



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FELIPE SANTANA DE SOUZA

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
TOXICIDADE ORAL AGUDA E ATIVIDADE ANTIESCORPIÔNICA DO
LÁTEX DE *Jatropha mutabilis* (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae) FRENTE À
PEÇONHA DE *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Buthidae)**

Recife

2025

FELIPE SANTANA DE SOUZA

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
TOXICIDADE ORAL AGUDA E ATIVIDADE ANTIESCORPIÔNICA DO
LÁTEX DE *Jatropha mutabilis* (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae) FRENTE À
PEÇONHA DE *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Buthidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas
Área de concentração: Sistemas Biológicos

Orientador (a): Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes
Coorientadores (as): Dr. Bruno Oliveira de Veras
Dr. René Duarte Martins

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Souza, Felipe Santana de.

Investigação fitoquímica, atividade antioxidante, toxicidade oral aguda e atividade antiescorpiônica do látex de *Jatropha mutabilis* (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae) frente a peçonha de *Tityus stigmurus* (Throell, 1876) (Buthidae) / Felipe Santana de Souza. - Recife, 2025.

99 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Orientação: Rafael Matos Ximenes.

Coorientação: Bruno Oliveira de Veras.

Coorientação: René Duarte Martins.

Inclui referências e anexos.

1. Plantas medicinais; 2. Caatinga; 3. Antiveneno; 4. Antinociceptivo; 5. Antiedematogênico. I. Ximenes, Rafael Matos. II. Veras, Bruno Oliveira de. III. Martins, René Duarte. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

FELIPE SANTANA DE SOUZA

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
TOXICIDADE ORAL AGUDA E ATIVIDADE ANTIESCORPIÔNICA DO
LÁTEX DE *Jatropha mutabilis* (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae) FRENTE À
PEÇONHA DE *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Buthidae)**

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas
Área de concentração: Sistemas Biológicos

Aprovada em: **30/07/2024**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Roberta Jeane Bezerra Jorge (Examinadora Externa)

Universidade Federal do Ceará

Dedico esse trabalho a Severina Santana da Silva.

AGRADECIMENTOS

A minha amada mãe, Severina Santana da Silva, pelos sacrifícios, apoio e compreensão durante todos os anos em que venho me dedicando aos estudos.

Ao professor e orientador Dr. Rafael Matos Ximenes por dividir seu conhecimento, amizade, companheirismo e paciência durante essa jornada.

Ao professor e coorientador Dr. Bruno Oliveira de Veras pela amizade, companheirismo e pelos ensinamentos durante esse percurso.

Ao professor e coorientador Dr. René Duarte Martins pelo apoio, amizade e aprendizado.

Aos meus amigos e companheiros de pesquisa, Dr. Meykson Alexandre, Dr. André Felipe, Dr. Nelson Lima e Mr. José Rivaldo, pela amizade, companheirismo e apoio durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa em Etnofarmacologia e fitoquímica.

Aos professores que compartilharam suas experiências e conhecimentos comigo durante toda minha jornada acadêmica.

Por fim, agradeço a Fundação Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), pela concessão da Bolsa de Pós-graduação (mestrado) e apoio no Desenvolvimento da pesquisa.

“O caminho para o progresso não é fácil nem rápido”.

Marie Curie.

RESUMO

O uso de plantas medicinais para o tratamento de picadas de escorpiões é comum na medicina popular de vários países. Essa abordagem pode ser considerada útil nos primeiros socorros para o escorpionismo, principalmente em comunidades onde o soro antiescorpiônico ou antiaracnídico não é acessível. *Jatropha mutabilis* (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae), popularmente conhecida como “pinhão-de-seda”, é uma planta endêmica do bioma Caatinga. O látex que exsuda do seu caule é utilizado por populares em casos de envenenamento por animais peçonhentos e para cicatrização de feridas. Desta forma, este trabalho determinou o perfil fitoquímico do látex de *J. mutabilis* (JmLa) e avaliou a atividade antioxidante, toxicidade oral aguda e atividade antiescorpiônica frente à peçonha de *Tityus stigmurus* (TstiV). O perfil fitoquímico do JmLa obtido por HPLC-ESI-qTOF revelou a presença de 75 compostos, pertencentes às classes de peptídeos cíclicos, megastigmanos glicosilados, compostos fenólicos, flavonoides, alcaloides, cumarinas, terpenoides, dentre outros. Para a atividade antioxidante, o JmLa apresentou IC₅₀ de 43,66 ± 1,26 µg/mL para o teste do radical DPPH⁺ e de 842,32 ± 50,25 µg/mL ensaio do radical ABTS⁺. Nenhum sinal agudo de toxicidade foi observado na dose de 2.000 mg/kg (v.o.) durante os 14 dias de observação dos animais. Na avaliação da atividade anti-escorpiônica, observou-se nos ensaios de SDS-PAGE e sob o espectro UV-VIS que o JmLa interagiu com o perfil proteico de TstiV, inibindo totalmente as atividades fibrinogenolítica e hialuronidásica da peçonha. O látex também foi avaliado quanto à capacidade de neutralizar os efeitos locais do envenenamento, sob protocolos incubado, pré-tratamento e pós-tratamento, observando-se que sua capacidade máxima de redução da nocicepção em até 56% e o edema de pata em até 50% em relação ao grupo não-tratado. Conclui-se que o látex de *J. mutabilis* apresenta uma composição fitoquímica diversa, representada por inúmeras classes de metabólitos, mas sem apresentar efeitos tóxicos agudos em camundongos por via oral. Possui ainda a capacidade de inibir os efeitos enzimáticos *in vitro* do TstiV de reduzir a nocicepção e o edema na avaliação *in vivo*. Esses dados corroboram relatos populares sobre a atividade antiveneno dessa planta, além de indicar que o látex tem potencial para tratar o escorpionismo.

Palavras-chave: Plantas medicinais, Caatinga, Antiveneno, Antinociceptivo, Antiedematogênico.

ABSTRACT

Medicinal plants to treat scorpion stings are common in folk medicine in several countries. This approach can be considered useful as first aid for scorpion stings, especially in communities where antiscorpion or antiarachnid serum is unavailable. *Jatropha mutabilis* (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae), popularly known as “silk pine,” is a plant endemic to the Caatinga biome. The latex that exudes from its stem is used by locals in cases of envenomation by venomous animals and for wound healing. This study determined the phytochemical profile of the latex of *J. mutabilis* (JmLa) and evaluated its antioxidant activity, acute oral toxicity, and antiscorpion activity against the venom of *Tityus stigmurus* (TstiV). The phytochemical profile of JmLa obtained by HPLC-ESI-qTOF revealed the presence of 75 compounds belonging to the classes of cyclic peptides, glycosylated megastigmanes, phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, coumarins, terpenoids, among others. For antioxidant activity, JmLa presented an IC₅₀ of 43.66 ± 1.26 µg/mL for the DPPH⁺ radical test and 842.32 ± 50.25 µg/mL in the ABTS⁺ radical assay. No acute signs of toxicity were observed at a dose of 2,000 mg/kg (v.o.) during the 14 days of observation of the animals. In the evaluation of anti-scorpion activity, it was observed in the SDS-PAGE and UV-VIS spectrum assays that JmLa interacted with the protein profile of TstiV, completely inhibiting the fibrinogenolytic and hyaluronidase activities of the venom. The latex was also evaluated for its ability to neutralize the local effects of envenomation under incubation protocols, pre-treatment, and post-treatment, observing its maximum capacity to reduce nociception by up to 56% and paw edema by up to 50% compared to the untreated group. It is concluded that the latex of *J. mutabilis* has a diverse phytochemical composition, represented by numerous classes of metabolites, but does not present acute toxic effects in mice via the oral route. It also has the ability to inhibit the *in vitro* enzymatic effects of TstiV and reduces nociception and edema in the *in vivo* evaluation. These data corroborate popular reports about the antivenom activity of this plant, in addition to indicating that the latex has the potential to treat scorpion stings.

Key-words: Medicinal plants, Caatinga, Antivenom, Antinoceptive, Antiedematogenic.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1. Morfologia da ordem Scorpiones19

Figura 2. Porção final do metassoma de um escorpião do gênero *Tityus* visto sobre lupa. Destaque para o télson e aguilhão19

Figura 3. Escorpionismo no Brasil. Registros notificados no país entre os anos de 2013 à 2023 (A). Número de casos registrados entre as regiões do Brasil (B). Número de incidentes notificados nos estados da região Nordeste (C). Distribuição das principais espécies de importância médicas segundo o Ministério da Saúde nas regiões do Brasil (D-I) e o destaque para região Nordeste (D-II).....23

Figura 4. Escorpião *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Zona Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil).....24

Figura 5. Mapa da distribuição do escorpião *Tityus stigmurus* no Brasil. Os pontos vermelhos destacam a dispersão da espécie nos biomas espalhados nas regiões do Brasil. Dados do IBGE e GBIF25

Figura 6. Esquema das manifestações clínicas do envenenamento por escorpiões. 32

Figura 7. Espécie *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil) coleta do látex *in situ*.....39

Figura 8. Mapa da distribuição da espécie *Jatropha mutabilis* no Brasil. Os pontos amarelos destacam a dispersão da espécie nos biomas espalhados no nordeste do Brasil. Dados do IBGE e GBIF40

ARTIGO

Figura 1. Distribuição das espécies *Tityus stigmurus* e *Jatropha mutabilis* nos biomas dos estados brasileiros. (A) Distribuição das espécies em nível nacional, (B) Distribuição no estado de Pernambuco onde o estudo foi realizado, com destaque para as áreas de coleta (C).....46

Figura 2. Perfil cromatográfico do látex de <i>Jatropha mutabilis</i> obtido por análise HPLC-ESI-QToF.....	54
Figura 3. Análise SDS-PAGE (15%) da peçonha de <i>T. stigmurus</i> (TstiV). Na pista 1: Marcador de peso molecular (180, 130, 100, 70, 55, 40, 35, 25 e 15 kDa, respectivamente). Na pista 2: TstiV (153, 129, 71,3, 60,9, 45,7, 37,3, 35,4, 31, 27,5 kDa, respectivamente)	55
Figura 4. Inibição da atividade da hialuronidase da peçonha de <i>T. stigmurus</i> (TstiV) pelo látex de <i>J. mutabilis</i> (JmLa). O TstiV foi incubado sozinho (controle TstiV) ou com diferentes proporções de JmLa (peçonha: látex, m/m) por 30 min a 37°C. Dados expressos como média ± desvio padrão (DP) (n = 4). Letras minúsculas diferentes significam diferenças estatísticas em relação ao controle negativo. ANOVA unidirecional seguida de teste de Tukey. (p < 0,05).....	56
Figura 5. Inibição da atividade fibrinogenolítica da peçonha de <i>T. stigmurus</i> (TstiV) pelo látex de <i>J. mutabilis</i> (JmLa) por SDS-PAGE, 12,5%. (A) análise SDS-PAGE da atividade fibrinogenolítica do TstiV. 1- Fib representa o perfil de fibrinogênio. 2- Fib + TstiV representa a atividade fibrinogenolítica do TstiV. 3 a 6- TstiV + JmLa (m/m) 1:0,78, 1:1,56, 1:3,125 e 1:6,25, respectivamente (B) análise densitográfica do gel SDS-PAGE demonstrada em A.....	57
Figura 6. Interação entre o látex de <i>J. mutabilis</i> (JmLa) e a peçonha de <i>T. stigmurus</i> (TstiV). (A) análise SDS-PAGE 15% de TstiV e JmLa. 1- PM: Peso Molecular, 2- TstiV 240 µg, 3 a 6-TstiV + JmLa (m/m) 1:0,78, 1:1,56, 1:3,125 e 1:6,25, respectivamente, 7- JmLa 1,5 mg. (B) análise densitográfica do gel SDS-PAGE demonstrada em A	58
Figura 7. Interação entre a peçonha de <i>T. stigmurus</i> (TstiV) e látex de <i>J. mutabilis</i> (JmLa) analisado em UV-VIS. TstiV 0,8 mg/ml foi incubado com diferentes proporções de látex (m/m) durante 30 min a 37°C e analisado no espectro UV-VIS. Controles apenas para espectros da peçonha (0,8 mg/ml) e diferentes concentrações de látex (0,62, 1,25, 2,5, 5, 10 e 20 mg/ml) também foram analisados.	59
Figura 8. Inibição da atividade nociceptiva da peçonha de <i>T. stigmurus</i> (TstiV) pelo látex de <i>J. mutabilis</i> (JmLa) em protocolos de pré-incubação (A), pré-tratamento (B) e pós-tratamento (C). Letras minúsculas diferentes significam diferenças estatísticas quando	

comparado ao grupo controle TstiV na ANOVA two-way seguida do teste de Tukey. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) (n = 6/grupo).61

Figura 9. Inibição da atividade edematogênica da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) pelo látex de *J. mutabilis* (JmLa) em protocolos de pré-incubação, pré-tratamento e pós-tratamento. (A, C, E) Evolução temporal do edema. (B, D, F) Área sob a curva de tempo após 4 h (AUC 0-4h). Letras minúsculas diferentes significam diferenças estatísticas ($p > 0,05$) quando comparado ao grupo controle (TstiV) na ANOVA two-way seguida do teste de Tukey. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) (n = 6/grupo). 63

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1. Hospitais de Referência para Atendimento com Soroterapia em Pernambuco.34

Tabela 2. Manifestações clínicas e tratamento por soroterapia de acidentes escorpiônicos conforme os sintomas.....35

LISTA DE SIGLAS

ABTS – Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AUC – area under the curve (Área sob a Curva)

BPC – base peak chromatogram (Cromatograma de Pico Base)

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DPPH – 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

DTNs – Doença Tropical Negligenciadas

ECA – Enzima Conversora de Angiotensina

HPLC-ESI-QToF-MS – high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization and quadrupole time-of-flight mass spectrometry (cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à ionização por eletrospray e espectrometria de massa de tempo de voo quadrupolo)

IgG – Imunoglobulina G

IL-1 α – Interleucina 1 alfa

IL-1 β – Interleucina 1 beta

JmLa – *Jatropha mutabilis* Latex (Látex de *Jatropha mutabilis*)

LD₅₀ – median lethal dose (Dose letal média)

OMS – Organização Mundial da Saúde

PARNA Catimbau – Parque Nacional do Catimbau

PBS – Phosphate Buffered Saline (Solução salina tamponada com fosfato)

SAAr – Soro antiaracnídico

SAEcs – Soro antiescorpiônico

SDS-PAGE – Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio)

