, utilizando indivíduos adultos e recém-nascidos. Eles verificaram a ação letal e as atividades proteolíticas, hemolíticas, hemorrágicas, mionecróticas e edematogênicas. O veneno dos recém-nascidos possui características bioquímicas diferentes dos adultos. Foi notável a alta letalidade dos venenos de recém-nascidos. As análises imunoeletroforética e eletroforética mostraram que existem variações quantitativas e qualitativas na composição dos venenos. Já a atividade hemorrágica aumentou com a idade e os recém-nascidos não produzem hemorragia. Com relação à atividade proteolítica, esta foi maior nos adultos.

Furtado *et al.* (1991b) compararam os venenos de nove espécies de *Bothrops* (*alternatus*, *cotiara*, *erythromelas*, *jararaca*, *jararacussu*, *moojeni*, *neuwiedi*, *neuwiedi paranaensis*, *neuwiedi pauloensis* e *neuwiedi urutu*), obtidos de fêmeas adultas e suas proles. Eles estudaram as atividades proteolíticas, coagulantes e a ação letal destes venenos, além de determinarem o conteúdo protéico e o padrão

eletroforético dos mesmos. Furtado e colaboradores concluíram que: i) as ações da trombina, toxicidade e atividades amidolítica/fibrinolítica variaram com relação ao tamanho dos indivíduos, ii) *B. neuwiedi paranaensis* e *B. neuwiedi pauloensis* possuem as atividades mais tóxicas, iii) a atividade caseinolítica de todos os venenos das fêmeas e as atividades pró-coagulantes dos jovens foram altas, iv) o veneno dos filhotes e fêmeas adultas de *B. erythromelas* não mostraram atividade amidolítica, mas apresentaram o mais alto nível de atividades do fator X e protrombina, sem a ação da trombina, v) os venenos dos filhotes de *B. cotiara* apresentaram as maiores atividades de trombina, enquanto *B. jararacussu* fêmeas não apresentaram nenhuma atividade pró-coagulante específica, vi) os filhotes das espécies estudadas apresentaram alta atividade pró-coagulante. Conforme observaram Furtado e colegas, as atividades do veneno podem variar entre indivíduos da mesma população e até mesmo a composição do veneno pode variar entre populações da mesma espécie.

Uma boa revisão sobre a variabilidade local e geográfica dos venenos de serpentes foi realizada pelo pesquisador francês Chippaux e colaboradores, cujas variações podem ser atribuídas à sazonalidade reprodutiva, dieta, hábitat, idade e dimorfismo sexual (Chippaux, Williams & White, 1991). Eles enfatizaram a importância de se conhecer esta variabilidade, pois venenos de indivíduos da mesma espécie podem apresentar diferenças na composição do veneno, dependendo da região ecológica onde foram coletados e isto pode ter implicações regionais na eficácia do antiveneno.

As vias de administração do veneno também são fontes de variação quando se estuda a sensibilidade de venenos. Vários trabalhos descrevem as ações dos venenos de serpentes com relação às vias administradas, principalmente para estudar os efeitos hemorrágicos. Bolaños (1984) foi um dos pioneiros nos estudos sobre a toxicidade de venenos de serpentes da Costa Rica, inoculando camundongos

através das vias intraperitoneal e intravenosa; a via intravenosa apresentou maior sensibilidade ao veneno. Kawamura & Sawai (1984) utilizaram o antiveneno de *Naja kaouthia*, do Japão, para mostrar que este era mais eficaz quando administrado pela via intravenosa.

Em recente relato, Rocha & Furtado (2005) estudaram a variação geográfica do veneno de *Bothrops alternatus* através da atividade letal, coagulante sobre o plasma, proteolítica sobre a caseína e miotóxica e padrões eletroforéticos de 61 amostras individuais de veneno contrapostos ao pool da espécie (veneno referência). Elas concluíram que a variação individual prevaleceu nas amostras, não apresentando correlação com as áreas de distribuição geográfica, mas a atividade coagulante das amostras de veneno do nordeste foi menos ativa que na região central da área de distribuição de *B. alternatus*.

Plantas Medicinais e Ofidismo

Os relatos antigos à Idade Média

O conhecimento sobre as plantas medicinais foi adquirido com base nas experiências individuais e repassados pelas gerações através das representações populares. Os textos dos babilônios, assírios e hebreus já traziam as utilizações terapêuticas de preparados com plantas, mas foram os gregos quem sistematizaram o uso de plantas medicinais, através de relatos contidos nas obras de Aristóteles (384-322 a.C.), Hipócrates (460-377a.C.), Teofrasto (370-285 a.C.) e Galeno (129-199 d.C.).

Dentre os relatos antigos sobre a fitoterapia, são relevantes as descrições de Pedanius Dioscórides (século I d.C.), contidas no tratado "*Materia Medica*" com cerca de 600 plantas medicinais conhecidas na época, as descrições do suíço Teophrastus Bombast von Hohenheim, o Paracelso (1493-1541), sobre os usos de plantas e demais preparados, as descrições dos romanos Plínio (61-113 d.C.) e Galeno (130-200 d.C.), as quais contêm diversos preparados de plantas para

tratamento de doenças, traumatismos e outras indicações, mais ou menos como elaborados atualmente (Otero, Fonnegra & Jiménez, 2000; Correa *et al.*, 1997).

Durante a Idade Média houve sensível redução nos relatos sobre uso das plantas com finalidades medicinais. Na segunda metade do século XV e no final do século XVIII ressurgiram estes relatos, com destaque para as idéias de Paracelso, explicadas na *Teoria das Assinaturas*, cujas idéias foram apresentadas no livro *Phytognomonica*, de Giambattista della Porta (1538-1615), publicado em 1588. De acordo com esta *Teoria*, as plantas teriam sinais que orientariam os humanos sobre o poder curativo destas. Por exemplo, poderiam servir como antiofídicas as plantas que apresentassem desenho foliar que lembrasse o zig-zag da locomoção de serpentes ou qualquer outro "sinal" que sugerisse alguma semelhança com cobras. A coloração também poderia ser um "sinal", assim poderiam servir para o sangue as plantas que apresentassem coloração avermelhada nos frutos, flores ou folhas (ver Cormier, 2005).

Uso de plantas antiofídicas no Brasil

Um dos primeiros relatos sobre o uso de plantas brasileiras para inibir as ações de envenenamentos por serpentes, foi feito no século XIX, através das descrições das viagens que os dois naturalistas bávaros Johann Baptist von Spix (1781-1826) e Carl Friedrich Phillip von Martius (1794-1868) empreenderam por diversas regiões brasileiras entre 1817-1820, a convite da arquiduquesa Leopoldina, no contexto cultural da vinda de vários naturalistas ao Brasil. Em 1818, Spix e Martius relataram que no arraial do Rio Verde, Minas Gerais, usava-se uma planta genericamente conhecida como cainca nos envenenamentos por *Bothrops urutu* (Viperidae). Na caatinga e no cerrado cainca é o nome comum que se dão para várias espécies de plantas da família Rubiaceae, também conhecida como cipó-cruz e caninana; na Amazônia é conhecida popularmente como raiz-preta (*Chiococca anguifuga* Mart.) (= *C.*

ebbracata Ruiz & Pav.). Com a morte de Spix, seu fiel amigo Martius prosseguiu o trabalho de catalogar os exemplares coletados por eles e de descrever a flora brasileira em uma coleção de 15 volumes, reunidos na “*Flora Brasiliensis*”, obra clássica publicada em 1882 por Martius, em Munique (Sommer, 1953; Vanzolini, 1996).

Os primeiros livros que descreveram as propriedades curativas das plantas medicinais brasileiras foram “*Ensaio sobre o cinchoeiro e sua influência nas virtudes da quina*”, escrito pelo português Bernardino Antonio Gomes em 1812, e o livro “*Systema de Materia Medica Vegetal Brasileira*”, escrito por Henrique Velloso D’Oliveira, em 1854 (Cardoso, 2003; D’Oliveira, 1854). Gomes cita a planta *Aristolochia* sp como antiofídica e D’Oliveira comenta sobre o uso das plantas conhecidas pelas propriedades medicinais, citando os nomes populares e científicos. Para uso em acidentes ofídicos, D’Oliveira cita a raiz tuberosa da jararaca ou erva-de-santa-maria (*Dracontium polyphyllum* L., Araceae) (= *D. asperum* C.Koch). Interessante é que o uso antiofídico desta planta era recomendado devido à semelhança com a cor “sarapintada” das serpentes, de acordo com a *Teoria das Assinaturas*, de Paracelso.

As demais plantas citadas por D’Oliveira como tendo propriedades antiofídicas foram: *Arisaema phytonium* (= *Zomicarpa phytonium* (Mart.) Schott, Araceae), planta da caatinga cuja raiz os índios utilizavam no local da picada de cobras; cipó-de-jarrinha ou milome *Aristolochia antihysterica* (= *A. triangularis*, Aristolochiaceae), da qual se utilizava a raiz; alecrim-bravo (*Hypericum laxiusculum*, Hypericaceae); *Eupatorium crenatum* (= *Mikania cordifolia*, Asteraceae); orelha-de-onça (*Cissampelos ovalifolia* Chodat & Hassl., Menispermaceae); fruta-de-pombo (*Erythroxylon anguifugum* Erythroxylaceae); erva-mular ou curraleira (*Croton* sp, Euphorbiaceae) e tuiuiá ou abobrinha-do-mato (*Bryonia bonariensis ficifolio*) (= *Cayaponia bonariensis* (Mill.) Mart. Crav., Cucurbitaceae).

D’Oliveira relata no seu livro a análise que Thomé Rodrigues Sobral fez com *Aristolochia* sp (citada *Aristolochia antihysterica*), em Coimbra. Sobral encontrou “um princípio volátil aromático solúvel em álcool, um princípio oleoso resinoso, um amargo análogo ao gentianino, uma porção pequena de mucilagem, cal, potassa e ferro”, combinação que teria ação antiofídica.

Ainda no final do século XIX, o botânico S.S.Schindler publicou no Rio de Janeiro um catálogo das plantas medicinais brasileiras, com descrições das propriedades terapêuticas, usos e doses administradas (Schindler, 1884). Ele relatou o uso de seis espécies de plantas antiofídicas: i) cipó-de-cobra (*Cissampelos glaberrima* St.Hill., Menispermaceae), cuja parte utilizada era a raiz, ii) orelha-de-onça (*C. ebracteata*, Menispermaceae), que também seria a raiz a parte a ser utilizada, iii) guaco (*Mikania guaco* Humb. & Bonpl., Asteraceae), indicado para ser ingerido na forma de suco, iv) erva-de-cobra (*M. opifera*) (= *M. cordifolia* Wild., Asteraceae), também indicada na forma de suco, v) para-tudo (*Gomphrena officinalis*, Amaranthaceae), cuja parte indicada era a raiz, vi) paracari ou hortelã-branco (*Peltodon radicans* Pohl, Labiatae).

Em 1888, Theodoro Peckolt e Gustavo Peckolt, pai e filho, escreveram um livro sobre a história das plantas medicinais no Brasil, no qual constam descrições botânicas, composição química, usos industriais, partes utilizadas e as doses recomendadas nas preparações (Peckolt & Peckolt, 1888). Como antiofídicas eles citaram oito espécies pertencentes a cinco famílias: i) família Isoetaceae, representada por *Isoetes martii* A. Braum, conhecida popularmente como batatinha-d’água; ii) família Ophioglossaceae, representada por *Ophioglossum palmatum* Plum, cujo nome popular é língua-de-víbora, é citada principalmente contra a mordida de “víboras” (lagartos do gênero *Diploglossus*, que no imaginário popular vira cobra), e por *Botrichium virginicum* Swartz, a língua-de-víbora-do-campo, iii) família Zamiaceae, representada por *Zamia brongniartii* Wedd,

popularmente conhecida como salgueiro-da-terra, da qual se utiliza a goma do tronco contra mordidas de cobras, iv) família Commelinaceae, representada por *Tradescantia geniculata* Velloso (= *Gibasis geniculata* (Jacq. Rohweder), conhecida como trapoeiraba-efêmera, v) família Araceae, representada por *Dracontium polyphyllum* L. (= *D. asperum* C. Kock, Araceae), popularmente conhecida como jararaca-mirim, e *Staurostigma luschnathianum* C. Kock, popularmente conhecida como jararaca-do-rio. Na maioria das preparações citadas por Peckolt & Peckolt eles recomendaram também o uso de cachaça com as plantas, cujas infusões deveriam ser bebidas ou aplicadas no local da mordida da cobra. Em 1914, Gustavo Peckolt continuou o estudo sobre a história das plantas medicinais e úteis do Brasil, que ele iniciou com seu pai em 1888. Gustavo descreveu o uso das sementes do araticum (*Annona furfuracea* A.St.-Hill, Anonaceae), cuja mistura com cachaça era indicada como um bom antídoto nos casos de envenenamento por cascavel (Peckolt, 1914).

O brasileiro Manuel Pio Corrêa (1874-1934) foi naturalista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e um dos pioneiros nos estudos sobre plantas medicinais brasileiras. Todas as informações relatadas por Pio Corrêa sobre a utilização das plantas foram reunidas em seis volumes na clássica obra "*Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*", com a colaboração de Leonam de Azeredo Penna. Cada espécie relatada apresenta uma diagnose, nomes populares e informações sobre a utilização como alimento, aplicações industriais e terapêuticas. As plantas citadas no dicionário como antiofídicas são (Brasil, 1984; Pio Corrêa, 1909): a raiz do cipó-de-cobra (*Cissampelus glaberrima* St. Hil, Menispermaceae), citada também por Shindler (1884); a erva-de-jararaca (*Dracontium asperum* C. Kock, Araceae); as folhas de contra-cobra (*Aegiphila salutaris* H.B.K., Verbenaceae); a abutua-miúda (*Cocculus filipendula* M., Menispermaceae); a contra-erva, calunga ou jarrinha (*Aristolochia trilobata*, Aristolochiaceae); a

batatinha-d'água (*Isoetes martii*, Isoetaceae) e o alecrim-bravo (*Hypericum laxiusculum*, Hypericaceae). Estas duas últimas foram também citadas por Peckolt & Peckolt (1888) e D'Oliveira (1854).

Silveira (1921) descreveu o uso da erva-de-botão (*Eclipta alba* Hassk., Compositae) contra picadas de serpentes, planta citada na literatura como antiofídica desde 1882, quando Martius publicou a "*Flora Brasiliensis*". Renato Braga escreveu um clássico trabalho sobre etnobotânica, "*Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará*" (Braga, 1960). Neste livro, ele relatou o uso de plantas indicadas nos casos de envenenamentos por serpentes, como raiz-preta (*Chiococca anguifuga*, Rubiaceae), citada também por Martius em 1818; milho-de-cobra (*Dracontium asperum*, Araceae), também relatada como antiofídica por Pio Corrêa (1909); língua-de-teiú (*Casearia sylvestris* Swartz, Flacurtiaceae); erva-de-cobra (*Mikania cordifolia* Willd, Compositae) e paracari ou hortelã-bravo (*Peltodon radicans* Pohl, Labiatae).

As verificações farmacológicas e bioquímicas de plantas utilizadas como antiofídicas

Na década de 1970 houve um expressivo avanço nos estudos sobre plantas medicinais, principalmente as antiofídicas, mas com uma importante diferença: em vez citar os usos das plantas apenas com base nas representações populares, como ainda hoje ocorre na maioria das publicações (e.g. Pio Corrêa 1909; Vieira, 1992; Caribé & Campos, 1997; Simões et al, 1998; Agra, 1996), os efeitos das plantas começaram a ser verificados biológica, bioquímica e farmacologicamente, através de experimentos controlados. Inicia-se então uma nova fase, com trabalhos cada vez mais voltados para estudos sobre a bioquímica e síntese de produtos naturais das plantas, como por exemplo, a descoberta das cabenegrinas I e II, substâncias isoladas de uma planta supostamente amazônica, que inativaram experimentalmente o veneno de *Bothrops atrox* (Nakagawa et al., 1982).

Neste contexto mais científico, em 1975, Tsai e

colaboradores descreveram a inativação *in vitro* dos venenos de *Trimeresurus gramineus*, *T. mucrosquamatus* e *Agkistrodon acutus* (Viperidae) pelo extrato da raiz de *Aristolochia shimadai* Hay. (Aristolochiaceae). Em 1979, Okonagi e colaboradores isolaram um tanino de *Diospyros kaki* Thunb. (Ebenaceae) e o testaram contra os venenos de *Laticauda semifasciata* (Hidrophiiidae) e *Trimeresurus flavoviridis* (Viperidae), descrevendo o efeito anti-hemorrágico do tanino. Em 1980, Tsai e colegas isolaram dois compostos da fração ativa desta planta: a alantoína e o ácido aristolóquico. Ambos foram eficazes em neutralizar os fatores hemorrágicos dos venenos dos elapídeos *Naja naja atra* e *Bungarus multicinctus*.

A planta cabeça-de-negro e o Específico Pessoa

A literatura cita vários compostos de plantas com supostas ações antiofídicas, porém são poucos os trabalhos que descrevem os possíveis mecanismos de ação dos compostos isolados de plantas. Um trabalho pioneiro (e controverso) sobre plantas que inativam venenos de cobras foi realizado por Nakagawa e colegas em 1982. Eles verificaram a ação antiofídica do extrato hidroalcoólico da raiz de uma planta supostamente amazônica, citada pelo nome popular cabeça-de-negro, mas omitiram a identificação (existem várias espécies de famílias diferentes com este nome popular). Do extrato hidroalcoólico eles isolaram duas substâncias, às quais denominaram cabenegrinas A-I e A-II. O trabalho relata que o extrato inibiu o efeito cardiovascular do veneno de *Bothrops atrox* (Viperidae) em cães e aumentou a sobrevivência dos camundongos envenenados experimentalmente.

É muito ilustrativa a revisão que Martz fez em 1992, sobre os extratos de plantas com potencial de neutralizar as toxinas dos venenos de cobras. Ele relatou o uso de preparações de várias plantas utilizadas nos acidentes ofídicos, como é o caso do famoso preparado “Específico Pessoa”, contra-veneno muito utilizado nas regiões norte e nordeste do Brasil. Este preparado é feito em Sobral, Ceará, com a raiz da planta cabeça-de-

negro, cuja fórmula e identificação da espécie são mantidas em segredo pelos fabricantes. Borges *et al.* (1996) realizaram um estudo com o “Específico Pessoa” para verificar a letalidade e a eficácia deste específico em neutralizar as ações coagulantes, hemorrágicas e fosfolipásicas do veneno de *Bothrops atrox*, concluindo que o produto foi ineficaz em todos os aspectos.

Ações das plantas

Muitas plantas são recomendadas na medicina popular como antiofídicas, mas poucos estudos biológicos foram realizados para investigar a eficácia das plantas em neutralizar as ações dos venenos de serpentes. Um bom trabalho sobre a inibição de veneno ofídico por extrato de plantas é o de Calixto e colaboradores, realizado em 1985. Eles trabalharam com o extrato bruto de *Mandevilla velutina* (Apocynaceae) para verificar a inativação do veneno de *B. jararaca*, utilizando útero isolado de rato, concluindo que o extrato teve ação sobre a bradicinina. Em 1986, D.N. Akinyili & P.I. Akubue isolaram um glicosídeo alcalóide do caule de *Schumanniohyton magnificum* Harms (Rubiaceae). Nos testes experimentais, este composto reduziu a ação letal do veneno de *Naja melanoleuca* (Elapidae) quando administrado um minuto após a inoculação do veneno; o mesmo efeito não ocorreu quando o glicosídeo foi inoculado sessenta minutos após o veneno (Martz, 1992).

Os estudos experimentais de plantas medicinais tiveram um grande avanço com as pesquisas do químico de produtos naturais Walter Mors, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Mors vem trabalhando com várias plantas, em especial *Eclipta prostrata*, depois de ver com sucesso o seu uso como antiofídica na Amazônia. Mors *et al.* (1989) isolaram três substâncias do extrato etanólico de *E. prostrata* (wedelolactona, sitosterol e stigmasterol) e verificaram que as substâncias foram capazes de neutralizar a atividade letal do veneno de *Crotalus durissus terrificus*. Eles testaram também a ação do extrato aquoso da planta

contra a liberação de creatina-cinase no músculo esquelético de ratos expostos ao veneno; o extrato neutralizou, *in vitro*, o efeito miotóxico do veneno.

Em 1992, Martz fez uma revisão sobre os extratos de plantas com potencial em neutralizar as toxinas dos venenos de cobras. Ele relatou também o uso de outros compostos com ação antiofídica isolados de plantas, como o scumaniofosídeo, extraído da *Schumanniphyton magnificum* Harms (Rubiaceae). Nos testes experimentais, este composto reduziu a ação letal do veneno de *Naja melanoleuca* (Elapidae) quando administrado um minuto após a inoculação do veneno; o mesmo efeito não ocorreu quando o glicosídeo foi inoculado sessenta minutos após o veneno. Martz relatou o uso de outros compostos isolados de plantas que neutralizavam a ação hemorrágica dos venenos, tais como: i) a alantoína e o ácido aristolóquico da *Aristolochia shimadai* Hay. (Aristolochiaceae); ambos foram eficazes em neutralizar os fatores hemorrágicos dos venenos dos elapídeos *Naja naja atra* e *Bungarus multicinctus*, ii) o tanino de *Diospyros kaki* Thunb. (Ebenaceae); testado contra os venenos de *Laticauda semifasciata* (Hidrophidae) e *Trimeresurus flavoviridis* (Viperidae), o tanino apresentou efeito anti-hemorrágico, iii) a tripsina-da-soja de *Soya hispida* (Fabaceae), iv) e a wedelolactona da *Eclipta prostrata* L. (Asteraceae). A literatura cita ainda vários compostos como tendo possíveis ações antiofídicas, como triterpenos pentacíclicos, compostos fenólicos, derivados fenilpropanóides e flavonóides, porém sem citar os mecanismos de ação destes compostos.