SINAN – Sistema de Informação de Agravos e Notificação

SISBIO – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

SUS – Sistema Único de Saúde

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa

TstiV – *Tityus stigmurus* Venom (Veneno de *Tityus stigmurus*) UV–

VIS – Ultraviolet–visible (Ultravioleta-visível)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 OBJETIVOS.....	17
1.1.1 Objetivo Geral.....	17
1.1.2 Objetivos específicos.	17
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1. Escorpiões.	18
2.2. Escorpionismo.....	20
2.3. <i>Tityus stigmurus</i>	24
2.4. Peçonha de <i>Tityus</i>	26
2.4.1. Peçonha de <i>Tityus stigmurus</i>	28
2.5. Manifestações clínicas do envenenamento.	30
2.6. Soroterapia e suas limitações.	32
2.7. Uso de Plantas medicinais.	35
2.7.1. Gênero <i>Jatropha</i> L. (Euphorbiaceae).	37
2.7.2. <i>Jatropha mutabilis</i> (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae).	38
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
3.1 ARTIGO 1:	
Potencial antiveneno do látex de <i>Jatropha mutabilis</i> Baill. (Euphorbiaceae) frente à peçonha de <i>Tityus stigmurus</i> : avaliando sua capacidade de neutralizar toxinas e efeitos locais em camundongos	41
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
5 SÚMULA CIRCULAR (2022 – 2024).....	84
REFERÊNCIAS.....	86
ANEXOS.....	95

1 INTRODUÇÃO

O escorpionismo é um problema de saúde pública em países de clima tropical e subtropical. E, devido ao alto número de ocorrências todos os anos, passou a ser considerada uma Doença Tropical Negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007). Na América do Sul, países como Colômbia, Argentina, Venezuela, Guiana Francesa e Brasil apresentam altos índices de acidentes com escorpiões (Chippaux; Goyffon, 2008; Gutiérrez et al., 2021; Siqueira et al., 2024). No Brasil, fatores como o grande território de dimensões continentais, a variedade de Biomas (Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pampa e Pantanal) (Amado et al., 2021), bem como problemas de saneamento básico e o crescimento desordenado dos centros urbanos (Duarte et al., 2024) permitiram a adaptabilidade de diversas espécies de grande importância médica, aumentando as chances de ocorrência de escorpionismo, que, apenas no ano de 2023, ultrapassam mais de 100.000 acidentes registrados, segundo o Sistema de Informação de Agravos e Notificação (SINAN) (Brasil, 2023; Guerra-Duarte et al., 2023). Entre as principais espécies de importância médica estão os escorpiões do gênero *Tityus* (Buthidae) (BRASIL, 2009), como *T. serrulatus*, *T. bahienses*, *T. obscurus*, *T. metuendus*, *T. sylvan*, *T. brazilae* e *T. stigmurus* com o maior número de casos registrados (Nencioni et al., 2018).

Na região Nordeste do Brasil, a segunda com maior número de casos registrados, *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Buthidae), conhecido popularmente como “escorpião amarelo do Nordeste” é a principal espécie de importância médica (Brasil, 2009; Furtado et al., 2020). A peçonha desta espécie é rica em compostos biologicamente ativos, como peptídeos de baixo peso molecular, neurotoxinas, aminas biogênicas, hipotensinas, metais, peptídeos ricos em cisteína, inibidores de proteases, hialuronidasas e metaloproteínases (Almeida et al., 2012; Carmo et al., 2014; Machado et al., 2015; Oliveira et al., 2018). Essa variabilidade de moléculas pode causar diferentes efeitos no organismo, incluindo efeitos citotóxicos e neurotóxicos. Em geral, os efeitos citotóxicos são provocados pela ação indireta das toxinas, que afetam a integridade da membrana celular. Já os efeitos neurotóxicos ocorrem principalmente no sistema nervoso autônomo, através da ação em canais iônicos sensíveis à voltagem, o que provoca um desequilíbrio no fluxo de íons, principalmente sódio (Na^+) e potássio (K^+), que têm seu gradiente eletroquímico alterado, o que altera a permeabilidade das membranas celulares. Além

disso, há um grande recrutamento de mediadores inflamatórios e neurotransmissores (Martin-Eauclaire et al., 2019; Mendes et al., 2023; Petricevich, 2010).

Em geral, as manifestações clínicas do envenenamento por *T. stigmurus* apresentam semelhanças com a peçonha de outros escorpiões, no entanto, os sintomas podem diferir, conforme a variabilidade de toxinas que estão sendo expressas na glândula do animal (Borges et al., 2020a; Borges et al., 2020b). Esses sintomas podem levar a manifestações clínicas locais (dor local intensa, formação de edema e eritema) e sistêmicas (arritmias cardíacas, alterações na pressão arterial, alterações visuais, sudorese, cefaleia, vômitos e diarreia) (Brasil, 2009; Reis et al., 2019). Atualmente, o tratamento para os sintomas classificados como moderados e grave do escorpionismo consiste na administração intravenosa de soro antiescorpião (SAEcs) ou soro antiaracnídico (SAAr) visando neutralizar a ação das toxinas na circulação sistêmica (Brasil, 2009), além do uso de suporte medicamentoso com fármacos analgésicos e anti-inflamatórios (Pucca et al., 2015). Apesar de ser o tratamento padrão, a soroterapia ainda apresenta uma série de limitações, incluindo a incapacidade de atingir a ampla variabilidade de toxinas específicas expressas em diferentes espécies, a redução da dor imediata após a picada, e os sintomas cardiovasculares do envenenamento (Chippaux; Goyffon, 2008; Pucca et al., 2015; Yamashita et al., 2020; Wiesel et al., 2024), além das implicações socioeconômicas, como as limitações na distribuição do tratamento em cidades de interior e zonas rurais, onde a maioria dos casos graves acontecem, assim, a população acaba recorrendo a outros tratamentos alternativos. Neste contexto, o uso de plantas medicinais aparece com um forte candidato por serem fontes naturais de moléculas inibidoras de toxinas e componentes farmacológicos que diminuem os sintomas do envenenamento, podendo contribuir na terapia complementar à soroterapia (Jorge et al., 2019; Magalhães et al., 2019).

O uso de plantas medicinais na medicina popular como tratamento primário para envenenamento por animais peçonhentos já foi descrito anteriormente (Carrera-Fernández et al., 2023; Nath; Mukherjee, 2023). O gênero *Jatropha* (Euphorbiaceae), cujas espécies são popularmente conhecidas como “Pinhão”, possui cerca de 175 espécies vegetais (Cavalcante; Santos; Almeida, 2020; Ramalho et al., 2017). Espécies como *J. gossypifolia*, *J. glandulifera* (SABANDAR et al., 2013), *J. multifida*, *J. podagrica* (Dharmadasa et al., 2016) e *J. curcas* (Shopo; Mapaya; Maroyi, 2022) já foram citadas na literatura devido ao uso popular como antiveneno. No entanto, as espécies acima

citadas, tiveram seus efeitos validados cientificamente para acidentes ofídicos (Félix-Silva et al., 2014; Félix-Silva et al., 2017; Gomes et al., 2016) sendo necessária uma investigação mais aprofundada para acidentes com escorpiões.

Jatropha mutabilis (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae), é uma espécie endêmica do bioma Caatinga no Brasil, com ampla distribuição na região semiárida do Nordeste, conhecida popularmente como “Pinhão de seda”, “Pinhão bravo” ou “Pinhão manso”. Esta planta arbustiva possui folhas pequenas, flores vermelhas alaranjadas e estames amarelos, sendo frequentemente encontrada em jardins, em cultivo isolado e até utilizada como sebe para fins ornamentais. Na medicina popular suas flores e folhas são utilizadas como depurativo e para constipação, e o óleo extraído das sementes é ingerido como vermífugo veterinário (Albuquerque et al., 2007). Estudos anteriores demonstraram a capacidade anti-inflamatória de *J. mutabilis*, com base no potencial antioxidante e fotoprotetor dos extratos etanólico e hidroalcólico das folhas (Costa et al., 2018), bem como na atividade expectorante e antitússica (Costa et al., 2020) também encontrada no extrato etanólico das folhas ou no Vitexina, flavonóide isolado dessa parte do vegetal. Além disso, a espécie também apresenta relatos do uso na medicina popular como antiveneno, atribuída ao seu látex/seiva obtido por meio de incisões em seu caule (Albuquerque et al., 2007). Contudo, não foram encontrados estudos que avaliaram suas propriedades antivenenos, composição fitoquímica ou segurança toxicológica.

Neste trabalho, investigamos o perfil fitoquímico, a atividade antioxidante, a toxicidade oral aguda e o efeito antiescorpiônico do látex de *Jatropha mutabilis* com relação as atividades enzimáticas de hialuronidase e fibrinogenolítica, interação direta com proteínas, e nos efeitos nociceptivos e edematogênicas da peçonha de *Tityus stigmurus*. Assim, elucidando os efeitos terapêuticos dessa espécie usada na medicina popular para o envenenamento por escorpiões.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Investigação do perfil fitoquímico e o potencial antiescorpiônico do látex de *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. frente à peçonha de *Tityus stigmurus* (Thorell 1876).

1.1.2 Específicos

- Obter o látex de *Jatropha mutabilis*;
- Determinar o perfil fitoquímico do látex;
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* do látex;
- Avaliar a toxicidade oral aguda do látex;
- Obter a peçonha de *Tityus stigmurus*;
- Determinar o perfil proteico da peçonha;
- Avaliar *in vitro* a capacidade do látex em neutralizar a peçonha;
- Avaliar a interação entre o látex e as proteínas presentes na peçonha;
- Estudar a capacidade do látex em neutralizar *in vivo* sintomas locais de envenenamentos induzidos pela peçonha.

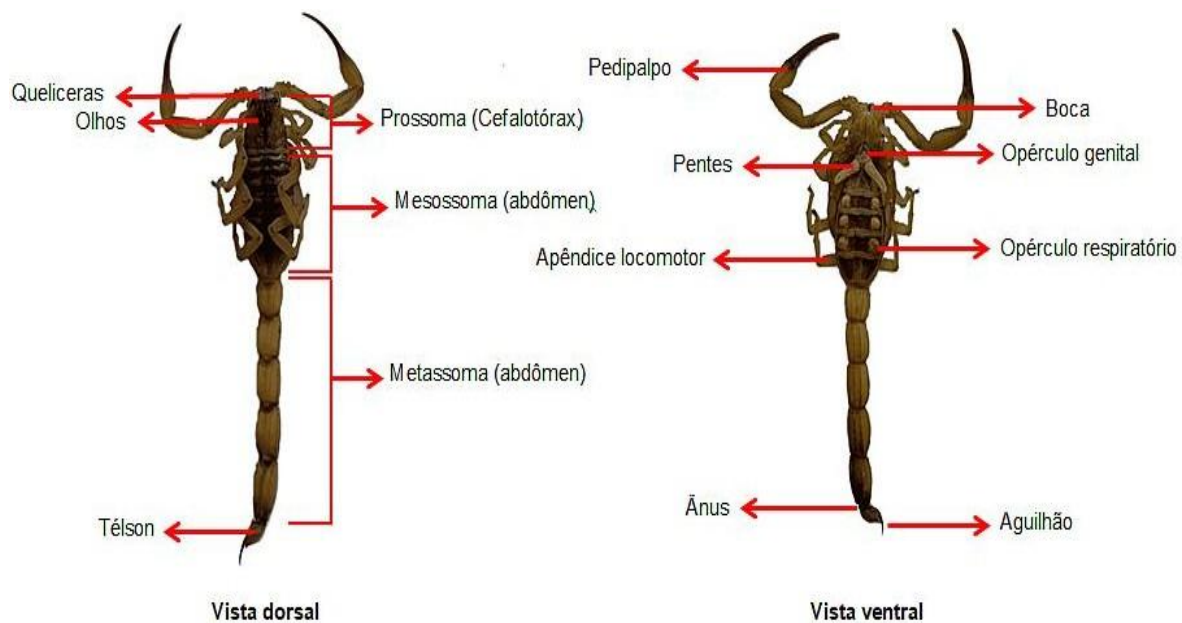
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Escorpiões

Os escorpiões são animais invertebrados do subfilo Chelicerata, como as aranhas, opiliões, amblipígijs, ácaros e carrapatos. Estes animais estão entre os aracnídeos mais antigos do planeta. Baseado nos registros fósseis, pesquisadores descrevem a presença dos primeiros Eurypterids (ancestrais da ordem Scorpiones) a partir do período Siluriano com aproximadamente 400 milhões de anos (Wendruff, 2020), onde conclui-se até então que os primeiros animais eram marinhos (Waddington; Rudkin; Dunlop, 2015). Embora também tenham sido encontrados fósseis em ambientes descritos como terrestres (Dunlop; Webster, 1999). Atualmente, a ordem Scorpiones habita apenas ambientes terrestres, são animais noturnos, com baixa visão, mas que conseguiram se espalhar em diferentes ambientes, como desertos, cavernas e florestas tropicais, e ambientes urbanos distribuídos por quase todos os continentes, com exceção dos polos (Marcussi et al., 2011).

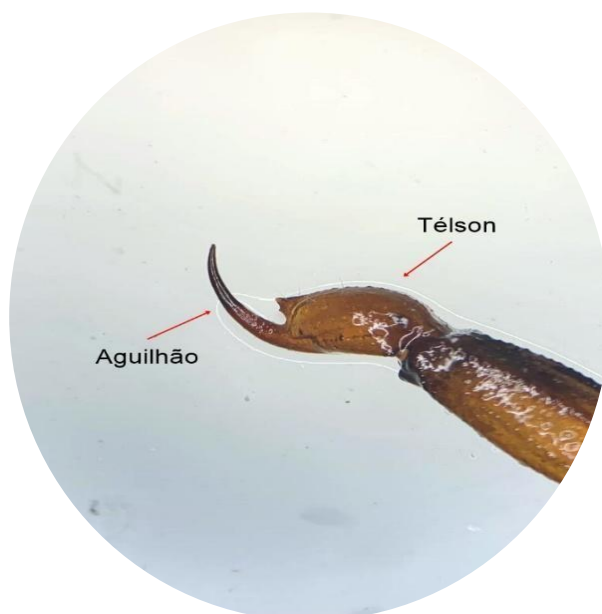
A morfologia das espécies de escorpiões atuais (Figura 1) divide o corpo destes animais em duas partes: cefalotórax ou prossoma – onde estão localizadas estruturas sensoriais como os olhos e os pentes ou pectíneas, que são um par de estruturas com função sensorial, mas que também são usadas em rituais de cortejo pelos machos, na limpeza do território, assim como no alerta contra predadores (produzindo um som semelhante a um gizo de cascavel); a boca, onde estão o par de quelíceras (estrutura comum dos quelicerados) usados para segurar e triturar as presas um par de pedipalpos usados tanto na captura de presas e valsa durante a cópula quatro pares de patas torácicas e o opérculo genital (usado na reprodução das espécies sexuadas); e o abdômen ou opistossoma, composto pelo mesossoma onde estão os órgãos viscerais, além dos espiráculos (aberturas respiratórias), e a porção do metassoma onde também estão presentes as vísceras, o ânus na porção final, assim como o télson responsável por abrigar o par de glândulas de veneno e o aguilhão ou ferrão (estrutura de inocular a peçonha) (Marcussi et al., 2021) (Figura 2).