Em 1994, Melo e colegas verificaram a ação anti-hemorrágica e antimiotóxica de *E. prostrata* sobre o veneno de cobras. Eles isolaram as miotoxinas bothropstoxina, bothropsina e crotovina dos venenos de *B. jararaca*, *B. jararacussu* e *L. muta*, e verificaram a neutralização destas pelo extrato aquoso de *E. prostrata* e por três constituintes isolados desta planta: wedelolactona, stigmasterol e sitosterol. O extrato de *E. prostrata*, e seu principal constituinte, a

wedelolactona, apresentaram efeito antimiotóxico e anti-hemorrágico; os outros dois constituintes foram menos eficazes em neutralizar estas ações.

O estudo preliminar sobre o efeito protetor do (-)-edunol, um pterocarpano isolado de *Brongniartia podalyrioides* (Leguminosae) apresentou efeito contra o veneno de *B. atrox*, reduzindo a mortalidade em camundongos. Estruturalmente o (-)-edunol está relacionado com as (-)-cabenequinas A-I e A-II, substâncias isoladas do extrato hidroalcoólico de uma das espécies de plantas popularmente conhecidas como cabeça-de-negro (Reyes-Chilpa *et al*, 1994).

Alguns compostos, como o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), são capazes de inibir a ação das hemorraginas, possivelmente atraindo íons metálicos (principalmente o zinco) desta proteína, inibindo a sua ação hemorrágica (Isla, Malaga & Yarlequé, 2003). Pereira *et al* (1994) analisaram farmacologicamente as plantas utilizadas como antídotos de venenos de serpentes na medicina popular. Eles isolaram compostos de diferentes plantas que reduziram a letalidade do veneno de *B. jararaca*: i) triterpenos e esteróides de *Periandra mediterrânea* (Vell.) Taub (Fabaceae) e *Apuleia leiocarpa* (Vogt) Macbr (Caesalpiniaceae); ii) derivados do ácido cafeico de *Vernonia condensata* Baker (Compositae) e *Cynara scolymus* L. (Asteraceae); iii) cumarinas de *Mikania glomerata* Spreng (Asteraceae) e de *Dorstenia brasiliensis* Lam. (Moraceae); iv) flavonóides de *Phyllanthus klotzschianus* M. Arg (Euphorbiaceae), *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Rutaceae), *Apuleia leiocarpa* e *Derris sericea* (H.B.K.) Ducke (Fabaceae); v) lignoflavanóides de *Silybum marianum* Gaertn. (Compositae); vi) cumestanos de *E. prostrata*, vii) saponinas de *Bredemeyera floribunda* Willd (Polygalaceae). Pereira e colaboradores sugerem que algumas substâncias, como o ácido aristolóquico da planta *Aristolochia* sp, podem inibir as ações do veneno de *B. jararaca*, através da inibição da fosfolipase (PLA₂) do veneno. Esta enzima formaria um complexo 1:1 com o ácido aristolóquico, porém não

inibe totalmente as ações do veneno. Martz (1992) relata também que o ácido aristolóquico inibe parcialmente o veneno de *Trimeresurus flavoviridis* (Viperidae), concluindo pela mesma ação do ácido com a fosfolipase.

Batina, Giglio & Sampaio (1997) também estudaram a neutralização da ação letal do veneno de *C. durissus terrificus* por extratos de plantas. Eles utilizaram o extrato aquoso da casca de *Peschiera fuchsiaefolia* (Apocynaceae) e inocularam o veneno por via intramuscular, relatando a neutralização do efeito letal do veneno pelo extrato de *P. fuchsiaefolia*.

Castro *et al.* (1999) verificaram uma possível neutralização da atividade hemorrágica induzida pelo veneno de *B. asper* por 48 espécies de plantas da Costa Rica. O método utilizado para verificar a atividade hemorrágica do veneno foi a técnica descrita por Kondo e colegas (1960) e modificada por Gutiérrez *et al.* (1985). Castro e colegas também analisaram a composição química dos extratos que apresentaram ação anti-hemorrágica utilizando o veneno de *B. asper*: i) *Phoebe brenessii* (Lauraceae), ii) *Clussia palmana* e *C. torressii* (Clusiaceae), iii) *Pimenta dióica* (Myrtaceae), iv) *Bursera simaruba* (Burseraceae), v) *Croton draco* (Euphorbiaceae), vi) *Sapindus saponaria* (Sapindaceae), vii) *Persea americana* (Lauraceae), (viii) *Smilax cuculmeca* (Smilacaceae) e ix) *Virola koschnyi* (Myristicaceae). Eles relatam a presença de flavonóides, antocianinas, protocianinas e taninos nas plantas, concluindo que estes compostos poderiam ter sido os responsáveis pela inibição da hemorragia local.

Um excelente estudo sobre plantas da Colombia utilizadas como antiofídicas foi realizado pela equipe de ofidismo da Universidade de Antioquia e Chocó, coordenado por Rafael Otero Patiño. Deste trabalho resultou o livro “*Plantas utilizadas contra mordeduras de serpientes em Antioquia y Chocó, Colombia*”, o qual contém informações sobre o uso de 85 espécies vegetais relatadas como antiofídicas por curandeiros e xamãs (Otero, Fonnegra & Jiménez, 2000). Eles também

estudaram a neutralização do efeito hemorrágico do veneno de *B. atrox* por 75 extratos de plantas da região da Colombia; 12 neutralizaram *in vitro* o efeito hemorrágico do veneno: i) *Brownea rosademonte* Berg (Caesalpiniaceae), ii) *Pleopeltis percussa* (Cav.) Hook & Grev. (Polypodiaceae), iii) *Heliconia curtispatha* Petersen (Heliconiaceae), iv) *Bixa orellana* L. (Bixaceae), v) *Trichomanes elegans* L.C. Rich (Hymenophyllaceae), vi) *Citrus limon* (L.) Burm. f. (Rutaceae), vii) *Ficus nymphaeifolia* Miller (Moraceae), ix) *Struthanthus orbiculares* (H.B.K.) Blume (Loranthaceae), x) *Gonzalagunia panamensis* (Cav.) Schumm (Rubiaceae), xi) *Tabebuia rosea* (Ber Told.) DC. (Bignoniaceae) e xii) *Sena dariensis* (Br. & R.) I. & B. (Caesalpiniaceae). Nos experimentos *in vivo* realizados por Otero e colegas, apenas os extratos de *Brownea rosademonte*, *Bixa orellana* e *Ficus nymphaeifolia* neutralizaram a hemorragia causada por veneno botrópico. Os extratos de *B. rosademonte* e *Pleopeltis percussa* (Cav.) Hook & Grev. (Polypodiaceae) também inibiram a atividade proteolítica do veneno de *B. atrox*.

Borges *et al.* (2000) verificaram o efeito do extrato aquoso de *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) sobre a letalidade, nas atividades da fosfolipase A₂ (PLA₂) e sobre as atividades coagulante, miotóxica e edematogêncica dos venenos de várias espécies de *Bothrops*. O extrato de *C. sylvestris* inibiu as seguintes ações: i) PLA₂ miotóxicas, classe II, isoladas dos venenos de *B. pirajoi*, *B. neuwiedi* e *B. jararacussu*, ii) a atividade anticoagulante de várias PLA₂, iii) a atividade miotóxica dos venenos de *B. neuwiedi* e *B. jararacussu*, iv) o edema de pata-de-rato, induzido pelo veneno de *B. moojeni* e *B. jararacussu*, bem como inibiu a atividade da miotoxina II isolada de *B. moojeni* e da bothropstoxina I de *B. jararacussu*.

Em outro estudo realizado com o extrato aquoso de *Casearia sylvestris*, Borges *et al.* (2001) verificaram a neutralização de proteases do veneno de várias espécies de *Bothrops*. O extrato desta planta neutralizou a atividade hemorrágica causada pelo veneno de *B.*

asper, *B. jararacussu*, *B. moojeni*, *B. neuwiedi* e *B. pirajai*; além de ter neutralizado as seguintes ações: i) atividade proteolítica sobre a caseína, induzida pelos venenos botrópicos, ii) a degradação da cadeia a-fibrinogênio causada pelo veneno de *B. jararacussu*, iii) e aumentou o tempo de coagulação do plasma induzido pelo veneno de *B. jararacussu*, *B. moojeni* e *B. neuwiedi*.

Nos últimos anos foram publicados vários trabalhos sobre as ações de extratos de plantas capazes de inibir alguns efeitos de venenos de serpentes. Mahanta e Mukherjee (2001) relataram a ação antifídica do extrato de *Mimosa pudica* (Mimosaceae) da Índia. O extrato aquoso da raiz desta mimosácea indiana neutralizou *in vitro* as enzimas tóxicas do veneno de *Naja kauthia* e antagonizou *in vivo* a letalidade e a miotoxicidade deste veneno. Borges *et al.* (2002) realizaram uma análise química parcial de *Musa sp* (Musaceae) e mostraram a presença de açúcar, saponinas e taninos capazes de interagir e neutralizar várias atividades dos venenos de *B. jararacussu* e *C. durissus terrificus*. Foram neutralizadas as ações hemorrágicas, além das atividades PLA₂, miotoxicidade e coagulação do plasma. Esmeraldino *et al.* (2002) relataram a inibição da atividade hemorrágica do veneno de *B. jararaca* por frações (EA2MA e EA2MB) isoladas de *Croton urucuruna* (Euphorbiaceae). Mendes *et al.* (2002) relataram o efeito do extrato aquoso das folhas de *Schizolobium parayba* (Caesalpinoideae) de neutralizar as atividades proteolíticas e PLA₂ do veneno de *B. alternatus*. Silva Júnior *et al.* (2002) verificaram que o extrato aquoso de *Kalonchoe brasiliensis* (Crassulaceae) reduziu a hemorragia e o edema induzido pelo veneno de *B. alternatus*.

Mais recentemente Biondo *et al.* (2003) demonstraram que o extrato aquoso de *Mandevilla velutina* (Apocynaceae) interferia na ação dos venenos de *Crotalus durissus terrificus*, *Bothrops alternatus*, *B. moojeni*, *B. pirajai* e *B. jararacussu*. Eles testaram os “pools” de venenos e várias toxinas isoladas, como as fosfolipases A₂, bothropstoxinas I e II, piratoxinas I

e II e crotoxinas. As atividades enzimáticas e farmacológicas estudadas foram as ações das fosfolipases, miotóxica, edematogênica, hemorrágica, proteolítica sobre fibrinogênio e caseína, coagulante e letal. O extrato aquoso de *M. velutina* inibiu várias classes de toxinas apresentando interações específicas com o veneno de *C.d. terrificus* e toxinas isoladas. Com venenos de *Naja nigricollis* e *Echis ocellatus*, serpentes da Nigéria, Asuzu e Harvey (2003) estudaram a habilidade do extrato metanólico de *Parkia biglobosa* em reduzir os efeitos dos venenos nos modelos experimentais de ação neurotóxica, citotóxica, hemorrágica e toxicidade aguda. O extrato metanólico desta Mimosaceae neutralizou os efeitos neurotóxicos, hemorrágicos e citotóxico dos venenos testados.