Figura 1: Morfologia da ordem Scorpiones



Fonte: o autor, 2023.

Figura 2: Porção final do metassoma de um escorpião do gênero *Tityus* visto sobre lupa. Destaque para o télson e aguilhão.



Fonte: o autor, 2023.

Essa morfologia é considerada por alguns autores (Lourenço, 2018; Simone; Meijden, 2021) como um dos fatores responsáveis pela capacidade proliferativa e adaptativa dos escorpiões. Evolutivamente, os escorpiões mantiveram uma série de características morfológicas (exoesqueleto e controle sobre espiráculos) e comportamentais (alimentação generalista e comportamentos de captura passiva) que permitiram ao grupo ter menor gasto energético, maior adaptabilidade a ambientes estressantes, inclusive a coexistir em ambientes modificados pelo ser humano (Lourenço, 2018). Espécies como *Tityus serulatus* e *Tityus stigmurus* são exemplos de animais que apresentam a capacidade de se reproduzir através da partenogênese (Lourenço, 2008; Foerster et al., 2021), considerado como outro fator crucial na manutenção e proliferação em ambientes sinantrópicos. Além disso, embora esses aracnídeos se alimentem principalmente de insetos, a dieta dos escorpiões pode variar, havendo registros de captura de outros aracnídeos (Battirola et al., 2015), miriápodes (Rodríguez-Cabrera; Martínez-Muñoz; Teruel, 2015) e até pequenos vertebrados (Espinal; López; Mora, 2020), além dos registros de canibalismo (Lira; Albuquerque; De Souza, 2017) entre indivíduos da mesma espécie considerados como uma fuga de manter os nutrientes na escassez de presa.

2.2. Escorpionismo

Os acidentes pela picada de escorpiões são caracterizados por uma série de processos entre o envenenamento e as manifestações clínicas locais e sistêmicas desencadeadas pela ação das toxinas contidas na peçonha, que podem levar o indivíduo ao óbito (Albuquerque, 2004). Todos os anos, milhares de casos são relatados em países da África, Ásia, Oriente Médio e nas Américas. Em países, como o Irã, Paquistão, Índia, México, Brasil, Argentina e Colômbia, o escorpionismo passou a ser considerado um problema de saúde pública devido ao alto índice de ocorrências (Chippaux; Goyffon, 2008). Nestes países, além de fatores climáticos e ambientais favoráveis à sobrevivência dos escorpiões, há indícios de uma correlação significativa entre os altos índices de escorpionismo e fatores de vulnerabilidade social (Siqueira et al., 2024), sugerindo que fatores como o crescimento urbano desordenado, o baixo investimento nas condições de saúde pública e a baixa escolarização da população podem contribuir para o aumento do número de acidentes (Duarte et al., 2024). Nos grandes centros urbanos, por exemplo, o crescimento desproporcional possibilita a criação de microhabitats que servem de abrigo

para esses animais, assim como a falta de saneamento básico que atrai a presença de outras espécies que podem servir de alimento para os escorpiões (Amado et al., 2021, Duarte et al., 2024). Desta forma, visto a situação anteriormente mencionadas, bem como as limitações clínicas e socioeconômicas no tratamento padrão disponível que não contemplam toda a população do país, a Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a considerar o escorpionismo como uma Doença Tropical Negligenciada (OMS, 2007).

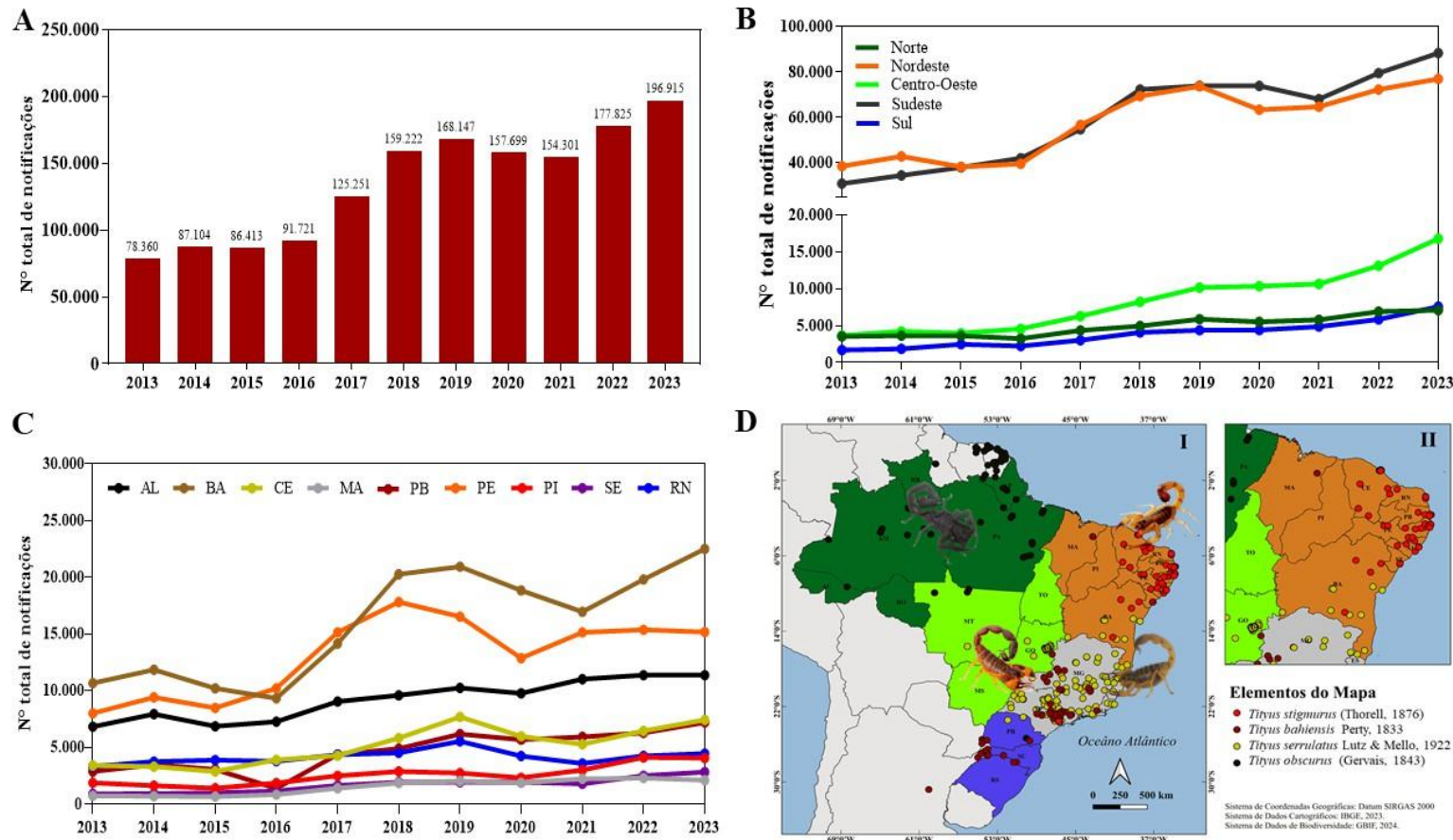
No Brasil, os acidentes com escorpiões representam cerca de 53% dos acidentes causados por animais peçonhentos, e os efeitos tóxicos causados pelo envenenamento podem variar conforme as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes (Brasil, 2009). Em geral, casos clínicos considerados leves são mais frequentes, porém há casos em que as complicações clínicas podem evoluir para a classificação severa, onde os pacientes podem vir a óbito (Chippaux; Goyffon, 2008; Guerra-Duarte et al., 2023). A maioria dos registros epidemiológicos apontam que alguns grupos estão mais propensos a desenvolver casos clínicos severos, como os indivíduos em faixas etárias pediátricas e idosos, indivíduos do sexo feminino, indivíduos com comorbidades como hipertensão, problemas cardíacos e imunodeprimidos, além de indivíduos que vivem em condições de vulnerabilidade social, como pobreza, moradia inadequada e falta de acesso à saúde (Albuquerque et al., 2013; Amado et al., 2021; Siqueira et al., 2024).

Embora o escorpionismo tenha um baixo índice de letalidade (0,2%), dados do SINAN indicam uma alta incidência: cerca de 1.482.958 casos foram registrados e 1.092 óbitos entre os anos de 2013 a 2023 em todo o Brasil (Figura 3 A). Entre as regiões com maior número de notificações no país, estão as regiões Nordeste e Sudeste, com respectivamente 76.000 e 88.000 casos registrados no ano de 2023 (Figura 3 B). Na região Nordeste, os estados da Bahia, Pernambuco e Alagoas lideram nos casos registrados (Figura 3 C) (Machado et al., 2023).

Atualmente, é relatada a existência de 2.822 espécies de escorpiões catalogadas pelo mundo (Rein, 2024). E, embora todas as espécies sejam consideradas peçonhentas, nem todas são consideradas como espécies de importância médica. Essa denominação é atribuída a espécies que apresentam em sua peçonha toxinas potenciais capazes de causar danos à saúde humana. Segundo a literatura (Ward; Ellsworth; Nystrom, 2018; Nicola et al., 2024) cerca de 104 espécies de escorpiões são consideradas como espécies de importância médica, entre elas 101 pertencentes à família Buthidae, 2 a família

Hemiscorpiidae e 1 a Scorpionidae. Entre os principais gêneros estão *Androctonus*, *Buthus*, *Centruroides*, *Hemiscorpius*, *Hottentotta*, *Leirus*, *Odontobuthus*, *Parabuthus* e *Tityus*. No Brasil, são registradas quatro famílias de escorpiões, sendo elas as famílias Bothriuridae, Chactidae, Hormuridae e Buthidae com cerca de 27 gêneros (Bertani; Giupponi; Moreno, 2024). No entanto, as principais espécies de importância médica estão na família Buthidae, principalmente as espécies do gênero *Tityus*, que estão amplamente distribuídos pelo país, como as espécies *Tityus serrulatus*, *Tityus stigmurus*, *Tityus bahiensis* e *Tityus obscurus* (Figura 3 D). Outras espécies, como *Tityus metuendus*, *Tityus sylvan*, *Tityus brazilae*, *Tityus fasciolatus* e *Tityus mattogrossensis* também já tiveram registros de acidentes no país (Nencioni et al., 2018).

Figura 3. Escorpionismo no Brasil. Registros notificados no país entre os anos de 2013 à 2023 (A). Número de casos registrados entre as regiões do Brasil (B). Número de incidentes notificados nos estados da região Nordeste (C). Distribuição das principais espécies de importância médica segundo o Ministério da Saúde nas regiões do Brasil (D-I) e o destaque para região Nordeste (D-II).



Fonte: SINAN (adaptado), 2023.

2.3. *Tityus stigmurus*

O escorpião *Tityus stigmurus* (Figura 4) é uma espécie pertencente à família Buthidae é conhecido popularmente como escorpião-amarelo-do-nordeste. *Tityus stigmurus* apresentam uma coloração amarelo-alaranjada, com um triângulo negro no prossoma e uma faixa longitudinal mediana negra no mesossoma, além de um espinho sub-aculear no télson (comum ao gênero *Tityus*) (Marcussi et al., 2011). Esses escorpiões medem cerca de 4 a 7 cm na fase adulta, são animais vivíparos ou ovovivíparos, com dimorfismo sexual, se reproduzindo sexualmente através da fecundação da fêmea com o espermatóforo do macho ou assexuadamente, onde as fêmeas realizam a reprodução partenogenética (Foerster et al., 2021). A espécie é endêmica da região Nordeste do Brasil (Figura 5) com registro de distribuição nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe (Brasil et al., 2009), na ilha de Fernando de Noronha (Freitas; Vasconcelos, 2008) e algumas notificações também no estado de São Paulo (BERTANI et al., 2018). Esta espécie ocorre principalmente em ambiente urbano, apresentando hábitos sinantrópicos que lhe permitem sobreviver a ambientes perturbados, porém alguns espécimes também são encontrados em zonas rurais.

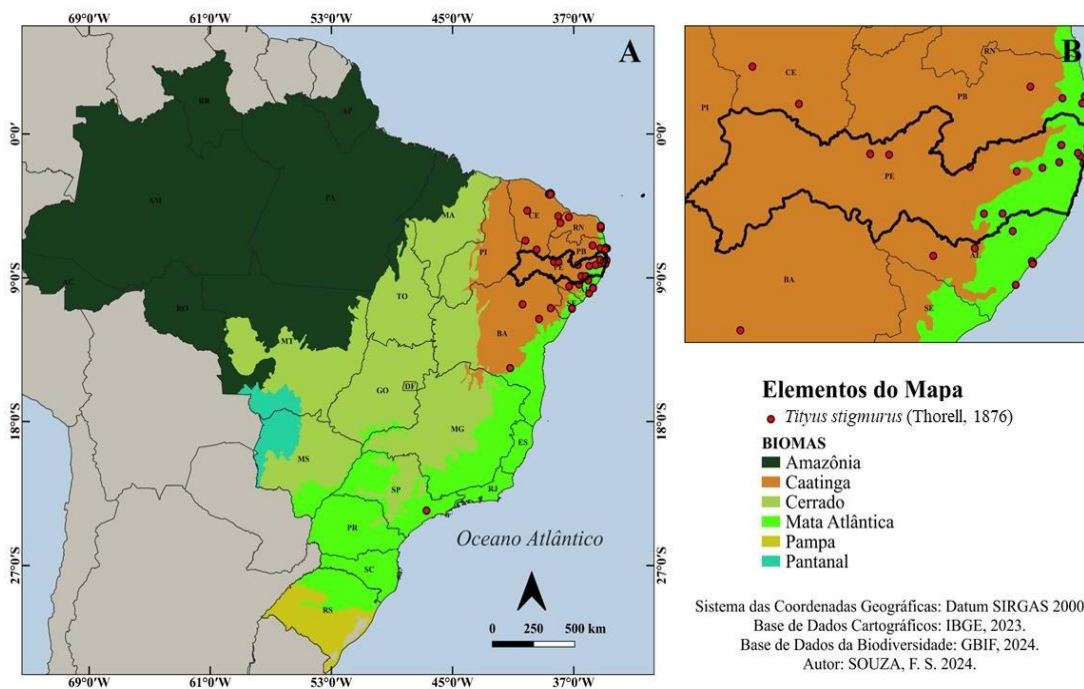
Figura 4: Espécime de *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Zona Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil).



Fonte: o autor, 2023.

Dentre as espécies do gênero *Tityus*, *Tityus stigmurus* é considerado uma das principais espécies de relevância médica no Brasil (Ward; Ellsworth; Nystrom, 2018). Graças à sua adaptação aos ambientes urbanos, capacidade de reprodução e à riqueza de biomoléculas presentes em sua peçonha. O envenenamento causado pela espécie pode causar diversos sintomas, tais como: dor, parestesia, edema e eritema, vômito, dor abdominal, sonolência, sonolência, tremor, agitação, náusea, cefaleia, dispneia, bradicardia e taquicardia (Lira-Da-Silva; Amorim; Brasil, 2000), os quais podem comprometer a saúde do indivíduo. Além disso, assim como os acidentes causados por *Tityus serrulatus* e *Tityus bahiensis*, os acidentes por *Tityus stigmurus* podem apresentar manifestações clínicas leves, moderadas ou graves que podem evoluir para óbito, em alguns casos (Albuquerque et al., 2013).

Figura 5: Distribuição do escorpião *Tityus stigmurus* no Brasil. Distribuição nos estados da federação (A). Distribuição no estado de Pernambuco (B). Os pontos vermelhos destacam a dispersão da espécie nos biomas espalhados nas regiões do Brasil. Dados do IBGE e GBIF.



Fonte: IBGE (adaptado), 2024.

2.4. Peçonha de *Tityus*

A peçonha dos escorpiões é uma secreção complexa, rica em moléculas biologicamente ativas. Essa secreção é produzida e armazenada por um par de glândulas localizadas em uma estrutura na porção final do metassoma, denominada télson (Figura 2). O processo de liberação dessa secreção ocorre de forma controlada após a contração da musculatura e injetada pelo aguilhão (estrutura aculear localizada no final do télson) (Meijden; Coelho; Rasko, 2015; Nassini; Hayes, 2015). Essa liberação está relacionada na maioria dos casos a imobilização de presas que são relativamente maiores que o animal ou que apresentem algum grau de dificuldade para serem capturadas (Silva et al., 2019), assim como em situações em que o animal tenha que se defender contra predadores (Gangur et al., 2017).

De modo geral, a peçonha dos escorpiões apresenta um padrão filogenético semelhante, sendo compostas por componentes proteicos e não proteicos. Entre os não proteicos são encontrados os sais, metais, lipídeos, nucleotídeos e água. Os componentes proteicos podem ser enzimáticos, como fosfolipases, L-amino ácido oxidases, proteases (metaloproteinases e serinoproteinases), hialuronidases e mucoproteínas, ou não enzimáticos, como peptídeos com ponte dissulfeto que abrangem diversas toxinas que atuam em canais iônicos dependentes de voltagem, e peptídeos sem ponte dissulfeto como peptídeos potencializadores de bradicinina e peptídeos antimicrobianos (Oliveira et al., 2018; Cid-Uribe et al., 2019; Borges et al., 2020).

O gênero *Tityus*, por exemplo, com mais de 200 táxons descritos é um dos principais gêneros de importância médica. E, devido a essa importância médica em vários países das Américas Central e do Sul, vários estudos ao longo da última década utilizaram esse gênero como modelo para os estudos ômicos da glândula de diferentes espécies do gênero, a fim de identificar a variabilidade do arsenal de moléculas e as respostas fisiopatológicas expressas no envenenamento (Batista et al., 2007; Borges et al., 2020; Díaz et al., 2023). De acordo com estudos anteriores, várias classes de moléculas foram identificadas nas peçonhas desses animais, porém, entre as mais abundantes estão os peptídeos com ponte dissulfeto, como toxinas de canais iônicos, que desempenham um importante papel nas respostas neurotóxicas do envenenamento. Diferentes moléculas desta classe foram elucidadas, como, por exemplo, as neurotoxinas isoladas da peçonha de *Tityus serrulatus*: Ts1→Ts16, Ts19 Frag-I e Frag-II, Ts17→Ts19 e Ts20, consideradas

moléculas importantes devido a sua capacidade seletiva de interação com os canais iônicos de Na⁺, K⁺, Cl⁻ e Ca⁺ que possibilita uma interferência na permeabilidade da membrana celular (Marcussi et al., 2011). Assim como os peptídeos isolados Tst26 isolado da peçonha de *Tityus stigmurus* por Papp et al. (2009) que demonstrou um potencial bloqueador específico por canais de potássio e a Tst1 uma β -toxina com afinidade a canais de sódio isolado por Mata et al. (2023) que demonstrou capacidade de mudar a voltagem de ativação e inativação em estado estável para estados mais hiperpolarizados e alterou a recuperação da inativação dos canais. A espécie *Tityus bahiensis*, outra espécie de importância médica também teve toxinas isoladas, a Tb V-4 que demonstrou efeito tóxico sobre o hipocampo de ratos causando alterações comportamentais, aumentando o fluxo de cálcio e exibindo alguns padrões que se assemelham a ataques epiléticos (Ossanai et al., 2012) e a Tb II-I que ao ser injetado também no hipocampo de roedores induz um aumento nas concentrações de dopamina, provocando uma série de alterações no sistema nervoso dos animais e induzindo ataques epiléticos (Emidio; Ivo; Abrahao, 2022).

Esse amplo arsenal de moléculas é referenciado como um dos principais responsáveis por possibilitar diferentes respostas fisiopatológicas nas vítimas de acidentes. Além disso, apesar dos táxons apresentarem um conservado padrão de expressão fenotípica nos grupos de toxinas, esses componentes podem ser expressos nas glândulas das diferentes espécies de forma variável, podendo ser geneticamente silenciada ou expressa de forma mais significativa, a depender de fatores intraespecíficos e interespecíficos aos animais, como a variação entre espécies, gênero, família, dimorfismo sexual e estágio de vida, hábitos alimentares, área geográfica habitável, condições ambientais e a relação com predadores (Bridges et al., 1997; Pucca et al., 2014; Oliveira et al., 2018; Tobassum et al., 2018; Solano-Godoy et al., 2021).

Essas mudanças expressivas na peçonha têm intensificado estudos com esses escorpiões (Estrada-Gómez et al., 2017; Borges et al., 2020; Díaz et al., 2023; Kalapothakis et al., 2024) não apenas pelo interesse em isolar os componentes de suas peçonhas, mas também, para determinar as implicações dessas variações nos casos de escorpionismo e na resposta do tratamento. Nestes estudos, a atividade biológicas das diferentes classes de enzimas como hialuronidases, fosfolipases e proteases, em geral, assim como os peptídeos com afinidade a canais iônicos foram investigados, a partir disso, os autores discorrem como essa variação pode refletir na fisiopatologia do

envenenamento, a letalidade nos seres humanos e as limitações no tratamento (Borges et al., 2020; Wiezel et al., 2024), onde em alguns casos não conseguem contemplar algumas respostas e fazendo-se necessárias mudanças no tratamento como identificado e discutidos em outros casos de envenenamento por animais como acidentes ofídicos (Gutiérrez et al., 2017; Gutiérrez; R. Casewell; Laustsen, 2024).

2.4.1 Peçonha de *Tityus stigmurus*

A peçonha de *Tityus stigmurus*, embora não tão elucidada quanto a peçonha de *Tityus serrulatus*, foi objeto de uma série de estudos que descrevem quimicamente algumas classes de moléculas relevantes. Técnicas proteômicas e transcriptômicas permitiram identificar certos grupos de moléculas como, peptídeos antimicrobianos, lisozimas, aminas biogênicas, toxinas de canais iônicos, peptídeos aniônicos, metaloproteinases, hialuronidases, peptídeos ricos em cisteína e lectinas (Batista et al., 2007; Almeida et al., 2012).

Entre esses grupos de moléculas, as toxinas de canais iônicos (Na^+ , K^+ , Cl^- e Ca^{2+}), toxinas de canais de sódio (β -NaTx e α -NaTx) e potássio (α -KTx e β -KTx) são as mais abundantes na peçonha (Almeida et al., 2012). Essa classe de toxinas são fundamentais na atividade citotóxica da peçonha, pois são capazes de interagir diretamente com os canais iônicos sensíveis à voltagem, responsáveis pela passagem seletiva dos íons entre os meios intracelular e extracelular a favor do gradiente eletroquímico (Mendes et al., 2023). A ação dessas toxinas interfere na permeabilidade da membrana celular através do desequilíbrio no processo de despolarização e repolarização da membrana, desencadeando uma liberação massiva de neurotransmissores, como acetilcolina, catecolaminas, aminas e peptídeos (Wiezel et al., 2024). A eficácia da ação dessas toxinas, se deve, sobretudo, à ação conjunta sobre a membrana, pois, enquanto as α -toxinas prolongam o tempo de despolarização do canal iônico, as β -toxinas provocam uma alteração no seu limiar de ativação, sendo, portanto, as principais responsáveis pelos principais efeitos neurotóxicos do envenenamento (Furtado et al., 2020). Outras classes de moléculas em maior representatividade, encontradas na peçonha de *Tityus stigmurus* importantes no processo de envenenamento, são as metaloproteinases, as hialuronidases e as hipotensinas.

As metaloproteinases correspondem à maioria dos componentes proteolíticos da peçonha de escorpiões. A maioria dessas proteases é metzincinas, ou seja, utilizam o zinco (Zn) como cofator no sítio ativo para executar sua função proteolítica. Como as hialuronidases, as metaloproteinases têm uma atividade citotóxica indireta associada com a degradação dos componentes da matriz extracelular, facilitando a ação de outros grupos de toxinas (Bittenbinder et al., 2024). A ação das metaloproteinases também é associada com fatores de incoagulabilidade sanguínea, ou seja, que podem levar a processos hemorrágicos (Oliveira et al., 2022). Isso é possível devido à ação das metaloproteinases sobre fatores de coagulação sanguínea, como na hidrólise das cadeias α e β do fibrinogênio da corrente sanguínea, resultando na formação de coágulos de fibrina fracos e incoaguláveis (Girón et al., 2013; Cavalcante et al., 2013).

As hialuronidases, também conhecidas como “fator de propagação” são enzimas que têm entre 40 à 50 kDa e facilitam a ação de outras toxinas no envenenamento (Guerra-Duarte et al., 2023). A ação dessas enzimas ocorre principalmente na diminuição da integridade da membrana celular, facilitando a difusão das toxinas no tecido, através da hidrólise dos glicosaminoglicanos (ácido hialurônico) nos tecidos conjuntivos, facilitando assim o envenenamento sistêmico (Pessini et al., 2001). Além disso, o produto da degradação do ácido hialurônico atua como um fator de sinalização para o recrutamento de mediadores inflamatórios, como o óxido nítrico.

As hipotensinas são peptídeos que atuam como potencializadores de bradicinina, porém, não apresentam atividade inibitória sobre a enzima conversora de angiotensina (ECA) (Ortiz et al., 2015). Essa classe de moléculas vem sendo explorada nos estudos de peptídeos que foram identificados na peçonha de *T. stigmurus* (Almeida et al., 2012). A TistH é um exemplo desses peptídeos que foi sintetizado (Machado et al., 2015) e demonstrou uma potencialidade na atividade hipotensora de bradicinina, induzindo vasorelaxamento, através da liberação de óxido nítrico.

A peçonha de *Tityus stigmurus*, assim como de outros escorpiões, demonstra respostas fisiopatológicas significativas identificadas em ensaios pré-clínicos. Em seus achados, Silva et al (2016) descreve a capacidade da peçonha de *T. stigmurus* em causar danos renais em ratos *wistar*. Neste estudo, a ocorrência de envenenamento em rins isolados revelou uma elevação temporária da pressão de perfusão renal (PP) e da resistência vascular renal (RVR). Essa elevação aumentou o fluxo urinário (UF) e a

excreção de eletrólitos, o que indica lesão tubular renal, assim como a indução de lesão glomerular leve e lesões tubulares diretas moderadas, o que contribuem para a disfunção renal observada. Segundo os autores, esse dano teve a ação principalmente das aminas biogênicas na peçonha, que podem causar vasoconstrição intrarrenal, exacerbando ainda mais os danos nos rins. A peçonha também demonstrou a capacidade de induzir danos genéticos, conforme observado por Silva et al. (2020). Após o envenenamento pela peçonha de *T. stigmurus*, camundongos da linhagem *swiss* apresentaram danos genéticos significativos nas células sanguíneas e testiculares, evidenciados pelo ensaio cometa e pelo teste do micronúcleo. Esses danos foram observados também em alterações no número de células espermatogênicas nos túbulos seminíferos, diminuindo especificamente, o número de espermátides arredondadas (RS) significativamente em 1, 2 e 48 horas após o tratamento, enquanto o número de espermátides alongadas (ES) aumentou nas primeiras horas, embora com uma redução no tamanho nuclear. O estudo indicou que a peçonha pode causar distúrbios reprodutivos, afetando particularmente as espermatogônias, que são essenciais para o desenvolvimento dos espermatozoides. E sugere que os efeitos da peçonha não são apenas agudos, mas também podem levar a problemas reprodutivos crônicos, devido aos danos genéticos observados e à apoptose nas células espermatogênicas.

2.5. Manifestações clínicas do envenenamento

As manifestações clínicas resultantes do processo de envenenamento pela picada de escorpiões podem ser variáveis, de acordo com fatores relacionados aos animais como variação na espécie, idade, sexo, localização geográfica e padrão nutricional (Bridges et al., 1997; Pucca et al., 2014; Oliveira et al., 2018; Tobassum et al., 2018; Solano-Godoy et al., 2021). Assim como, fatores relacionados a vítima, como idade, sexo, estado de saúde do paciente podem influenciar na evolução do envenenamento. Esses sinais clínicos são resultantes da ação do amplo espectro de toxinas presentes na peçonha que desempenha papéis distintos e que ao mesmo tempo se complementam no desequilíbrio da homeostase (Figura 6) (Nicola et al., 2024).