Outra planta capaz de inibir o veneno de serpentes é *Casearia mariquitensis* (Flacourtiaceae), comum no Brasil, cujo extrato aquoso estudado por Izidoro *et al.* (2003) mostrou efeito sobre algumas alterações hematológicas e hemostáticas induzidas pelo veneno de *B. neuwiedi pauloensis* e por *neuwiedase*, metaloproteína isolada deste veneno. Eles estudaram as alterações nos elementos figurados do sangue, a concentração de fibrinogênio no plasma, a atividade proteolítica sobre o fibrinogênio, ação coagulante e algumas alterações sistêmicas. Esta planta neutralizou o efeito hematológico do veneno, inibiu a redução do fibrinogênio no plasma, inibiu a degradação da cadeia b de fibrinogênio, prolongou levemente o tempo de coagulação sanguínea e inibiu totalmente a hemorragia pulmonar induzida por *neuwiedase*.

A planta *Eclipta prostrata*, estudada por Mors e colaboradores, vem demonstrando ações antifídicas em estudos experimentais desde 1989; mais recentemente Pithayanukul *et al.* (2004) avaliaram o potencial antiveneno do extrato butanólico desta planta, que contém quantidade abundante de dimetilwedelolactona. Eles estudaram as atividades letais, hemorrágicas, proteolíticas e fosfolipase A₂ do veneno de *Calloselasma rhodostoma*, serpente da Malásia e observaram neutralização dos efeitos letais

e hemorrágicos do veneno, mas pouca atividade anti-fosfolipase A₂; a ação proteolítica não foi significativa. Outra planta estudada recentemente foi leiteiro de vaca (*Tabernaemontana catharinensis*, Apocynaceae). Almeida *et al.* (2004) avaliaram a atividade anticrotálica desta planta. Eles fracionaram o extrato, por gel filtração, e uma das frações (PVII), constituída principalmente de alcalóides, neutralizou a atividade letal de 2DL₅₀ do veneno (240mg) e da crotocina (200mg/50ml); embora a fração PVII não tenha inibido a dispnéia e a paralisia da pata do rato, efeito característico da crotamina presente no veneno crotálico, que desapareceu dentro de aproximadamente 48 horas.

Vilar (2004) relata que na caatinga são utilizadas como antiofídicas as cucurbitáceas batata-de-teiu (*Apodanthera villosa*), cabeça-de-negro (*A. glaziovii*) e a euforbiácea pinhão-bravo (*Jatropha mollissima*); no cerrado usam como antiofídica a euforbiácea também conhecida como batata-de-teiu (*Jatropha elliptica*). Ela testou se os extratos aquosos destas plantas poderiam inibir as ações do veneno de *Bothrops jararaca*, através da dose-desafio utilizada para testes de inibição da hemorragia local do veneno pelos extratos. A determinação da dose-desafio foi feita com base na dose mínima hemorrágica, que é a menor quantidade de veneno, em mg, capaz de produzir uma área hemorrágica de 10 mm diâmetro em animais experimentais (Castro *et al.*, 1999; Furtado, Colletto & Dias da Silva, 1991a; Bolaños, 1984). Vilar concluiu que os extratos das plantas da caatinga apresentaram efeito anti-hemorrágico e a batata-de-teiu do cerrado inibiu a ação letal e hemorrágica do veneno. Neste estudo Vilar discute também os constituintes químicos das plantas que atuam inibindo as ações sistêmicas e locais provocadas pelo veneno de serpentes.

Outras plantas popularmente utilizadas como antiofídicas foram analisadas mais recentemente. A serpente *Naja kaouthia* (Elapidae) é o principal agente dos acidentes ofídicos na Tailândia, seu veneno causa necrose no local da picada e as vítimas evoluem para óbito devido à paralisia respiratória. Pithayanukul *et*

al. (2005) relataram que os extratos aquosos das plantas *Pentace burmanica* (Malvaceae), *Phithecellobium dulce* (Mimoseaceae) e *Areca catechu* (Arecaceae) inibem completamente a atividade tóxica e necrotizante deste veneno. O possível mecanismo de neutralização é o bloqueio dos receptores nicotínicos da acetilcolina pelas substâncias contidas no extrato da planta, que também causam precipitação das proteínas dos venenos. Os autores sugerem que a aplicação destes extratos no local da picada pode auxiliar na prevenção da necrose local causada pelo envenenamento de *Naja kaouthia*. Oliveira *et al.* (2005) relataram que o extrato aquoso das partes aéreas de pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*, Leguminosae), planta nativa da Ásia e bem adaptada em várias regiões do Brasil, é capaz de neutralizar a atividade coagulante induzida pelos venenos de *Bothrops jararacussu* e *Crotalus durissus terrificus* de uma serino-protease tipo trombina isolada do veneno de *B. jararacussu*, mas não neutraliza os efeitos das enzimas fosfolipases e hemorrágicas destes venenos.

O macerado da casca da planta pracaxi (*Pentaclethra macroloba*, Leguminosae) é utilizada na amazônia como cataplasma de aplicação local nos acidentes ofídicos. Silva *et al.* (2005) demonstraram que o extrato aquoso desta planta inibe principalmente a atividade hemorrágica dos venenos de *Bothrops* spp e *Lachesis muta*. Ticli *et al.* (2005) relatam que o extrato metanólico de *Cordia verbenacea* (Boraginaceae), conhecida como baleeira, inibe o edema induzido pelo veneno de *B. jararacussu* e suas principais fosfolipases A₂ – Bothropstoxinas I e II. O princípio ativo foi isolado por cromatografia em Sephadex LH-20 e por RP-HPLC e identificado como ácido rosmarínico, com propriedades antiinflamatórias e antimiotóxicas contra o veneno e suas frações. Ticli e colaboradores concluíram que o composto puro potencializa a habilidade do antiveneno comercial equino botrópico-crotálico em neutralizar os efeitos tóxicos letais e miotóxicos.

Veronese e colaboradores (2005) encontraram o

mesmo efeito inibitório da ação miotóxica do veneno de *B. jararacussu* e bothropstoxinas I e II com o extrato aquoso liofilizado da casca da raiz de *Tabernaemontana catharinensis* (Apocynaceae). Núñez *et al.* (2005) isolaram o princípio ativo 4-nerolidylcatechol de folhas de *Piper umbellatum* e *P. pellatum* (Piperaceae), o qual mostrou-se ativo, inibindo as ações tóxicas e edematogênicas dos venenos totais e a ação enzimática de fosfolipases isoladas dos venenos de *Bothrops asper* e *B. atrox*, por possível mecanismo de ação de esterificação dos grupos hidroxí das toxinas.

REFERÊNCIAS

- Agra, M. F., 1996. **Plantas da medicina popular dos cariris velhos**. Editora União. João Pessoa, 125p.
- Aguiar, A.S., C.R. Alves, A. Malgarejo, S.G. Simone, 1996. Purification and partial characterization of a thrombin-like/gyroxin enzyme from bushmaster (*Lachesis muta rhombeata*) venom. **Toxicon** 34(5): 555-565.
- Almeida, L., A.C.O. Cintra, E.L.G. Veronese, A. Nomizo, J.J. Franco, E.C. Arantes, J.R. Giglio & S.V. Sampaio, 2004. Anticrotalic and antitumoral activities of gel filtration fractions of aqueous extract from *Tabernaemontana catharinensis* (Apocynaceae). **Comp. Biochem. Physiol. C** 137(1):19-27.
- Amaral, C.F.S., N.A. Rezende, A.O. Silva, 1986. Insuficiência renal aguda secundária a acidentes ofídicos botrópico e crotálico: Análise de 63 casos. **Rev. Inst. Med. Trop.** 28(4):220-227.
- Amorim, D.S., S.H. Ferreira & J.C. Manço, 1967. potentiation of circulatory effects of gradykinin by a factor contained in the *Bothrops jararaca* venom. **Cardiologia**. 50:23-32.
- Assakura, M.T., M.G. Salomão, G. Puerto & F.R. Mandelbaum, 1992. Hemorrhagic, fibrinolytic and edema-forming activities of the venom of the colubrid snake *Phylodryas olfersii* (green snake). **Toxicon** 30(4):427-438.
- Assakura, M.T., A. Reichl & F.R. Mandelbaum, 1994. Isolation and characterization of five fibrin(ogen)olytic enzymes from the venom of *Phylodryas olfersii* (green snake). **Toxicon** 32(7):819-831.
- Asuzu, I.U. & A.L. Harvey, 2003. The antisnake venom activities of *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) stem bark extract. **Toxicon** 42(7):763-768.
- Azevedo-Marques, M.M., S.E. Hering & P. Cupo, 2003. Acidente crotálico, pp.91-98. *In: Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes* (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.) Sarvier-Fapesp, São Paulo.
- Batina, M.F.C., J.R. Giglio & S.V. Sampaio, 1997. Methodological care in the evaluation of the LD and of the neutralization of the lethal effect of *Crotalus durissus terrificus* venom by the plant *Perchiera fuchsiaefolia* (Apocynaceae). **J. Venom. Anim. Toxins** 3(1):1-8.
- Biondo, R., A.M.S. Pereira, S. Marcussi, P.S. Pereira, S.C. França & A.M. Soares, 2003. Inhibition of enzymatic and pharmacological activities of some snake venoms and toxins by *Mandevilla vellutina* (Apocynaceae) aqueous extract. **Biochimie** 85(10):1017-1025.
- Bolaños, R., 1984. **Serpientes, venenos y ofidismo em Centroamérica**. San José, C.R. Editorial Universidad de Costa Rica, 136p.
- Borges, C.C., A.J. Cavalcanti-Neto, A.L. Boechat, C.H. Francisco, L.F.M.R. Arruda & M.C. Santos, 1996. Eficácia da espécie vegetal *Peltodon radicans* (Labiatae, Lameaceae) na neutralização da atividade edematogênica e ineficácia do extrato vegetal Específico Pessoa na neutralização das principais atividades do veneno de *Bothrops atrox*. **Rev. Univ. Amazonas**. 1:97-113.
- Borges, M.H., A.M. Soares, V.M. Rodrigues, S.H. Andrião-Escarso, H. Diniz, A. Hamaguchi, A. Quintero, S. Lizano, J.M. Gutiérrez, J.R. Giglio & M.I. Homs-Brandeburgo, 2000. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A. **Comp. Biochem. Physiol. Part B** 127:21-30.
- Borges, M.H., A.M. Soares, V.M. Rodrigues, F.Oliveira, A.M. Fransheschi, A. Rucavado, J.R. Giglio & M.I. Homs-Brandeburgo, 2001. neutralization of proteases from *Bothrops* snake venom by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon** 39:1863-1869.
- Borges, M.H., A.C. Grossi, D.S. Raslan, D. Piló-Veloso, D.L.F. Alves & M.E. Lima, 2002. Partial chemical characterization of the *Musa* sp SAP (Musaceae) and its interaction with snake venom. *In: VII Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia*, 116pp.
- Borkow, G., J.M. Gutiérrez & M. Ovadia, 1993. Isolation and characterization of synergistic hemorrhagins from the venom of the snake *Bothrops asper*. **Toxicon** 31:1137-1150.
- Borkow, G., J.M. Gutiérrez & M. Ovadia, 1997a. Inhibition of the hemorrhagic activity of *Bothrops asper* venom by a novel neutralizing mixture. **Toxicon** 35(6):865-877.
- Borkow, G., J.M. Gutiérrez & M. Ovadia, 1997b. Inhibition of toxic activities of *Bothrops asper* venom and other crotalid snake venoms by a novel neutralizing mixture. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 147:442-447.
- Braga, R., 1960. **Plantas do nordeste, especialmente do Ceará**. 2ª edição. Imprensa oficial. Fortaleza, 540p.
- Brasil, 1984. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Vol. 1-6. Vol.1-3 publicado pela Imprensa Nacional (1926-1952), Vol. 4-6 publicado pelo Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (1969-1978), Rio de Janeiro. Ministério da Agricultura/IBDF.
- Brasil, 1991. **Ofidismo: Análise epidemiológica**. Ministério da Saúde. Brasília.
- Brasil, 1999. **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Brasília, 131p.
- Brazil, V., 1901. Contribuição ao estudo do veneno ophidico. I. Espécies venenosas brasileiras. Mortalidade por mordeduras de cobras. **Revista Medica de S. Paulo**

- 15:255-260.
- Brazil, V., 1901a. Contribuição ao estudo do veneno ophidico. II. O veneno de algumas espécies brasileiras. **Revista Médica de S. Paulo** 4:296-300.
- Brazil, V., 1901b. Contribuição ao estudo do veneno ophidico. III. Tratamento das mordeduras de cobra. **Revista Médica de S. Paulo** 21:375-380.
- Brazil, V., 1902. **Do envenenamento ophidico e seu tratamento**. Serviço Sanitário do Estado de São Paulo, 27p.
- Brazil, V., 1904a. Da serumtherapia no envenenamento ophidico. **Brazil-Medico**, Rio de Janeiro 18(3):21-23.
- Brazil, V., 1904b. Da serumtherapia no envenenamento ophidico. **Brazil-Medico**, Rio de Janeiro 18(4):31-38.
- Brazil, V., 1911. **A defesa contra o ophidismo**. Pocai & Weiss. São Paulo, 152p.
- Brazil, V., 1918. **Collectanea de trabalhos (1901-1917)**. Instituto Butantan. Typographia do Diario Official 2-30pp.
- Brazil, V., 1927. A coagulação sangüínea. **Brazil-Medico**, Rio de Janeiro 41(48):1247-1252.
- Brazil, O.V. 2003. Prefácio. *In: Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes* (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.) Sarvier-Fapesp, São Paulo 468p.
- Brygoo, E.R. 1982. La découverte de la sérothérapie antivenimeuse en 1894. Phisalix et Bertrand ou Calmette? **Mem. Inst. Butantan** 46:59-77.
- Calixto, J.B., M. Nicolau & R.A. Yunes, 1985. The selective antagonism of bradykinin action on isolated rat uterus by crude *Mandevilla velutina*. **Brit. J. Pharmacol.** 85:729-731.
- Camargo, E.P. & O.A. Sant'Anna, 2004. Institutos de pesquisa em saúde. **Ciência & Saúde Coletiva** 9(2):295-302.
- Campbell, J.A. & W.W. Lamar, 1989. **The venomous reptiles of Latin America** Cornell University Press. New York, 425p.
- Cardoso, J.L.C., 2003. A fitoterapia antiveneno na medicina brasileira, pp. 429-433. *In: Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.). Sarvier-Fapesp. São Paulo.
- Cardoso, J.L.C., F.O.S. França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Júnior, 2003. **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. Sarvier-Fapesp. São Paulo, 468p.
- Caribé, J. & J.M. Campos, 1997. **Plantas que ajudam o homem – Guia prático para época atual**. 6ª edição. Cultrix-Pensamento. São Paulo, 321p.
- Castro, H.C., D.L.S. Dutra, A.L. Oliveira-Carvalho & R.B. Zingali, 1998. Bothroalteinin, a thrombin inhibitor from the venom of *Bothrops alternatus*. **Toxicon** 36(12):1903-1912.
- Castro, O., J.M. Gutiérrez, M. Barrios, I. Castro. M. Romero & E. Umaña, 1999. Neutralización Del efecto hemorrágico inducido por veneno de *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae) por extractos de plantas tropicales. **Rev. Biol. Trop.** 47(3):605-616.
- Chacur, M., G. Picolo, J.M. Gutiérrez, C.F.P. Teixeira & Y. Cury, 2001. Pharmacological modulation of hyperalgesia induced by *Bothrops asper* (terciopelo) snake venom **Toxicon** 39:1173-1181.
- Chippaux, J.P., V. Williams & J. White, 1991. Snake venom variability: Methods of study, results and interpretation. **Toxicon** 29(11):1279-1303.
- Cormier, L.A., 2005. Um aroma no ar: a ecologia histórica das plantas anti-fantasma entre os guajá da Amazônia. **Mana** 11(1):129-154.
- Correa, A.D., R. Siqueira-Batista & L.E.M. Quintas, 1997. Similia Similibus Curentur: historical background of homeopathic medicine. **Rev. Assoc. Med. Bras.** 43(4):347-351.
- Cunha, O.R. & F.P. Nascimento, 1993. Ofídios da Amazônia. As cobras da região leste do Pará. **Bol. Mus. Par. Emilio Goeldi, Série Zoologia** 9(1):1-191.
- Dobusitzky, D., 1935. Estudos bioquímicos sobre os venenos das serpentes do gênero *Bothrops*. I. Ação coagulante e purificação da secreção da glândula venenosa de *Bothrops jararaca*. **Mem. Inst. Butantan.** (9):259-273
- D'Oliveira, H.V. 1854. **Systema de matéria medica vegetal brasileira**. Publicado pela Casa de Eduardo & Henrique Laemmert. Rio de Janeiro, 284p.
- Dos-Santos, M.C., L.R.C. Gonçalves, C.L. Fortes-Dias, Y. Cury, J.M. Gutiérrez & M.F.D. Furtado, 1992. A eficácia do antiveneno botrópico-crotálico na neutralização das principais atividades do veneno de *Bothrops jararacussu*. **Rev. Inst. Méd. trop. São Paulo.** 34(2):77-83.
- Dos-Santos, M.C., L.C.L. Ferreira, W. Dias-da-Silva & M.F.D. Furtado, 1993. Caracterization 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**, 31:1459-1469.
- Esmeraldino, L.E., E.L.G. Veronese, F.K. Ticli, J.J. Franco, A.C.O. Cintra & S.V. Sampaio, 2002. Inhibition of *Bothrops jararaca* venom hemorrhagic activity by fraction EA2MB from *Croton urucurana* baillon. *In: VII Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia*, 221pp.
- Fernandes, D.S., F.L. Franco & R. Fernandes, 2004. Systematic revision of the genus *Lachesis* Dandin, 1803 (Serpentes: Viperidae). **Herpetologica** 60(2):245-260.
- França, F.O.S. & C.M.S. Málaque, 2003. Acidente botrópico, pp.72-86. *In: Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes* (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.) Sarvier-Fapesp, São Paulo.
- Francischetti, I.M.B., C.R. Carlini & J.A. Guimaraes, 1998.

- cAMP Does Not Inhibit Convulxin-Induced Tyrosyl-Phosphorylation Of Human Platelet Proteins, But Completely Blocks The Dephosphorylation Step. **Archives of biochemistry and biophysics**. 354(2):255-262.
- Francischetti, I.M.B., M.E.C. Gombarovits, J.G. Valenzuela, C.R. Carlini & J.A. Guimaraes, 2000a. Intra-specific variation in the venoms of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*). **Comparative Biochemistry and Physiology. C, Comparative Pharmacology and Toxicology**. 127(1):23-36.
- Francischetti, I.M.B., T.M. Chiang, J.A. Guimaraes & C. Bon, 2000b. Role of the recombinant non-integrin platelet collagen receptor P65 on platelet activation induced by convulxin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 270(3):932-935.
- Ferreira, S.H. & M.R.E. Silva, 1962. Potentiation of bradykinin by dimercaptotropanol (Bal) and other inhibitors of its destroying enzyme in plasma. **Bioch. Pharmacol.** 11:1123-1128.
- Ferreira, S.H., 1965. A bradykinin – potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. **Brit. J. Pharmacol.** 24:163-169.
- Ferreira, S.H. & M.R.E. Silva, 1965. Potentiation of bradykinin and eledoisin by BPF (Bradykinin Potentiating Factor) from *Bothrops jararaca* venom. **Experientia** 21:347-349.
- Ferreira, S.H., 1966. **A bradykinin – potentiating factor**. Hypotensive Peptides, 1966.
- Furtado, M.F.D., G.M.D.D. Colletto & W. Dias da Silva, 1991a. Controle de qualidade dos venenos animais e dos correspondentes antivenenos. I. Padronização dos métodos de ensaio das atividades bioquímicas e farmacológicas dos venenos de algumas espécies do gênero *Bothrops* e *Crotalus* usando amostras secas a temperatura ambiente ou liofilizada. **Mem. Inst. Butantan** 53(2):149-159.
- Furtado, M.F.D., M. Maruyama, A.S. Kamiguti & L.C. Antonio, 1991b. Comparative study of nine *Bothrops* snake venoms from adult female snakes and their offspring. **Toxicon** 29(2):219-226.
- Gené, J.A., A. Roy, G. Rojas, J.M. Gutiérrez & L. Cerdas, 1989. Comparative study on coagulant, defibrinating, fibrinolytic and fibrinogenolytic, activities of Costa Rican Crotaline snake venoms and their neutralization by a polyvalent antivenom. **Toxicon** 27(8):841-848.
- Going, C.J., O.B. Going & G.R. Zug, 1978. **Introduction to Herpetology**. Third edition. Freeman. San Francisco, 378p.
- Gonçalves, L.R.C. & M. Mariano, 2000. Local haemorrhage induced by *Bothrops jararaca* venom: relationship to neurogenic inflammation. **Mediators of Inflammation** 9:101-107.
- Gutiérrez, J.M., C.L. Ownby & G.V. Odell, 1984. Isolation of a myotoxin from *Bothrops asper* venom: partial characterization and action on skeletal muscle. **Toxicon** 22:115-128.
- Gutiérrez, J.M., J.A. Gené, G. Rojas & L. Cerdas, 1985. Neutralization of proteolytic and hemorrhagic activities of Costa Rican snake venoms by a polyvalent antivenom. **Toxicon** 23:887-893.
- Gutiérrez, J.M., G. Rojas, B. Lomonte, J.A. Gené & F. Chaves, 1990. **La evaluación de la capacidad neutralizante de los antivenenos em America. Publicacion del Instituto Clodomiro Picado**. Universidad de Costa Rica, 21p.
- Gutiérrez, J.M. & A. Rucavado, 2000 Snake venom metalloproteinases: their role in the pathogenesis of local tissue damage. **Biochimie** 82: 841-850.
- Gutiérrez, J.M., 2002. Comprendiendo los venenos de serpientes: 50 años de investigaciones en América Latina. **Rev. Biol. Trop.** 50(2):377-394.
- Habermehl, G.G., 1994. Francesco Redi – Life and Work. **Toxicon** 32(4):411-417.
- Hawgood, B.J., 1995. Abbé Felice Fontana (1730-1805): Founder of modern Toxinology. **Toxicon** 33(5):591-601.
- Hawgood, B.J., 1996. Sir Joseph Fayrer MD FRS (1824-1907) Indian Medical Service: Snakebite and mortality in British India. **Toxicon** 34(2):171-182.
- Hawgood, B.J., 1999. Doctor Albert Calmette 1863-1933: founder of antivenomous serotherapy and of antituberculous BCG vaccination. **Toxicon** 37:1241-1258.
- Isla, M., O. Malaga & A. Yarlequé, 2003. Características bioquímicas y acción biológica de una hemorragina del veneno de *Bothrops brazili*. **An. Fac. Med.** 64(3):159-166.
- Izidoro, L.F.M., V.M. Rodrigues, R.S. Rodrigues, E.V. Ferro, A. Hamaguchi, J.R. Giglio & M.I. Homs-Brandeburgo, 2003. Neutralization of same hematological and hemostatic alterations induced by neuwiedase, a metalloproteinase isolated from *Bothrops neuwiedi pauloensis* snake venom, by the aqueous extract from *Casearia mariquitensis* (Flacourtiaceae). **Biochimie** 85(7):669-675.
- Kamiguti, A.S., C.R.M. Hay, R.D.G. Theakston & M. Zuzel, 1996. Insights into the mechanism of haemorrhage caused by snake venom metalloproteinases. **Toxicon** 34(6):627-642.
- Kawamura, Y. & Y. Sawai, 1984. Effectiveness of cobra antivenom by different route of injection. **The Snake** 16:139-140.
- Kondo, H., S. Kondo, H. Ikezawa, R. Murata & A. Ohsaka, 1960. Studies on the quantitative method for determination of hemorrhagic activity of *Habu* snake venom. **Jap. J. M. Sc. & Biol.**, 13:43-51.
- Laguer, A.H., I.M.B. Francischetti, J.A. Guimaraes & M.J. Ferrus, 1999. Phosphatidylinositol 3'-kinase and tyrosine-phosphatase activation positively modulate Convulxin-induced platelet activation. **Comparison with collagen**. 448(1):95-100.
- Lomonte, B., J.A. Gene, J.M. Gutiérrez & L. Cerdas, 1983. Estudio comparativo de los venenos de serpiente cascabel (*Crotalus durissus durissus*) de elempares adultos y recién