De maneira geral, os sintomas são usualmente classificados em três níveis de acordo com o grau de complicações clínicas apresentadas pelo paciente após o envenenamento: casos leves, moderados e graves (Brasil, 2009). A evolução desses

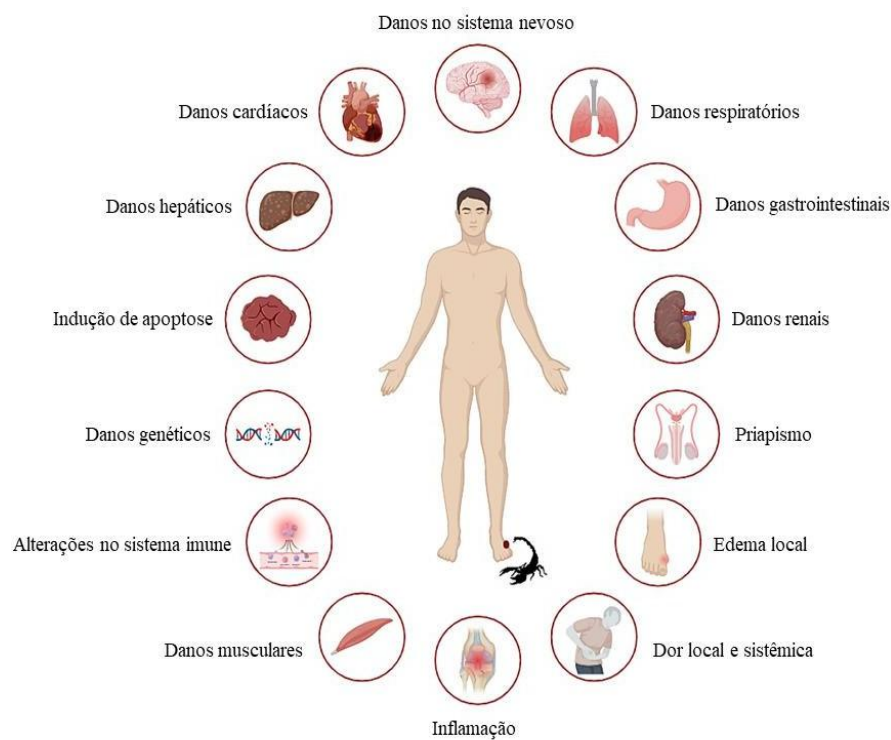
sintomas pode ser apresentada entre 4 - 7 minutos após a inoculação intravenosa da peçonha, geralmente mais intensos na primeira hora, com possibilidade de serem prolongados de acordo com o grau de toxicidade e danos causados (Nicola et al., 2024).

Os efeitos locais do envenenamento por escorpiões estão associados aos relatos clínicos leves. Em geral, a promoção desses sintomas é ocasionada pela ação das toxinas no sistema nervoso autônomo, como as toxinas com afinidades a canais iônicos dependentes de voltagem que promovem a despolarização das proteínas canais presentes da membrana celular, a hipersensibilidade local e o recrutamento de mediadores inflamatórios e neurotransmissores (Petricevich, 2010). Os efeitos citotóxicos indiretos pela ação enzimática de hialuronidases e metaloproteinases, por exemplo, que atuam sobre os efeitos locais, através da interação com componentes da matriz extracelular, causando desestabilização na integridade da membrana e possibilitando a disseminação de outras toxinas da peçonha (Bittenbinder et al., 2024). Além disso, a ação de peptídeos como as hipotensinas e aminas biogênicas como histamina que induzem os efeitos primários como dor intensa, vasorrelaxamento nos capilares sanguíneos pela ação de mediadores como espécies reativas de oxigênio (ROS) e o óxido nítrico (NO), promovendo a formação do edema e eritema nos locais da inoculação da peçonha (Nascimento et al., 2005; Machado et al., 2015; Reis et al., 2019). Essas manifestações podem ou não progredir para efeitos sistêmicos dependendo de fatores como a toxicidade da peçonha da espécie que causou o acidente, ou fatores relacionados ao estado de saúde do indivíduo.

Em alguns casos de escorpionismo, a peçonha que é inoculada na vítima consegue alcançar a circulação sistêmica devido à ação de enzimas facilitadoras (como as hialuronidases) (Oliveira-Mendes et al., 2019). Após alcançar a circulação sistêmica, as demais toxinas presentes na peçonha podem desencadear diferentes efeitos no organismo. Esses efeitos em geral estão associados a processos inflamatórios severos, mediante cascatas enzimáticas envolvendo a liberação de mediadores inflamatórios como, por exemplo, a produção massiva de citocinas (principalmente TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL 6 e IL 8), que estimulam um processo inflamatório crônico, choque, falência múltipla de órgãos e necrose (Petricevich, 2010). As múltiplas respostas sistêmicas apresentadas pelas vítimas podem estar associadas a mudanças hormonais com a massiva liberação de reguladores hormonais: catecolaminas, glucagon, cortisol, angiotensina II, diminuição nos níveis de insulina e aumento no nível de glucagon no sangue. Neurotoxinas na

peçonha podem interagir com o sistema nervoso central, causando alterações no sistema cardiorrespiratório (hipertensão, hipotensão arterial, taquicardia, bradicardia, insuficiência cardíaca ou respiratória, arritmias, parada respiratória, bradipneia e edema pulmonar), gastrointestinal (salivação, aumento da motilidade intestinal, dor abdominal, náuseas, vômito e pancreatite), imunológico (resposta inflamatória local e sistêmica, dor e vermelhidão), musculoesquelético (espasmos musculares e rigidez), renal (insuficiência renal aguda) e hematológico (hemólise, leucocitose com neutrofilia) (MARCUSSEI et al., 2011).

Figura 6. Esquema da sintomatologia geral do envenenamento por escorpiões.



Fonte: o autor, 2024.

2.6. Soroterapia e suas limitações

A soroterapia é a principal forma de tratamento para acidentes envolvendo animais peçonhentos em vários países. Esse tratamento foi citado pela primeira vez na França em 1894 (Calmette, 1894; Phisalix; Bertrand, 1894). No Brasil, Vital Brazil

Mineiro da Campanha (1901) foi pioneiro em estudos com específicos com antiveneno (Laustsen et al., 2018).

O soro antiescorpiônico é uma solução purificada de imunoglobulinas específicas da peçonha (IgG), onde doses da peçonha são inoculadas em animais (equinos ou caprinos), que produzem anticorpos contra as proteínas imunogênicas da peçonha (Carmo et al., 2015). O plasma separado do sangue desses animais é purificado até que haja a obtenção do anticorpo (IgG). Em seguida, é feita a clivagem da molécula IgG com a enzima pepsina ou papaína, removendo-se a fração Fc (alergênica) e utilizando apenas a fração F(ab')₂ (Chippaux, 2010). Esses passos de purificação se dão na tentativa de reduzir os riscos de reações alérgicas. Antes da finalização, o soro é submetido a ensaios microbiológicos e toxicológicos adequados (Gutiérrez, 2018; León et al., 2018).

No Brasil, as principais espécies de escorpiões utilizadas para a produção do soro são *Tityus serrulatus* e *Tityus bahiensis*. Essa produção, atualmente, ocorre em três instituições de pesquisa (Instituto Vital Brazil, Instituto Butantan e Fundação Ezequiel Dias) distribuição é feita pelo Ministério da Saúde para alguns centros de atendimento hospitalar dos estados que são vinculados ao Sistema Único de Saúde (SUS) (centros de atendimentos do estado de Pernambuco, Tabela 1), onde é utilizado no tratamento do escorpionismo por uma equipe médica treinada. A soroterapia é recomendada atualmente para os casos moderado a grave, consistindo na administração intravenosa do soro antiescorpiônico (SAEcs) para o tratamento de acidentes com escorpiões (gênero *Tityus*) ou antiaracnídico (SAAr), que abrange o tratamento de acidentes com aranhas e escorpiões (gênero *Loxosceles*, *Phoneutria* e *Tityus*) (Brasil, 2009; Marcussi et al., 2011) A aplicação do soro pode variar segundo a evolução do quadro clínico dos pacientes (Tabela 2) após o envenenamento, podendo variar no número de ampolas de antiveneno administrado com o grau de severidade dos sintomas apresentados. Em geral, os casos clínicos leves têm como foco principal o alívio da dor intensa, através da administração de analgésicos no local da picada ou por via oral.

Embora seja um procedimento comum em diversos países, capaz de diminuir efeitos sistêmicos e a letalidade do envenenamento, a soroterapia ainda apresenta limitações, incluindo a falta de eficácia em neutralizar efeitos locais como a dor após a inoculação da peçonha (Laustsen et al., 2018), reações alérgicas observadas em alguns casos (Sanaei-Zadeh, 2014), o alto custo de produção, dificuldade de transporte e

estocagem, prazo de validade e distribuição em cidades interioranas e zonas do campo. Além disso, poucas espécies de importância médica são utilizadas na produção do soro, o que pode resultar em uma resposta incompleta ou ineficiente do tratamento, limitando sua capacidade de neutralizar a peçonha de escorpiões menos estudados ou de regiões distintas, já que a peçonha desses animais possui uma grande variedade de toxinas, que variam de acordo com diversos fatores, como idade, sexo, dieta e distribuição geográfica, podem contribuir para diferentes respostas tóxicas no organismo (Borges et al., 2020). Portanto, abordagens complementares, como o desenvolvimento de tratamentos mais específicos para as toxinas de diferentes espécies e a vigilância epidemiológica mais robusta para identificar variações regionais no envenenamento por escorpião, se fazem necessários. Assim como, a investigação de tratamentos complementares que já são utilizados na medicina tradicional, como o uso de plantas medicinais, utilizados por muitas comunidades quando esse é o único recurso disponível para tratar o envenenamento (Jorge et al., 2019; Magalhães et al., 2019).

Tabela 1. Hospitais de Referência para Atendimento com Soroterapia em Pernambuco.

Município	Unidade de Saúde	Tratamento disponível
Afogados da Ingazeira	Hospital Regional Emília Câmara	SAEcS
Arcoverde	Hospital e Policlínica Rui de Barros Correia	
Caruaru	Hospital Mestre Vitalino	
Garanhuns	Hospital Dom Moura	
Goiana	Hospital Belarmino Correia	
Jaboatão dos Guararapes	Hospital Jaboatão Prazeres	
Limoeiro	Hospital Regional de Limoeiro	
Ouricuri	Hospital Regional Fernando Bezerra	
Palmares	Hospital Regional Sílvio Magalhães	
Petrolina	Hospital Universitário de Petrolina	
Recife	Hospital Dom Malan/IMIP	
Salgueiro	Hospital da Restauração	
Serra Talhada	Hospital Regional Inácio de Sá	
	Hospital Regional Professor Agamenon Magalhães	
Vitória de Sto. Antônio	Hospital João Murilo	

Fonte: Ministério da saúde (adaptado), 2024. SAEcs: soro antiescorpiônico.

Tabela 2. Manifestações clínicas e tratamento por soroterapia de acidentes escorpiônicos conforme os sintomas.

Antiveneno	Classificação Clínica	Nº de ampolas
SAEcs ou SAAr	Leve: Dor, Edema e Eritema	-
	Moderado: Dor local intensa, associada a uma ou mais manifestações sistêmicas (náusea, vômitos, sudorese, sialorreia)	2 a 3
	Grave: Manifestações clínicas moderadas mais algumas manifestações como vômitos profundos, sudorese profunda, prostração, convulsão, coma, bradicardia, insuficiência cardíaca, edema pulmonar agudo e choque.	4 a 6

Fonte: Ministério da saúde (adaptado), 2024. SAEcs: soro antiescorpiônico; SAAr: soro antiaracnidico.

2.7. Uso de Plantas medicinais

As plantas têm coexistido e sido parte importante da formação da civilização humana desde o início das primeiras tribos. Durante séculos, várias espécies de plantas foram utilizadas de diferentes formas pelos seres humanos, seja para manter a saúde física através da obtenção de nutrientes pela alimentação, saúde mental e espiritual por meio de rituais, ou até mesmo o uso em construções de abrigo, ferramentas e adornos (Davis; Choisy, 2024). Ainda assim, uma das práticas mais relevantes é o tratamento de enfermidades, seja com o uso de partes *in natura*, droga vegetal ou como precursores para a síntese de drogas, como a codeína e morfina, alcaloides analgésicos derivados de *Papaver somniferum* L. (papoula do ópio), atropina (antagonista muscarínico) isolada de *Atropa belladonna* L., e a cafeína obtida de *Coffea arabica* L. (Pirintsos et al., 2022; Domingo-Fernández et al., 2023).

O uso popular de plantas medicinais baseia-se principalmente na busca pelo alívio de sintomas ou cura de doenças. Os diferentes usos de plantas medicinais são resultantes da agregação de conhecimentos empíricos que foram transcendendo pela cultura de diferentes civilizações (Cartaxo et al., 2010; Saraiva et al., 2015; Domingo-Fernández et al., 2023; Davis; Choisy, 2024). Atualmente, apesar do progresso tecnológico na medicina e do aprimoramento de fármacos sintéticos, as plantas medicinais ainda são uma das principais formas de tratamento de doenças. Cerca de 80% da população mundial recorre a esses produtos naturais, sobretudo em comunidades agrícolas e populações originárias, por exemplo, povos indígenas (OMS, 2019; Davis; Choisy, 2024). E apesar de a maioria do uso dessas espécies estar bem estabelecida entre as comunidades, algumas plantas podem apresentar substâncias tóxicas aos seres humanos e apresentarem efeitos adversos. Por isso, ao longo dos anos foram sendo estabelecidas diretrizes para garantir a segurança biológica e controle de qualidade de produtos de origem natural. A resolução n.º 90, intitulada um “Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos” publicada em 2004 pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), visa estabelecer normativas e métodos padronizados para o estudo de toxicologia pré-clínica no Brasil (Brasil, 2004).

No Brasil, o uso de plantas medicinais é uma prática comum que foi construída, a partir de diferentes identidades culturais, entre elas as que foram herdadas pelos povos indígenas e pela influência dos diferentes povos europeus durante o processo de colonização (Braga, 2021). Além disso, a riqueza botânica presente na biodiversidade brasileira (mais de 20% do total existente no planeta) (Brasil, 2024) acabou possibilitando o tratamento de diferentes doenças. Nos estudos etnobotânicos, várias dessas espécies de plantas são utilizadas popularmente no tratamento de doenças, como dor, inflamação, tratamento de feridas, infecções microbianas e envenenamento (Saraiva et al., 2015). No entanto, muitos desses relatos possuem lacunas na elucidação das atividades biológicas, farmacológicas e diversidade de componentes químicos presentes na espécie, além da segurança de uso e toxicidade do material para que então possam ser investigadas para fins de explorar os princípios ativos para o desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos fitoterápicos. Exemplo disso, são espécies usadas popularmente no tratamento de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) como envenenamento por animais peçonhentos, como serpentes, aranhas, escorpiões etc.

Nas últimas décadas, parte importante dos estudos etnobotânicos, tem servido de base para a investigação de substâncias de origem vegetal, incluindo substâncias com potencial antiveneno (Butt et al., 2015; Saraiva et al., 2015). Devido às limitações nos tratamentos padrão e a riqueza de componentes químicos encontrados nas plantas, como taninos, flavonoides, fenóis, alcaloides, terpenoides, cumarinas e ligninas, várias espécies da flora brasileira tem sido alvo de investigação, já essas diferentes classes de metabolitos tem se mostrado promissoras na naturalização de atividades biológicas de peçonhas animais, através de mecanismos como a precipitando proteínas, inibição enzimática, modulando as respostas imunes e minimizando o estresse oxidativo (Mors et al., 2000; Adrião et al., 2022). Em estudos recentes, alguns grupos de plantas incluindo Asteraceae, Apocynaceae, Araceae, Fabaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Rubiaceae, Zingiberaceae e Euphorbiaceae (Liaqat et al., 2022) mostram-se promissoras candidatas ao tratamento complementar para o envenenamento por animais peçonhentos, devido a sua capacidade de diminuir o número de complicações pela ação das toxinas, assemelhando-se aos medicamentos já utilizados nos tratamentos padrão, e aparentemente com menos riscos de complicações e maior disponibilidade para a população.