- nacidos. **Toxicon** 21(3):379-384.
- Lomonte, B., J.M. Gutiérrez, M.F.D. Furtado, R. Otero, J.P. Rosso, O. Vargas, E. Carmona & M.E. Rovira, 1990. Isolation of basic myotoxins from *Bothrops moojeni* and *Bothrops atrox* snake venoms. **Toxicon** 28(10):1137-1146.
- Lomonte, B., A. Tarkowski & L.Å. Hanson, 1993. Host response to *Bothrops asper* snake venom: Analysis of edema formation, inflammatory cells, and cytokine release in a mouse model. **Inflammation** 17(2):93-105.
- Lomonte, B., J.M. Gutiérrez, G. Borkow, M. Ovadia, A. Tarkowski & L.Å. Hanson, 1994. Activity of hemorrhagic metalloproteinase BaH-1 and myotoxin II from *Bothrops asper* snake venom on capillary endothelial cells *in vitro*. **Toxicon** 32:505-510.
- Mackessy, S.P. 2002. Biochemistry and pharmacology of colubrid snake venoms. **Toxin Reviews** 21(1-2):43-83
- Mahanta, M. & A.K. Mukherjee, 2001. Neutralization of lethality, myotoxicity and toxic enzymes of *Naja kaouthia* venom by *Mimosa pudica* root extracts. **J. Ethnopharmacol.** 75:55-60.
- Maláque, C.M.S. & F.O.S. França, 2003. Acidente laquético, pp.87-90. *In: Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes* (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.) Sarvier-Fapesp, São Paulo.
- Mandelbaum, F.R., M.T. Assakura & A.P. Reichl, 1984. Characterization of two hemorrhagic factors isolated from the venom of *Bothrops neuwiedi* (jararaca pintada). **Toxicon** 22(2):193-206.
- Martz, W., 1992. Plants with a reputation against snakebite. **Toxicon** 30(10):1131-1142.
- Meaume, J., 1966. Les venins de serpents agents modificateurs de la coagulation sanguine. **Toxicon** 4:25-58.
- Melgarejo, A.R., 2003. Serpentes peçonhentas do Brasil, pp.33-61. *In: Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes* (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.) Sarvier-Fapesp, São Paulo.
- Melo, P.A., M.C. Nascimento, W.B. Mors & G. Suarez-Kurtz, 1994. Inhibition of the myotoxic and hemorrhagic activities of crotalid venoms by *Eclipta prostrata* (Asteraceae) extracts and constituents. **Toxicon** 32(5):595-603.
- Mendes, M.M., L.H.F. Vale, L.C.P.C. Gebrim, A. Hamaguchi, M.I. Homs-Brandeburgo, 2002. Inhibition of PLA₂, coagulant and hemorrhagic activities of *Bothrops alternatus* venom by *Schizolobium parahyba* (Caesalpinioideae) extract. *In: VII Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia* 227pp.
- Mors, W.B., M.C. Nascimento, J.P. Parente, M.H. Silva, P.A. Melo & G. Suarez-Kurtz, 1989. Neutralization of lethal and myotoxic activities of south american rattlesnake venom by extracts and constituents of the plant *Eclipta prostrata* (Asteraceae). **Toxicon** 27(9):1003-1009.
- Mors, W.B., M.C. Nascimento, B.M.R. Pereira & N.A. Pereira, 2000. Plant natural products active against snake bite – the molecular approach. **Phytochemistry** 55:627-642.
- Nakagawa, M., K. Nakanishi, L.L. Darko & J.A. Vick, 1982. Structures of cabenegrins A-I and A-II, potent anti-snake venoms. **Tetrahedron Letters** 23(38):3855-3858.
- Neves-Ferreira, A.G.C., J. Perales, M. Ovadia, H. Moussatché & G.B. Domont, 1997. Inhibitory properties of the antithrombotic complex from the south American opossum (*Didelphis marsupialis*) serum. **Toxicon** 35(6):849-863.
- Núñez, V., V. Castro, R. Murillo, L.A. Ponce-Soto, I. Merfort & B. Lomonte, 2005. Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards myotoxic phospholipases A from *Bothrops* snake venoms: Isolation of 4-nerolidylcatechol as active principle. **Phytochemistry**, 66:1017-1025.
- Oliveira, C.Z., V.A. Maiorano, S. Marcussi, C.D. Sant'Ana, A.H. Januário, M.V. Lourenço, S.V. Sampaio, S.C. França, P.S. Pereira & A.M. Soares, 2005. Anticoagulant and antifibrinolytic properties of the aqueous extract from *Bauhinia forficata* against snake venoms. **Journal of Ethnopharmacology**, 98:213-216.
- Otero, R., R.J. Fonnegra & S.L. Jiménez, 2000. **Plantas utilizadas contra mordeduras de serpientes en Antioquia y Chocó, Colombia**. Universidad de Antioquia. Medellín, 402p.
- Paine, M.J.I., H.P. Desmond, R.D.G. Theakston & J.M. Crampton, 1992. Purification, cloning and molecular characterization of a high molecular weight haemorrhagic metalloproteinase, jararhagin from *Bothrops jararaca* venom. **J. Biol. Chem.** 267:22869-22876.
- Papavero, N., D.M. Teixeira & J. Llorente-Bousquets, 1997. **História da biogeografia no período pré-evolutivo**. Ed. Pléiade e Fapesp, São Paulo, 258p.
- Peckolt, T. & G. Peckolt, 1888. **História das plantas medicinaes e úteis do Brazil**. Typographia Laemmert & C. Rio de Janeiro.
- Peckolt, G., 1914. **História das plantas medicinaes e uteis do Brazil**. Pap. Modelo. Rio de Janeiro.
- Pereira, N.A., B.M.R. Pereira, M.C. Nascimento, J.P. Parente & W.B. Mors, 1994. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as snake venom antidotes; IV. Protection against jararaca venom by isolated constituents. **Planta Med.** 60:99-100.
- Peters, J.A. & B. Orejas-Miranda, 1986. **Catalogue of the Neotropical Squamata: Part I, snakes**. Revised edition (originally published 1970), addenda and corrigenda by P.E. Vanzolini. Washington, D.C.: Smithsonian Institution, 347p.
- Pinho, F.M.O. & I.D. Pereira, 2001. Ofidismo. **Rev. Assoc. Med. Bras.** 47(1): 1-12.
- Pio Corrêa, M., 1909. **Flora do Brazil**. Typographia da Estatística. Rio de Janeiro, 154p.
- Pithayanukul, P., S. Laovachirasuwan, P. Bavovada, N. Pakmanee & R. Suttisri, 2004. Anti-venom potential of butanolic extract of *Eclipta prostrata* against Malayan pit viper venom. **J. Ethnopharmacol.** 90(2-3):347-352.

- Pithayanukul, P., P. Ruenraroengsak, R. Bavovada, N. Pakmanee, R. Suttisri & S. Saen-oon, 2005. **Journal of Ethnopharmacology**, 97:527-533.
- Porter, K.R., 1972. **Herpetology**. W.B. Sanders Co. 490p.
- Pough, F.H., R.M. Andrews, J.E. Cadle, M.L. Crump, A.H. Savitzky & K.D. Wells, 1998. **Herpetology**. Prentice Hall, N. Jersey 579p.
- Prado-Franceschi, J., S. Hyslop, J.C. Cogo, A.L. Andrade, M. Tassakura, A.P. Reichl, M.A. Cruz-Hofling, & L.R. Simioni, 1998. Characterization of a myotoxin from the Durvenoy's gland secretion of the xenodontinae colubrid *Phylodryas olfersii* (green snake): effects on striated muscle and the neuromuscular junction. **Toxicon** 36(10):1407-1421.
- Prado-Franceschi, J. & S. Hyslop, 2002. South american colubrid envenomations. **Toxin Reviews** 21(1-2):117-158.
- Raw, I. & O.A. Sant'Anna, 2002. **Aventuras da microbiologia**. Hacker Editores. São Paulo, 171p.
- Reyes-Chilpa, R., F. Gómez-Garibay, L. Quijano, G.A. Magos-Guerrero & T. Ríos, 1994. Preliminary results on the protective effect of (-)-edunol, a pterocarpan from *Brongniartia podalyrioides* (Leguminosae), against *Bothrops atrox* venom in mice. **J. Ethnopharmacol.** 42:199-203.
- Rocha e Silva, M., W.T. Beraldo & G. Rosenfeld, 1950. Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. **Am. J. Physiol.** 156(2):261-273.
- Rodrigues, R.J., D.L. Ferreira-Alves & C.R. Diniz, 1988. Ensaios biológicos para detectar substâncias com atividade contra veneno de ofídios. In: **Anais do XII Simpósio Anual da ACIESP sobre toxinas proteicas II**:124-127.
- Santos, M.C., L.R.C. Gonçalves, C.L. Fortes-Dias, Y. Cury, J.M. Gutiérrez & M.F.D. Furtado, 1992. A eficácia do antiveneno botrópico-crotálico na neutralização das principais atividades do veneno de *Bothrops jararacussu*. **Inst. Med. Trop. S. Paulo** 34:77-83.
- Santos, M.C., 1996. Characterization of the biological activities of the *Crotalus durissus ruruima* yellow and white venoms compared with *Crotalus durissus terrificus* venom: neutralizing effect of the antivenoms against *Crotalus durissus terrificus* venom. **J. Venom. Anim. Toxins** 2(2):163-163.
- Schindler, S.S., 1884. **Brazilian Medicinal Plants**. Typ. e Lith. De Moreira, Maximino & C. Rio de Janeiro.
- Silva Jr., P.G.P., M.M. Melo, R.R. Cardoso, K.M. Ferreira, F.V. Fonseca, L.A. Lago & G.G. Habermehl, 2002. Local treatment of experimental envenoming by *Bothrops alternatus* in dogs with the aqueous extract of *Kalanchoe brasiliensis*. In: **VII Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia**, 263pp.
- Silva Jr. N.J. & F. Bucatetchi, 2003. Mecanismos de ação do veneno elapídico e aspectos clínicos dos acidentes, pp.99-107. In: **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes** (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.) Sarvier-Fapesp, São Paulo.
- Silva, L.M., C.R. Diniz & A. Magalhães, 1985. Purification and partial characterization of an arginine ester hydrolase from the venom of the bushmaster snake, *Lachesis muta noctivaga*. **Toxicon** 23(4):707-718.
- Silva, J.O., J.S. Coppede, V.C. Fernandes, C.D. Sant'Ana, F.K. Ticli, M.V. Mazzi, J.R. Giglio, P.S. Pereira, A.M. Soares & S.V. Sampaio, 2005. Antihemorrhagic, antinucleolytic and other antiophidian properties of the aqueous extract from *Pentaclethra macroloba*. **Journal of Ethnopharmacology**, 100:145-152.
- Silveira, A.A., 1921. **Memorias chorographicas**. Imprensa official. Belo Horizonte.
- Simões, C.M.O., L.A. Mentz, E.P. Schenkel, B.E. Irgang & J.R. Stehmann, 1998. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5ª edição. Editora da Universidade do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 173p.
- Slotta, C.H. & H.L. Fraenkel-Conrat, 1939. Estudos químicos sobre os venenos ofídicos – Purificação e cristalização do veneno da cobra cascavel. **Mem. Inst. Butantan**. 12:505-512.
- Sommer, F., 1953. **A vida do botânico Martius**. Edições Melhoramentos. São Paulo.
- Ticli, F.K., L.I.S. Hage, R.S. Cambraia, P.S. Pereira, A.J. Magro, M.R.M. Fontes, R.G. Stábéli, J.R. Giglio, S.C. França, A.M. Soares & S.V. Sampaio, 2005. Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A inhibitor from *Cordia verbenacea* (Boraginaceae): antiserum action potentiation and molecular interaction. **Toxicon**, 46:318-327.
- Trebiën, H.A. & J.B. Calixto, 1989. Pharmacological evaluation of rat paw oedema induced by *Bothrops jararaca* venom. **Agents and Actions** 26(3/4):292-300.
- Vanzolini, P.E., A.M.M. Ramos-Costa & L.J. Vitt, 1980. **Répteis das Caatingas**. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, 161p.
- Vanzolini, P.E., 1996. Introdução à herpetologia no Brasil – O contexto científico e político da expedição bávara ao Brasil de Johann Baptis von Spix & Johann Georg Wagler. **Imaginário-USP** 3:81-121.
- Vanzolini, P.E. & M.E.V. Caleffo, 2002. A taxonomic bibliography of the south American snakes of the *Crotalus durissus* complex (Serpentes, Viperidae). **An. Acad. Bras. Cienc.** 74(1):37-83
- Veronese, E.L.G., L.E. Esmeraldino, A.P.F. Trombone, A.E. Santana, G.H. Bechara, I. Kettelhut, A.C.O. Cintra, J.R. Giglio & S.V. Sampaio, 2005. Inhibition of the myotoxic activity of *Bothrops jararacussu* venom and its two major myotoxins, BthTX-I and BthTX-II, by aqueous extract of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Apocynaceae). **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology**, 12:112-123.
- Vieira, L.S., 1992. **Fitoterapia da Amazônia – Manual das plantas medicinais**. 2ª edição. Editora Agronômica Ceres. São Paulo, 347p.

- Vilar, J.C. 2004. Ofidismo em Sergipe: epidemiologia e plantas da caatinga utilizadas popularmente como antiofídicas. **Tese de Mestrado**, Núcleo de Pós-Graduação e Estudos do Semi-Árido, Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente, Universidade Federal de Sergipe, 106p.
- Vilar, J.C., C.M. Carvalho & M.F.D. Furtado, 2004. Epidemiologia dos acidentes ofídicos em Sergipe (1999-2002). **Biol. Geral Exper.** 4(2):3-13.
- Villarroel, M.S., 1977. Contribuição ao estudo de venenos e antivenenos botrópicos. **Tese de doutorado**. Universidade de São Paulo 53p.
- Wen, F.H. 2003. Soroterapia, pp.380-393. *In: Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes* (Cardoso J.L.C., F.O.S França, F.H. Wen, C.M.S. Málaque & V. Haddad Jr. Eds.) Sarvier-Fapesp, São Paulo.
- Zingali, R. B. I.M.B.Francischetti, C.R. Carlini & J.A. Guimaraes, 1988. Biochemical And Pharmacological Screening Of Snake (*Bothrops*) Venoms: Characterization Of Components Acting On Blood Coagulation And Platelet Aggregation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 21(4):763-765.
- Zingali, R.B., C.R. Carlini, I.M.B. Francischetti & J.A. Guimarães, 1990. *Bothrops Jararaca* Snake Venom; Effects On Platelet Aggregation. **Thrombosis Research**. 58(3):303-316.

Aceito em 14.ix.2005

Tabela 1. Distribuição geográfica das espécies de serpentes peçonhentas do Brasil.

ORDEM SQUAMATA, SUBORDEM SERPENTES	
Família Viperidae Laurenti, 1768	
Subfamília Crotalinae Oppel, 1811	
<i>Bothriopsis</i> Peters 1861	
<i>B. bilineata</i> (Wied, 1825) 2 subespécies	Norte da Bolívia às Guianas; Acre ao Maranhão
<i>B. taeniata</i> (Wagler, 1824)	Norte da Bolívia às Guianas; Acre e Amazonas ao Maranhão
	<i>Bothrocophias</i> Gutberlet & Campbell, 2001
<i>B. hyoprora</i> (Amaral, 1935)	Norte da Bolívia ao sul da Colômbia; extremo oeste da Amazônia brasileira.
	<i>Bothrops</i> Wagler, 1824
<i>B. alcatraz</i> Marques, Martins & Sazima, 2002	Ilha de Alcatrazes, São Paulo.
<i>B. alternatus</i> Duméril, Bibron & Duméril, 1854	Norte da Argentina ao Paraguai; Rio Grande do Sul a São Paulo.
<i>B. atrox</i> (Lineu, 1758)	Bolívia às Guianas; Acre e Amazonas ao Maranhão.
<i>B. brazili</i> Hoge, 1959	Norte da Bolívia às Guianas; norte do Mato Grosso e Acre ao Maranhão.
<i>B. cotiara</i> (Gomes, 1913)	Norte da Argentina; Rio Grande do Sul a São Paulo.
<i>B. erythromelas</i> Amaral, 1923	Nordeste do Brasil, caatinga.
<i>B. fonsecai</i> Hoge & Belluomini, 1959	Regiões limítrofes entre São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro.
<i>B. iglesiassi</i> Amaral, 1923	Piauí, caatinga.
<i>B. insularis</i> (Amaral, 1921)	Ilha da Queimada Grande, São Paulo.
<i>B. itapetiningae</i> (Boulenger, 1907)	Mato Grosso à Bahia.
<i>B. jararaca</i> (Wied, 1824)	Argentina e Paraguai; Rio Grande do Sul à Bahia.

Tabela 1 (Continuação).

ORDEM SQUAMATA, SUBORDEM SERPENTES	
Família Viperidae Laurenti, 1768	
Subfamília Crotalinae Oppel, 1811	
<i>Bothrops</i> Wagler, 1824	
<i>B. jararacussu</i> Lacerda, 1884.	Norte da Argentina ao sul da Bolívia; Rio Grande do Sul à Bahia.
<i>B. leucurus</i> Wagler, 1824	Espírito Santo ao Ceará.
<i>B. marajoensis</i> Hoge, 1966	Ilha de Marajó, Pará.
<i>B. moojeni</i> Hoge, 1966	Paraguai; Mato Grosso ao Maranhão, cerrado.
<i>B. muriciensis</i> Ferrarezi & Freire, 2001	Alagoas, mata atlântica.
<i>B. neuwiedi</i> Wagler, 1824 12 subespécies	Argentina à Bolívia; Rio Grande do Sul à Rondônia, Goiás ao Ceará, cerrado, caatinga e mata atlântica.
<i>B. pirajai</i> Amaral, 1923	Bahia, Ilhéus e Monte Santo.
<i>Crotalus</i> Lineu, 1758	
<i>C. durissus</i> Lineu, 1758 5 subespécies	Cerrado, caatinga e áreas abertas da Amazônia e mata atlântica.
<i>Lachesis</i> Dandin, 1803	
<i>L. muta</i> (Lineu, 1766) 2 subespécies	
Família Elapidae Boie, 1827	
<i>Micrurus</i> Wagler, 1824	
<i>M. altirostris</i> (Cope, 1860)	Argentina e Uruguai; Rio Grande do Sul.
<i>M. annellatus</i> (Peters, 1871) 3 subespécies	Bolívia ao sul do Equador; oeste do Amazonas.
<i>M. averyi</i> Schmidt, 1939	Guyana; Manaus, Amazonas, Santa Maria do Boiaçu e Missão Catrimani, Roraima.

Tabela 1 (Continuação).