2.7.1 Gênero *Jatropha* L.

O gênero *Jatropha* L. compõem a maioria das espécies descritas na família Euphorbiaceae, com cerca de 175 espécies (Kew Science, 2024), que estão distribuídas principalmente em países das Américas, Ásia e África, em regiões do semiárido tropical (Cavalcante et al., 2020). O gênero apresenta espécies com diferentes características botânicas, incluindo espécies arbóreas lenhosas, arbustivas, subarbustivas, suculentas e ervas. No Brasil, são encontradas cerca de 13 espécies: *J. bornmuelleri*, *J. breviloba*, *J. catingae*, *J. curcas*, *J. elliptica*, *J. gossypifolia*, *J. hastifolia*, *J. isabellei*, *J. molissima*, *J. mutabilis*, *J. ribifolia*, *J. stigmatica* e *J. weddeliana* (Souza e Silva et al., 2014). Estas espécies estão distribuídas principalmente nos biomas Caatinga e Cerrado, compreendendo a região do semiárido brasileiro, além de alguns registros em zonas de mata atlântica. No estado de Pernambuco, as espécies que aparecem com maior representatividade estão distribuídas principalmente no bioma caatinga: *J. gossypifolia*, *J. curcas*, *J. molissima*, *J. ribifolia* e *J. mutabilis* (Pimentel et al., 2012).

As espécies desse gênero são usualmente utilizadas em jardins como ornamento, além do uso alimentício e como fonte de energia (biocombustível) (Devappa; Makkar; Becker, 2010). Ainda assim, o principal uso está associado as propriedades curativas apresentadas no tratamento de diferentes enfermidades: processos inflamatórios, tratamento de feridas externas e úlceras gástricas, depurativo, antimalárico, anti-leishmanicida, gripe e acidentes com animais peçonhentos como serpentes e escorpiões (Sabandar et al., 2013). Muitas destas atividades biológicas e farmacológicas são descritas e correlacionadas à riqueza de metabólitos secundários que estão presentes nas espécies, como flavonoides, taninos, alcaloides, cumarinas, ligninas, terpenoides, esteroides, glicosídeos e peptídeos cíclicos (Cavalcante et al., 2020).

O uso popular de espécies do gênero *Jatropha* no envenenamento contra animais peçonhentos é uma prática comum. Várias espécies têm aparecido em relatos etnobotânicos, elas espécies como *J. gossypifolia*, *J. curcas*, *J. glandulifera*, *J. elliptica*, *J. molissima*, *J. multifida*, *J. podagrica*, e *J. mutabilis* (Lans et al., 2001; Albuquerque et al., 2007; Sabandar et al., 2013; Saraiva et al., 2015; Dharmadasa et al., 2016). Contudo, apenas as espécies *J. gossypifolia*, *J. curcas*, *J. elliptica*, *J. molissima*, *J. multifida* foram analisadas cientificamente com investigações etnofarmacológicas para essa atividade. Contudo, a maioria dos estudos foram destinado ao ofidismo (Félix-Silva et al., 2014; Félix-Silva et al., 2017; Gomes et al., 2016) sendo necessários estudos destinados a investigação do escorpionismo.

2.7.2. *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae)

Jatropha mutabilis (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) (sinônimo de *Adenoropium mutabile*) (Figura 7), conhecida popularmente como “Pinhão-de-seda” é uma espécie de porte arbustivo, com folhas pequenas, flores vermelho-alaranjadas e estames amarelos, endêmica do bioma Caatinga (hiperxerófila), encontrada em terreno arenoso, amplamente distribuída no Semiárido, ocorrendo em todos os estados da região Nordeste, predominante entre os estados de Pernambuco e Bahia (Figura 8) (Santos; Machado; Lopes, 2005). Esta espécie também é encontrada frequentemente em jardins para fins ornamentais e no cultivo em jardins para ser utilizada como medicamento. Estudos relatam o uso de suas folhas e flores, utilizadas popularmente como depurativo e anti-constipante, enquanto o óleo extraído de suas sementes é usado como vermífugo

veterinário (Albuquerque et. al., 2007). Em algumas investigações das propriedades biológicas de suas folhas, assume-se a espécie como um potencial candidato para uso como expectorante e antitússica, atividades atribuídas à vitexina, um importante flavonoide isolado do extrato etanólico das folhas (Costa et al., 2020). Outro uso dessa espécie na medicina popular está relacionado ao látex obtido por incisões no caule de *J. mutabilis*, usado como antiveneno (Albuquerque, 2007). No entanto, apenas relatos etnobotânicos, sem uma validação científica, deixam lacunas sobre a atividade biológica atribuída à espécie, seus constituintes químicos e sua segurança biológica, fazendo necessários estudos que elucidem melhor essas características propostas ao látex.

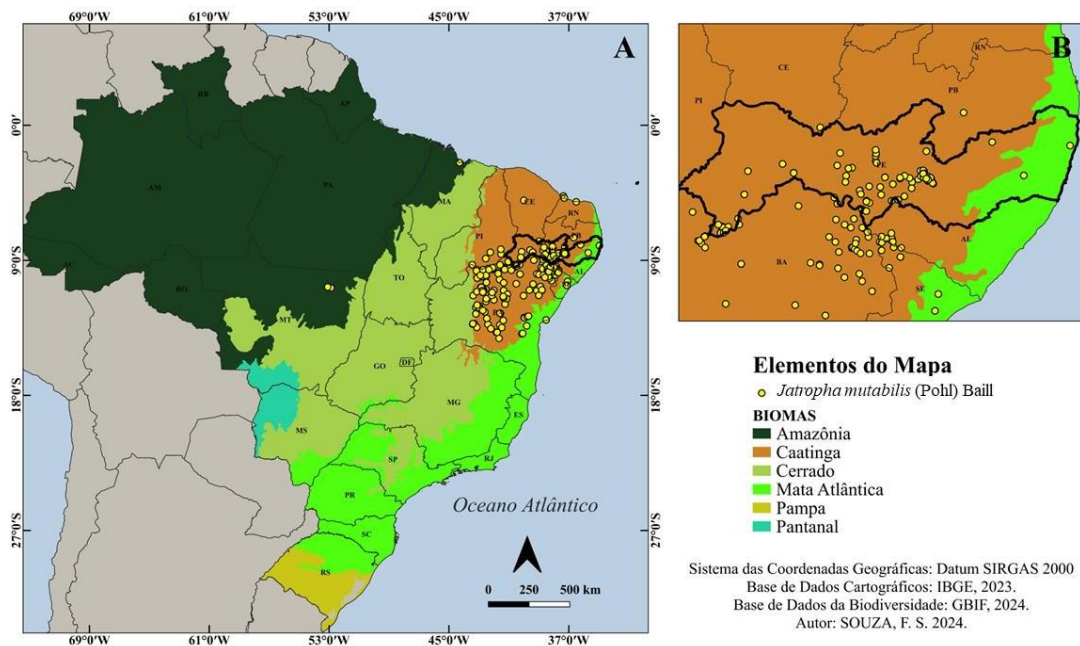
Nesta perspectiva, assumindo os relatos etnobotânicos da literatura como norteamento para o uso do látex de *J. mutabilis* como antiveneno, os objetivos deste estudo foram delineados, como apresentados no tópico citado anteriormente.

Figura 7. Espécime de *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil) coleta do látex *in situ*.



Fonte: o autor, 2022.

Figura 8. Distribuição da planta *Jatropha mutabilis* no Brasil. Distribuição nos estados da federação (A). Distribuição no estado de Pernambuco (B). Os pontos amarelos destacam a dispersão da espécie nos biomas espalhados nas regiões do Brasil. Dados do IBGE e GBIF.



Fonte: IBGE (adaptado), 2023.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados e discussão desta dissertação serão apresentados em formato de artigo:

3.1 ARTIGO 1

Link de acesso: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118642>

Journal of Ethnopharmacology 335 (2024) 118642



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jethpharm





Antivenom potential of the latex of *Jatropha mutabilis* baill. (Euphorbiaceae) against *Tityus stigmurus* venom: Evaluating its ability to neutralize toxins and local effects in mice

Felipe Santana de Souza^a, Bruno Oliveira de Veras^{a,b}, Lorena de Mendonça Lucena^c, Rosana Casoti^c, René Duarte Martins^d, Rafael Matos Ximenes^{a,*}

^a Laboratory of Ethnopharmacology and Phytochemistry, Department of Antibiotics, Center for Biosciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, 50740-525, Brazil

^b Department of Biochemistry, Center for Biosciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, 50670-420, Brazil

^c Laboratory of Natural Products and Metabolomics Analysis, Department of Antibiotics, Center for Biosciences, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, 50740-525, Brazil

^d Nucleus of Public Health, Academic Center of Vitória, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, 55600-600, Brazil

ARTICLE INFO

Handling Editor: V Kuete

Keywords:
Antivenom
Scorpionism
Caatinga
Nociception
Edema

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: Species of the *Jatropha* genus (Euphorbiaceae) are used indiscriminately in traditional medicine to treat accidents involving venomous animals. *Jatropha mutabilis* Baill., popularly known as “pinhão-de-seda,” is found in the semi-arid region of Northeastern Brazil. It is widely used as a vermifuge, depurative, laxative, and antivenom.

Aim of the study: Obtaining the phytochemical profile of the latex of *Jatropha mutabilis* (JmLa) and evaluate its acute oral toxicity and inhibitory effects against the venom of the scorpion *Tityus stigmurus* (TstIV).

Materials and methods: The latex of *J. mutabilis* (JmLa) was obtained through in situ incisions in the stem and characterized using HPLC-ESI-QToF-MS. Acute oral toxicity was investigated in mice. The protein profile of *T. stigmurus* venom was obtained by electrophoresis. The ability of latex to interact with venom components (TstIV) was assessed using SDS-PAGE, UV-Vis scanning spectrum, and the neutralization of fibrinogenolytic and hyaluronidase activities. Additionally, the latex was evaluated *in vivo* for its ability to inhibit local edematogenic and nociceptive effects induced by the venom.

Results: The phytochemical profile of the latex revealed the presence of 75 compounds, including cyclic peptides, glycosides, phenolic compounds, alkaloids, coumarins, and terpenoids, among others. No signs of acute toxicity were observed at a dose of 2000 mg/kg (p.o.). The latex interacted with the protein profile of TstIV, inhibiting the venom's fibrinogenolytic and hyaluronidase activities by 100%. Additionally, the latex was able to mitigate local envenomation effects, reducing nociception by up to 56.5% and edema by up to 50% compared to the negative control group.

Conclusions: The latex of *Jatropha mutabilis* exhibits a diverse phytochemical composition, containing numerous classes of metabolites. It does not present acute toxic effects in mice and has the ability to inhibit the enzymatic effects of *Tityus stigmurus* venom *in vitro*. Additionally, it reduces nociception and edema *in vivo*. These findings corroborate popular reports regarding the antivenom activity of this plant and indicate that the latex has potential for treating scorpionism.

Potencial antiveneno do látex de *Jatropha mutabilis* Baill. (Euphorbiaceae) frente à peçonha de *Tityus stigmurus*: avaliando sua capacidade de neutralizar toxinas e efeitos locais em camundongos

Felipe Santana de Souza^a, Bruno Oliveira de Veras^{a,b}, Lorena de Mendonça Lucena^c, Rosana Casoti^c, René Duarte Martins^d, Rafael Matos Ximenes^a *

^a Laboratório de Etnofarmacologia e Fitoquímica, Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50740-525, Brasil

^b Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50670-420, Brasil

^c Laboratório de Análise de Produtos Naturais e Metabolômica, Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 50740-525, Brasil

^d Núcleo de Saúde Coletiva, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil

Resumo

Relevância etnofarmacológica: Espécies do gênero *Jatropha* (Euphorbiaceae) são utilizadas indiscriminadamente na medicina tradicional para tratamento de acidentes envolvendo animais peçonhentos. *Jatropha mutabilis* Baill., popularmente conhecida como "pinhão-de-seda", é encontrada na região semiárida do Nordeste do Brasil e apresenta ampla utilização como vermífugo, depurativo, laxante e antiveneno.

Objetivo do estudo: Analisar o perfil fitoquímico do látex de *Jatropha mutabilis* (JmLa), avaliar a atividade antioxidante, toxicidade oral aguda e efeitos inibitórios contra a peçonha do escorpião *Tityus stigmurus* (TstiV).

Materiais e métodos: O látex de *J. mutabilis* (JmLa) foi obtido através de incisões *in situ* no caule e caracterizado por HPLC-ESI-QToF-MS. A atividade antioxidante foi avaliada pelos ensaios de eliminação de radicais DPPH⁺ e ABTS⁺, bem como pelo método do fosfomolibdênio. A toxicidade oral aguda foi investigada em camundongos. O perfil proteico da peçonha de *T. stigmurus* foi obtido por eletroforese. A capacidade do látex de interagir com os componentes da peçonha (TstiV) foi avaliada por meio de SDS-PAGE, espectro de varredura UV-VIS e neutralização das atividades fibrinogenolítica e

hialuronidase. Adicionalmente, o látex foi avaliado *in vivo* quanto à sua capacidade de inibir os efeitos edematogênicos e nociceptivos locais, induzidos pela peçonha.

Resultados: O perfil fitoquímico do látex revelou a presença de 75 compostos, incluindo peptídeos cíclicos, glicosídeos, compostos fenólicos, alcalóides, cumarinas e terpenóides, entre outros. JmLa demonstrou capacidade antioxidante total, além de ser capaz de reduzir os radicais ABTS⁺ e DPPH⁺. Não foram observados sinais de toxicidade aguda na dose de 2.000 mg/kg (v.o.). O látex interagiu com o perfil proteico do TstiV, inibindo em 100% as atividades fibrinogenolítica e hialuronidase da peçonha. Além disso, o látex foi capaz de atenuar os efeitos do envenenamento local, reduzindo a nocicepção em até 56,5% e o edema em até 50%, em comparação ao grupo controle negativo.

Conclusões: O látex da *Jatropha mutabilis* apresenta uma composição fitoquímica diversificada, contendo inúmeras classes de metabólitos. Apresentou capacidade antioxidante nos ensaios *in vitro*. Não apresenta efeitos tóxicos agudos em camundongos em administração oral e tem a capacidade de inibir os efeitos enzimáticos da peçonha de *Tityus stigmurus* *in vitro*. Além disso, reduz a nocicepção e o edema *in vivo*. Esses achados corroboram relatos populares sobre a atividade antiveneno desta planta e indicam que o látex tem potencial para tratar o escorpionismo.

Palavras-chave: Antiveneno; Escorpionismo; Caatinga; Nocicepção; Edema.

1. Introdução

O escorpionismo representa um desafio significativo para a saúde pública em vários países tropicais e subtropicais, incluindo Índia, México, África do Sul e Brasil (Chippaux; Goyffon, 2008), sendo reconhecido como uma Doença Tropical Negligenciada (DTN) pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007). No Brasil, são registrados anualmente cerca de 100 mil incidentes, destacando-se como um dos principais desafios do país em relação aos animais peçonhentos (Brasil, 2023; Guerra-Duarte et al., 2023). Entre as principais espécies de escorpiões de importância médica no Brasil estão aqueles pertencentes ao gênero *Tityus* (Buthidae). Estas incluem espécies como *T. serrulatus*, *T. bahienses* e *T. stigmurus*, que são as principais causas de acidentes (Brasil, 2009; Nencioni et al., 2018).

Tityus stigmurus (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae), comumente referido como o "escorpião-amarelo-do-Nordeste", é a espécie de maior importância médica no Nordeste do Brasil (Brasil, 2009; Furtado et al., 2020). A peçonha desta espécie constitui

uma mistura complexa de moléculas bioativas, incluindo peptídeos de baixo peso molecular, neurotoxinas, aminas biogênicas, hipotensinas, peptídeos ricos em cisteína, proteases e inibidores de metaloproteínas (Almeida et al., 2012; Carmo et al., 2014; Machado et al., 2015; Oliveira et al., 2018). Esses componentes exercem diversos efeitos, com ações farmacológicas sobre canais iônicos sensíveis à voltagem, alterações na permeabilidade da membrana celular, indução a recrutamento excessivo de mediadores inflamatórios e ativar neurotransmissores, entre outros (Mendes et al., 2023; Petricevich, 2010).

As manifestações clínicas do envenenamento por *T. stigmurus* incluem sintomas locais como dor intensa, formação de edema e eritema, além de sintomas sistêmicos como arritmias cardíacas, alterações na pressão arterial, distúrbios visuais, sudorese, cefaleia, vômitos e diarreia (Brasil, 2009; Reis et al., 2019). Atualmente, o tratamento do escorpionismo envolve a administração intravenosa de soro antiescorpiônico ou soro antiaracnídico visando neutralizar toxinas na circulação sistêmica (Brasil, 2009). Além disso, o manejo da dor é crucial, normalmente conseguido com analgésicos e antiinflamatórios (Pucca et al., 2015). Embora a soroterapia seja geralmente eficaz, ela ainda apresenta diversas limitações, incluindo a incapacidade de neutralizar prontamente os sintomas cardiovasculares do envenenamento (Chippaux; Goyffon, 2008; Pucca et al., 2015; Yamashita et al., 2020). Além disso, os fatores socioeconômicos têm impacto na distribuição do tratamento em zonas rurais e remotas onde o acesso à soroterapia pode ser limitado. Nessas áreas, tratamentos alternativos, como o uso de plantas medicinais, são frequentemente utilizados devido à falta de disponibilidade de opções de tratamento convencionais (Butt et al., 2015; Nath; Mukherjee, 2023).

Nas áreas rurais e remotas do Nordeste do Brasil, plantas medicinais do gênero *Jatropha* (Euphorbiaceae), comumente conhecido como "pinhão", são utilizadas para tratar envenenamentos. O gênero *Jatropha* é amplamente distribuído em regiões tropicais e algumas espécies são utilizadas como antiveneno na medicina tradicional de vários países. Espécies como *J. gossypifolia*, *J. glandulifera* (Sabandar et al., 2013), *J. multifida*, *J. podagrica* (Dharmadasa et al., 2016) e *J. curcas* (Shopo; Mapaya; Maroyi, 2022) foram documentados na literatura por seu uso empírico como antiveneno. No entanto, apenas algumas espécies foram investigadas cientificamente quanto à sua eficácia contra o envenenamento por escorpiões, com a maioria dos estudos focando em picadas de serpentes (Félix-Silva et al., 2014; Félix-Silva et al., 2017; Gomes et al., 2016).

Jatropha mutabilis (Pohl.) Baill. (Euphorbiaceae) é uma espécie endêmica nativa da Caatinga no Brasil, com ampla distribuição na região semiárida do Nordeste do Brasil comumente conhecida como "pinhão-de-seda", "pinhão-bravo" ou "pinhão-manso" pela população local e pelos praticantes. Caracteriza-se como um arbusto de folhas pequenas, flores vermelho-alaranjadas com estames amarelos. Muitas vezes encontradas em jardins para fins ornamentais e cultivadas para uso medicinal, suas flores e folhas são utilizadas na medicina tradicional como depurativo e no alívio da constipação, enquanto seu óleo de semente é utilizado no tratamento de parasitas intestinais na pecuária (Albuquerque et al., 2007). Estudos anteriores demonstraram a capacidade anti-inflamatória de *J. mutabilis*, com base no potencial antioxidante e fotoprotetor dos extratos etanólico e hidroalcolólico das folhas (Costa et al., 2018), bem como suas atividades expectorante (Costa et al., 2020), identificando a vitexina como seu composto ativo. Além disso, o látex exsudado de incisões em seu caule tem sido amplamente utilizado para cicatrização de feridas e como antiveneno para tratar picadas de serpentes, escorpião e aranha (Albuquerque et al., 2007; Agra et al., 2007; Trentin et al., 2011). Porém, faltam estudos que avaliem suas propriedades antivenenos, bem como sua composição fitoquímica e toxicidade.

Considerando que as espécies de *Jatropha* são utilizadas de forma intercambiável na medicina tradicional do Nordeste do Brasil para o tratamento de envenenamentos e que *J. mutabilis* não foi investigada quanto a essas propriedades, o presente estudo teve como objetivo obter o perfil fitoquímico do látex avaliar sua atividade antioxidante, toxicidade oral aguda e efeito antiveneno contra a peçonha de *T. stigmurus*.

2. Metodologia

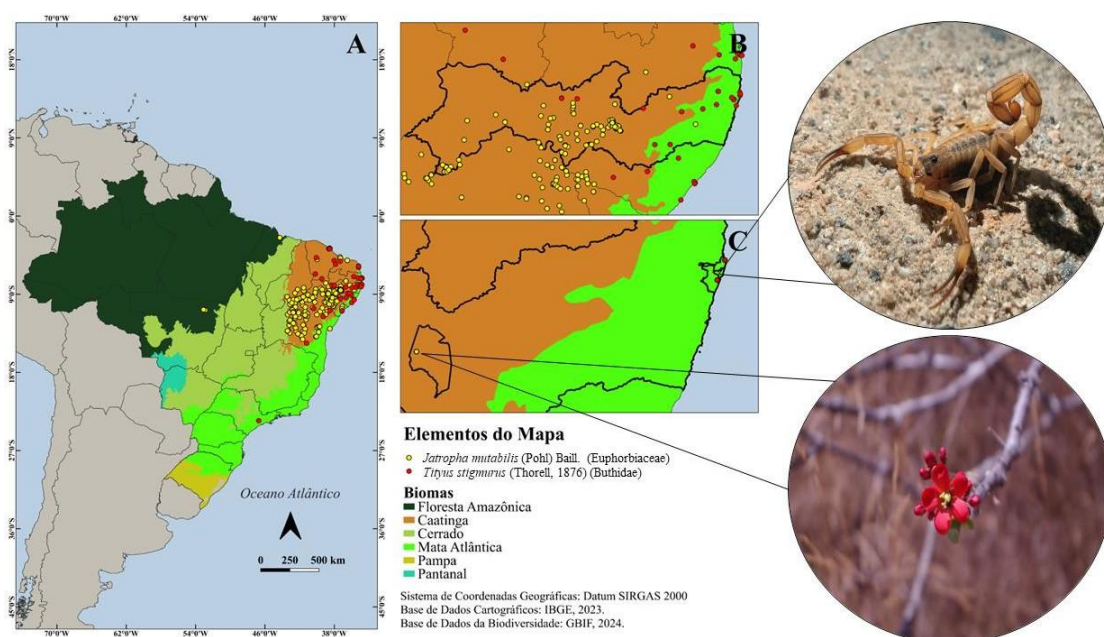
2.1 Material vegetal

O látex de *Jatropha mutabilis* Baill. (Euphorbiaceae) foi coletada *in situ* utilizando tubos estéreis de 50 ml após incisões feitas no caule, conforme descrito por populares locais. A coleta ocorreu em outubro de 2022 no Parque Nacional do Catimbau (PARNA Catimbau) (8°36'35" S, 37°14'40" O) (Figura 1), com autorização do Sistema Brasileiro de Autorização e Informação sobre Biodiversidade (SISBIO). (Processo nº: 80236-1). Um exemplar voucher foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA 95,317). Este estudo atende às diretrizes e legislações

nacionais e internacionais e está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (Processo nº: AB87A02).

Após a coleta, os tubos foram imediatamente armazenados a -20°C para transporte ao laboratório. O látex foi então filtrado e liofilizado, com seu rendimento calculado com base nos pesos seco e úmido (% = m/m).

Figura 1. Distribuição das espécies *Tityus stigmurus* e *Jatropha mutabilis* nos biomas dos estados brasileiros. (A) Distribuição das espécies em nível nacional, (B) Distribuição no estado de Pernambuco onde o estudo foi realizado, com destaque para as áreas de coleta (C).



2.2 Análise fitoquímica do látex *Jatropha mutabilis*

O perfil químico do látex de *Jatropha mutabilis* (JmLa) foi obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, HPLC (Nexera X2, Shimadzu, Japão) acoplada a um Espectrômetro de Massas composto por uma fonte de eletrospray e um analisador quadrupolo de Tempo de voo (Impact II, Bruker, MA, EUA).

O látex foi dissolvido em solução hidroetanólica (7:3, v/v) na concentração de 4 mg/mL e depois filtrado através de um filtro de seringa de 0,22 µm. Amostras de 20 µL foram injetadas por um amostrador automático. A análise cromatográfica do látex foi realizada em coluna Luna C-18 (250 x 3 mm, 3 µm – Phenomenex, CA, EUA) a 40 °C.

A vazão foi ajustada para 1 mL/min, com um sistema dividido de 0,2 mL/min. O programa de eluição gradiente foi o seguinte: solvente A = H₂O e solvente B = MeCN ambos com 0,1% de ácido fórmico; 0-30 min, 10-100% A e 30-35 min, 100% A para lavagem de coluna.

O espectrômetro foi operado com as seguintes configurações: a sonda de eletropulverização estava no modo de varredura completa de ionização positiva com uma faixa de massa de m/z 50–1200. A tensão de pulverização foi ajustada para 4,5 kV, as temperaturas do capilar e do forno foram de 300 °C. A análise dos dados foi realizada utilizando o software Data Analysis. A anotação dos compostos foi realizada referenciando todos os compostos químicos relatados para Euphorbiaceae e *Jatropha* no Scifinder (2024) e no Dicionário de Produtos Naturais – DNP (2024).

2.3. Atividade antioxidante de JmLa

2.3.1. Ensaio ABTS

A atividade antioxidante foi avaliada pelo ensaio ABTS (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), seguindo método descrito por De Veras et al. (2020). As medições foram realizadas em triplicado e as atividades de inibição foram determinadas com base na percentagem de ABTS⁺ removida. O ácido gálico serviu como referência padrão. A porcentagem de inibição (I%) foi calculada usando a fórmula:

$$I\% = \left(\frac{Ac - As}{Ac} \right) \times 100$$

Onde Ac é a absorvância do controle e As é a absorvância da amostra.

A concentração inibitória média (CI₅₀) foi determinada com base na regressão linear. Todos os ensaios foram realizados em quadruplicado para garantir a confiabilidade dos resultados.

2.3.2. Ensaio DPPH

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método de eliminação de radicais livres, que mediu a doação de hidrogênio, empregando o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) conforme descrito por De Veras et al. (2020). As medições foram realizadas em triplicado e as atividades de inibição foram determinadas com base na

porcentagem de DPPH removido, com o ácido gálico servindo como referência padrão. A porcentagem de inibição (I%) foi calculada utilizando a fórmula descrita em 2.3.1. A concentração inibitória média (CI₅₀) foi calculada com base na regressão linear. Todos os ensaios foram realizados em quadruplicado para garantir a precisão e confiabilidade dos resultados.

2.3.3. Capacidade antioxidante total

A Capacidade Antioxidante Total (CAT) foi determinada pelo método do fosfomolibdênio, seguindo protocolo de Prazeres et al. (2019). Este método baseia-se na redução de Mo⁶⁺ a Mo⁵⁺ pela amostra, resultando na formação de um complexo esverdeado. Tubos contendo amostras e reagentes (ácido sulfúrico 0,6 M, fosfato de sódio 28 mM e molibdato de amônio 4 mM) foram incubados a 100°C por 90 minutos. Após a incubação, as absorvâncias de cada solução foram medidas a 695 nm contra um branco, que não tinha adição de amostra. O ácido ascórbico serviu como padrão de referência. A capacidade antioxidante total (TAC%) foi calculada pela fórmula:

$$TAC \% = \left(\frac{As - Ac}{Aaa - Ac} \right) \times 100$$

Onde Ac é a absorvância do controle, As é a absorvância da amostra e Aaa é a absorvância do ácido ascórbico.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e a concentração inibitória média (CI₅₀) de TAC foi determinada por meio de regressão linear. Para garantir a confiabilidade, todos os ensaios foram realizados em quadruplicado.

2.4. Animais

Camundongos *Swiss* (*Mus musculus*) de ambos os sexos, pesando entre 30 e 35 g com idade entre 6 e 8 semanas, foram obtidos no Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os animais foram mantidos em condições padrão, incluindo temperatura controlada (22 ± 2 °C), umidade (45% a 65%) e ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a comida e água. Os protocolos experimentais envolvendo animais seguiram as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). A aprovação prévia do projeto foi obtida do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE sob Protocolo nº 101/2022.

2.5. Toxicidade oral aguda

O teste de toxicidade oral aguda foi realizado em camundongos fêmeas de acordo com a Diretriz de Teste 425 da OCDE (OCDE, 2022). Três camundongos receberam uma dose oral única de 2.000 mg/kg de JmLa diluído em PBS (pH 7,4). Os animais foram monitorados aos 30, 60, 120, 180 e 240 minutos pós-tratamento e diariamente durante 14 dias quanto a potenciais sinais de toxicidade.