ORDEM SQUAMATA, SUBORDEM SERPENTES	
Família Elapidae Boie, 1827	
<i>Micrurus</i> Wagler, 1824	
<i>M. corallinus</i> (Merrem, 1820)	Nordeste da Argentina e Paraguai; Santa Catarina ao litoral do Rio de Janeiro.
<i>M. decoratus</i> (Jan, 1858)	Litoral do Rio Grande do Sul ao Rio de Janeiro, sul de Minas Gerais.
<i>M. filiformis</i> (Günther, 1859) 2 subespécies	Peru e Colômbia; Amazônia, rios Negro, Solimões e Amazonas.
<i>M. frontalis</i> (Duméril, Bibron & Duméril, 1854) 5 subespécies	Argentina ao Uruguai; Rio Grande do Sul à Bahia, cerrado, caatinga e mata atlântica.
<i>M. hemprichii</i> (Jan, 1858) 2 subespécies	Norte da Bolívia às Guianas; Acre e Amazonas ao Maranhão.
<i>M. langsdorffi</i> Wagler, 1824 2 subespécies	Norte da Bolívia à Colômbia; oeste da Amazônia brasileira.
<i>M. lemniscatus</i> (Lineu, 1758) 4 subespécies	Norte da Bolívia às Guianas; Amazônia brasileira, Brasil central e mata atlântica do Rio Grande do Norte ao Rio de Janeiro
<i>M. narducii</i> (Jan, 1863)	Peru à Colômbia; oeste da Amazônia brasileira.
<i>M. pacaraimae</i> Carvalho, 2000	Vila Pacaraima, fronteira Brasil/Venezuela marco 8, Roraima.
<i>M. paraensis</i> (Cunha & Nascimento, 1973)	Suriname; Mato Grosso e Pará.
<i>M. pyrrhocryptus</i> Cope, 1862	Argentina à Bolívia; Mato Grosso.
<i>M. spixii</i> Wagler, 1926 3 subespécies	Bolívia à Colômbia; Mato Grosso ao Amazonas e Maranhão.
<i>M. surinamensis</i> (Cuvier, 1817) 2 subespécies	Norte da Bolívia às Guianas; Amazônia brasileira.
<i>M. tricolor</i> Hoge, 1956	Mato Grosso.

As seguintes espécies de *Micrurus* são ditas ocorrer no Brasil, com dúvidas (Campbell & Lamar, 1989): *collaris* (Schlegel, 1837), Roraima; *psyches* (Dandin, 1803), Amazônia ao Maranhão; *putumayensis* Lancini, 1962, Mato Grosso. *Bothrops newiedii* pode ser um complexo de cinco espécies, mas não estão publicadas (Silva, 2000).

Tabela 2. Plantas citadas como antifólicas na literatura.

Espécie	Família	Composto (s)	Autor (es)
<i>Aegiphila salutaris</i> (contra-cobra)	Verbenaceae		Pio Corrêa, 1909
<i>Annona furfuracea</i> (araticum)	Anonaceae		Peckolt, 1814
<i>Apuleia leiocarpa</i>	Caesalpiniaceae	β -amirin, apuleína	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Arisaema phytonium</i> (= <i>Zomicarpa pythonium</i>)	Araceae		D'Oliveira, 1854
<i>Aristolochia antihysterica</i> (= <i>Aristolochia triangularis</i>) (cipó-de-jarrinha ou mil-homens)	Aristolochiaceae		D'Oliveira, 1854
<i>A. shimadai</i>	Aristolochiaceae	alantoína, ácido aristolóquico	Tsai <i>et al.</i> , 1975; 1980; Martz, 1992
<i>A. trilobata</i> (calunga ou jarrinha)	Aristolochiaceae		Pio Corrêa, 1926-1978 (IBDF, 1984)
<i>Bixa orellana</i>	Bixaceae		
<i>Botrichium virginicum</i> (língua-de-víbora-do-campo)	Ophioglossaceae		Peckolt & Peckolt, 1888
<i>Bredemeyera floribunda</i>	Polygalaceae	bredemeirosida	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Brongniartia podalyrioides</i>	Leguminosae	(-)-edunol	Reyes-Chilpa <i>et al.</i> , 1994
<i>Brownea rosademonte</i>	Caesalpiniaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Bryonia bonariensis ficifolia</i> (= <i>Cayaponia bonariensis</i>) (tuyutá ou abobrinha-do-mato)	Cucurbitaceae		D'Oliveira, 1854
<i>Bursera simaruba</i>	Burseraceae	flavanoide e taninos condensados cabenegrina A-I e A-II	Castro <i>et al.</i> , 1999
Cabeça-de-negro			Nakagawa <i>et al.</i> , 1982
<i>Casearia sylvestris</i> (língua-de-tiú)	Flacurtiaceae		Braga, 1960; Borges, 2000, 2001
<i>Chiococca anguifuga</i> (= <i>Chiococca brachiata</i>) (raiz-preta)	Rubiaceae		D'Oliveira, 1854; Braga, 1960
<i>Cissampelos ebracteata</i> (orelha-de-onça)	Menispermaceae		Schindler, 1884
<i>C. glaberrima</i> (cipó-de-cobra)	Menispermaceae		Schindler, 1884; Pio Corrêa, 1909
<i>C. ovalifolia</i> (orelha-de-onça)	Menispermaceae		D'Oliveira, 1854
<i>Citrus limon</i>	Rutaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>C. sinensis</i>	Rutaceae	hesperidina	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Clusia palmana</i>	Clusiaceae	flavanóides (vitexina e epicatequina), taninos	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>C. torresii</i>	Clusiaceae	flavanóides (vitexina e epicatequina), taninos	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>Cocculus filipendula</i> (abútua-miúda)	Menispermaceae		Pio Corrêa, 1926-1978 (IBDF, 1984)
<i>Croton sp.</i> (erva-mular ou curraleira)	Euphorbiaceae		D'Oliveira, 1854
<i>C. draco</i>	Euphorbiaceae	flavanóides (catequina), taninos condensados	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>C. urucuruna</i>	Euphorbiaceae	EA2MA, EA2MB	Esmeraldino, 2002
<i>Cynara scolymus</i>	Asteraceae	cinarina	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Derris sericea</i>	Fabaceae	derricidina	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Diospyros kaki</i>	Ebenaceae	tanino persimmon	Okonogi <i>et al.</i> 1979; Martz, 1992
<i>Dostenia brasiliensis</i>	Moraceae	bergapteno	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Dracontium polyphyllum</i> (= <i>Dracontium asperum</i>) (milho-de-cobra, jararaca, jararaca-mirim ou erva-de-santa maria)	Araceae		D'Oliveira, 1854; Peckolt & Peckolt, 1888; Pio Corrêa, 1909; Braga, 1960
<i>Eclipta alba</i> (agrião-do-brejo)	Asteraceae		Silveira, 1921
<i>E. prostrata</i> (erva-de-botão)	Asteraceae	wadelolactona, sitosterol, stigmasterol	Martz, 1992; Mors, 1989, 1994
<i>Erythroxylon anguifugum</i> (fruta-de-pombo)	Erythroxylaceae		D'Oliveira, 1854
<i>Eupatorim crenatum</i> (= <i>Mikania cordifolia</i>)	Asteraceae		D'Oliveira, 1854

Tabela 2. Continuação.

Espécie	Família	Composto (s)	Autor (es)
<i>Ficus nymphaeifolia</i>	Moraceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Gomphrena officinalis</i> (para-tudo)	Amaranthaceae		Schindler, 1884
<i>Gonzalagunia panamensis</i>	Rubiaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Heliconia curtispatha</i>	Heliconiaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Hypericum irazuensis</i>	Clusiaceae		Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>H. laxiusculum</i> (alecrim-bravo)	Hypericineae		D'Oliveira, 1854; Pio Corrêa, 1926-1978 (IBDF, 1984)
<i>Isoetes martii</i> (batatinha-d'água)	Isoetaceae		Peckolt & Peckolt, 1888; Pio Corrêa, 1926-1978 (IBDF, 1984)
<i>Kalanchoe brasiliensis</i>	Crassulaceae		Silva Júnior <i>et al.</i> , 2002
<i>Mikania glomerata</i>	Asteraceae	cumarina	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>M. guaco</i> (guaco)	Asteraceae		Schindler, 1884
<i>M. opifera</i> (= <i>Mikania cordifolia</i>) (erva-de-cobra)	Asteraceae		Schindler, 1884; Silva Junior <i>et al.</i> , 2002
<i>Mimosa pudica</i>	Mimosaceae		Mahanta & Mukherjee, 2001
<i>Musa sp.</i>	Musaceae	açúcar, saponinas e taninos	Borges <i>et al.</i> , 2002
<i>Ophioglossum palmatum</i> (língua-de-vébor)	Ophioglossaceae		Peckolt & Peckolt, 1888
<i>Peltodon radicans</i> (paracari ou hortelã-brava)	Labiatae		Schindler, 1884; Braga, 1960
<i>Periandra mediterranea</i>	Fabaceae	periandrinos	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Persea americana</i>	Lauraceae	flavonóide, monosacarídeo (perseína), protocianidina, taninos condensados	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>Peschiera fuchsiaeifolia</i>	Apocynaceae		Batina, Giglio & Sampaio, 1997
<i>Phoebe brenesii</i>	Lauraceae	flavonóides (quercetina), taninos condensados	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>Phyllanthus klotzschianus</i>	Euphorbiaceae	rutina, quercetina	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Pimenta dioica</i>	Myrtaceae	flavonóides (quercetina e catequina), taninos condensados	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>Pleopeltis percussa</i>	Polypodiaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Sapindus saponaria</i>	Sapindaceae	flavonóides	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>Schizolobium parayba</i>	Caesalpiniaceae		Mendes <i>et al.</i> , 2002
<i>Schumanniophyton magnificum</i>	Rubiaceae	scumaniofosídeo	Akinyili & Akubue, 1986; Martz, 1992
<i>Sena dariensis</i>	Caesalpiniaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Silybum marianum</i>	Asteraceae	silimarina	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Smilax cuculmea</i>	Smilacaceae	antocianinas	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>Soya hispida</i>	Fabaceae	tripsina da soja	Martz, 1992
<i>Staurostigma luschnathianum</i> (jararaca-do-rio)	Araceae		Peckolt & Peckolt, 1888
<i>Struethanthus orbiculares</i>	Loranthaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Tabebuia rosea</i>	Bignoniaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Tradescantia geniculata</i> (= <i>Gibasis geniculata</i>) (trapoeiraba-efêmera)	Commelinaceae		Peckolt & Peckolt, 1888
<i>Trichomanes elegans</i>	Hymenophyllaceae		Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Vernonia condensata</i>	Asteraceae	ácido clorogênico	Pereira <i>et al.</i> , 1994
<i>Virola koschnyi</i>	Myristicaceae	taninos condensados	Castro <i>et al.</i> , 1999
<i>Zamia brongniartii</i> (salgueira-da-terra)	Zamiaceae		Peckolt & Peckolt, 1888

Ver também Mors *et al.* (2000).