2.6. Peçonha dos escorpiões

A peçonha de *Tityus stigmurus* (TstiV) foi obtida pelo método de eletroestimulação das glândulas de veneno de 100 escorpiões (Oukkache et al., 2013). Esses escorpiões foram coletados no período noturno (19h às 22h) pelo método de busca ativa (luz UV e pinça de dissecação anatômica de 30 cm) na região metropolitana do Recife (23° 39' 09" S, 46° 42' 03" O), Pernambuco, Brasil (Figura 1), com autorização do Sistema Brasileiro de Autorização e Informação sobre Biodiversidade (SISBIO) (Processo nº: 63945-5). Os animais foram aclimatados em laboratório por 30 dias, e sua peçonha foi coletada por meio de tubos capilares (sem heparina) e ressuspensão em água ultrapura gelada. A coleta da peçonha foi realizada durante um período de 6 meses (sem substituição dos animais). Após a coleta, a peçonha foi centrifugada por 10 min a 10.000 g e 4 °C. O sobrenadante foi coletado, liofilizado e armazenado a -20°C. Para fins de teste, o *pool* de peçonha foi solubilizada em PBS (pH 7,4).

2.7. Quantificação de proteínas totais e SDS-PAGE da peçonha

A concentração total de proteínas da peçonha foi determinada utilizando o kit Pierce BCA Protein Assay (Thermo Scientific, MA, EUA), seguindo as instruções do fabricante. A amostra foi analisada em quadruplicata, com albumina sérica bovina utilizada para criar a curva padrão.

O perfil eletroforético proteico da peçonha foi obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE) com géis de poliacrilamida 15% (Laemmli, 1970) sob condições redutoras (Tris-HCl 1,5 M, 10% v/v glicerol, 10% glicerol v/v β-mercaptoetanol, 2% p/v SDS e 0,05% p/v azul de bromofenol, pH 8,8) usando o Mini-Protean Tetra System (Bio-Rad®, CA, EUA). TstiV (240 µg, 30 µL) foi incubado com tampão Laemmli a 100°C durante 8 minutos. Posteriormente, o gel foi

submetido à eletroforese a 100 V e 20 mA durante 1 hora e 30 minutos. O gel foi então corado com Coomassie G-250. A massa molecular relativa das proteínas foi comparada com o peso molecular comercial PageRuler® Prestained Protein Ladder, 10 a 180 kDa (Thermo Scientific, MA, EUA).

2.8. Atividade antiescorpiônica *in vitro* do látex

2.8.1. Inibição da atividade da hialuronidase

A atividade hialuronidase da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) foi determinada turbidimetricamente utilizando ácido hialurônico como substrato, conforme descrito anteriormente (Venancio et al., 2013; Guerra-Duarte et al., 2019). Inicialmente, foi determinada a concentração mínima (0,54 – 70 µg) de TstiV capaz de hidrolisar completamente todo o ácido hialurônico (0,5 mg/mL) (dados não mostrados). Para o ensaio de inibição da hialuronidase, 2,18 µg/50 µL de TstiV foram incubados com 50 µL de diferentes proporções de JmLa nas proporções de 1:0,78, 1:1,56, 1:3,12, 1:6,25, 1:12,5, 1:25 e 1:50 (peçonha: látex, m/m) (100 µL de volume total) por 30 minutos a 37 °C. Após o período de incubação, uma alíquota de 70 µL de cada amostra foi retirada e misturada com 30 µL de ácido hialurônico para perfazer um volume final de 100 µL. A mistura foi então incubada durante 1 h a 37°C. O ácido hialurônico em PBS (pH 7,4) serviu como branco (ácido hialurônico intacto), enquanto o TstiV com ácido hialurônico serviu como controle positivo (representando 100% de atividade de hialuronidase). A reação enzimática foi interrompida pela adição de 200 µL de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) a 2,5% em NaOH a 2%. As leituras de absorvância foram realizadas a 405 nm utilizando um leitor de microplacas (xMark™, Bio-Rad®, CA, EUA). Os resultados foram expressos como % de atividade da hialuronidase, relatados como média ± desvio padrão (DP). Todos os ensaios foram realizados em quadruplicado.

2.8.2. Inibição da atividade fibrinogenolítica

A inibição do fibrinogenolítico foi avaliada seguindo o protocolo descrito por Carmo et al. (2014). TstiV (60 µg/30 µL) foi incubado com 30 µL de diferentes proporções de JmLa nas proporções de 1:0,78, 1:1,56, 1:3,12, 1:6,25, 1:12,5, 1:25 e 1:50 (peçonha: látex, m/m) durante 30 min a 37 °C. Alíquotas (50 µL) foram então incubadas com 2 mg/mL (dissolvidos em solução contendo 10% de citrato de sódio e 15% de NaCl) por 4 horas a 37 °C. Após o período de incubação, a reação enzimática foi interrompida

pela adição de tampão Laemmli e aquecimento a 100°C por 5 minutos. O fibrinogênio em PBS (pH 7,4) serviu como controle (fibrinogênio intacto), enquanto o TstIV com fibrinogênio serviu como controle positivo (representando 100% de atividade fibrinogenolítica). Os produtos da reação foram analisados por SDS-PAGE utilizando géis a 12,5% a uma corrente constante de 20 mA durante 2 h. Posteriormente, os géis foram corados com Coomassie Brilliant Blue G-250 e analisados por densitografia. As imagens do gel foram capturadas utilizando o sistema Gel Doc EZ (Bio-Rad®, CA, EUA) e analisadas com o software Image Lab versão 4.

2.8.3. Interação entre peçonha e látex em SDS-PAGE

As interações entre as proteínas TstIV e o látex de *J. mutabilis* foram avaliadas por SDS-PAGE utilizando géis a 15% conforme descrito por Moura et al. (2018). Para o ensaio, diferentes proporções de JmLa 1:0,78, 1:1,56, 1:3,125, 1:6,25 (peçonha: látex, m/m) foram incubadas com TstIV (240 µg/mL) por 30 min a 37 °C. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 6.000 rpm por 10 s e o sobrenadante foi coletado. O sobrenadante foi então submetido à desnaturação em tampão Laemmli (Tris-HCl 1,5 M, 10% v/v de glicerol, 10% v/v de β-mercaptoetanol, 2% p/v de SDS e 0,05% p/v de azul de bromofenol, pH 8.8) e aquecido a 100°C durante 5 minutos. TstIV (240 µg/mL) e JmLa (1,5 mg/mL), ambos em PBS (pH 7,4), foram utilizados como controles. As amostras foram então analisadas por SDS-PAGE utilizando géis a 15% a uma corrente constante de 20 mA durante 1 h e 30 min. Os géis foram corados com Coomassie Brilliant Blue G-250 e analisados por densitografia. As imagens do gel foram capturadas utilizando o sistema Gel Doc EZ (Bio-Rad®, CA, EUA) e analisadas com o software Image Lab versão 4.

2.8.4. Interação entre peçonha e látex no espectro UV-VIS

As interações entre os componentes do TstIV e o látex de *J. mutabilis* foram observadas por espectrofotometria UV-Vis (Srinivasa et al., 2014). TstIV (0,8 mg/mL) foi incubado a 37°C por 30 min com proporções crescentes de JmLa (1:0,78, 1:1,56, 1:3,125, 1:6,25, 1:12,5, 1:25) (peçonha: látex, m/m). TstIV (0,8 mg/ml) e diferentes concentrações de JmLA (0,62, 1,25, 2,5, 5, 10 e 20 mg/ml), todos diluídos em PBS (7,4 pH), foram utilizados como brancos de absorbância. Em seguida, os espectros UV-Vis das amostras foram obtidos por varredura de comprimentos de onda entre 190 e 320 nm.

2.9. Atividade antiescorpiônica *in vivo* do látex

2.9.1 Protocolo de tratamento e doses administradas

Os animais foram divididos em grupos ($n=6/\text{grupo}$) para serem submetidos a três diferentes protocolos de tratamento: 1) pré-incubados: o TstiV foi pré-incubado com JmLa nas proporções de 1:0,78, 1:6,25 e 1:50 (peçonha: látex, m/m) por 30 minutos a 37 °C. Após a incubação, 50 μL das amostras foram injetadas na pata traseira direita dos camundongos; 2) pré-tratamento: os camundongos foram pré-tratados por via oral (v.o) com JmLa nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, uma hora antes da inoculação de TstiV (3 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$) na pata traseira direita; 3) pós-tratamento: camundongos foram inoculados com TstiV (3 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$) na pata traseira direita e imediatamente tratados com JmLa nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o.). Em todos os protocolos de tratamento, os camundongos receberam 50 μL de PBS (pH 7,4) na pata traseira esquerda como controle de volume. Camundongos inoculados com TstiV (3 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$) na pata traseira direita e tratados oralmente com PBS foram utilizados como controle para a atividade da peçonha.

2.9.2 Inibição da atividade nociceptiva

A nocicepção induzida pelo TstiV foi avaliada medindo-se o tempo gasto pelos animais lambendo as patas, seguindo protocolo descrito na literatura com adaptações (Nascimento et al., 2005). Os camundongos foram inoculados com TstiV e tratados conforme descrito em 2.9.1. Imediatamente após a inoculação, os animais foram transferidos para uma câmara de observação (gaiola de acrílico 15 x 15 x 20 cm equipada com espelho de 45° abaixo da base) e observados por 30 minutos. O(s) tempo(s) que os animais passaram lambendo, mordendo, tremendo ou protegendo a pata injetada foram registrados e expresso como média $\pm$ desvio padrão.

2.9.3 Inibição da atividade edematogênica

A atividade edematogênica da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) foi avaliada utilizando o modelo de edema de pata, conforme descrito anteriormente na literatura com adaptações (Severino et al., 2008; Santos-da-Silva et al., 2017). Os camundongos foram inoculados com TstiV e tratados conforme descrito em 2.9.1.

Imediatamente após a inoculação, os animais foram transferidos para uma câmara de observação (gaiola de acrílico 15 x 15 x 20 cm equipada com espelho de 45° abaixo

da base) e observados por 30 minutos. O(s) tempo(s) que os animais passaram lambendo, mordendo, tremendo ou protegendo a pata injetada foi registrado e expresso como média $\pm$ desvio padrão. O inchaço da pata foi medido 0,5, 1, 2, 3 e 4 horas após a inoculação usando um micrômetro eletrônico digital (0 – 25 mm, resolução 0,001 mm). A diferença entre as patas traseiras direita e esquerda expressou o aumento do volume (mm), relatado como média $\pm$ desvio padrão. Além disso, a área sob a curva (AUC) de 0,5 a 4 horas (AUC 0,5-4h) foi calculada utilizando a regra trapezoidal.

2.10. Análise estatística

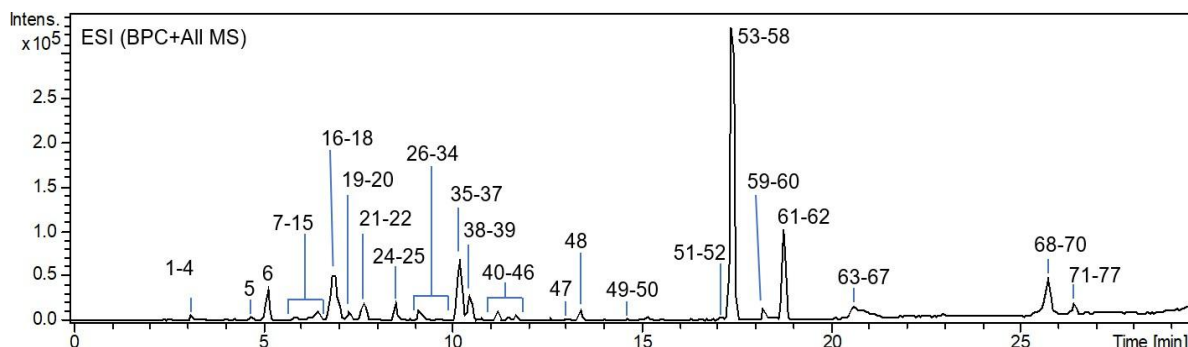
Os dados foram analisados utilizando o software Prism® versão 8.4.3 (GraphPad, CA, EUA). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o teste ANOVA unidirecional ou ANOVA bidirecional, seguida de pós-teste de Tukey-Kramer. Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP), e a significância estatística considerada quando $p < 0,05^*$.

3. Resultados

3.1. Perfil fitoquímico de JmLa

O perfil fitoquímico qualitativo do látex de *Jatropha mutabilis* (JmLa) foi analisado por HPLC-ESI-QToF-MS em modo positivo. A Figura 2 mostra o Cromatograma de Pico Base (BPC) de JmLa, onde 75 compostos foram supostamente identificados com base em pesos moleculares precisos e dados de literatura para a família e gênero botânico. A Tabela S1 (Material Suplementar) lista o tempo de retenção, m/z, fórmula química, classe de compostos e identificações putativas de 75 compostos. Entre os compostos identificados estavam compostos fenólicos, incluindo flavonóides, bem como terpenóides, alcalóides, peptídeos cíclicos e glicosídeos cardíacos. O pico de maior intensidade (Figura 2, 53-58) continha peptídeos cíclicos (orbitídeos) e glicosídeos megastigmano do tipo oblongionosídeo.

Figura 2. Perfil cromatográfico do látex de *Jatropha mutabilis* obtido por análise HPLC-ESI-QToF.



3.2. Capacidade antioxidante de JmLa

Diferentes ensaios foram realizados para determinar a atividade antioxidante do JmLa. O resultado da capacidade antioxidante total de redução do fosfomolibdênio apresentou valor de CI_{50} de $307,93 \pm 39,28 \mu\text{g/mL}$. A atividade sequestradora de radicais DPPH⁺ apresentou um valor de CI_{50} de $43,66 \pm 1,26 \mu\text{g/mL}$. A eliminação do radical ABTS⁺ apresentou valor de CI_{50} de $842,32 \pm 50,25 \mu\text{g/mL}$. Enquanto os valores de CI_{50} dos padrões para os respectivos ensaios foram $500,00 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$, $14,74 \pm 0,63 \mu\text{g/mL}$ e $140,91 \pm 15,69 \mu\text{g/mL}$.

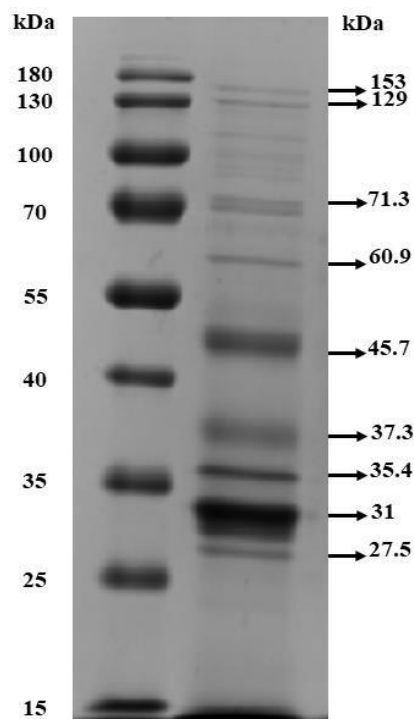
3.3. Toxicidade oral aguda

Camundongos administrados com JmLa na dose de 2.000 mg/kg (v.o.) não apresentaram mortalidade ou quaisquer sinais de toxicidade, incluindo alterações comportamentais. Este resultado indica que a dose letal para 50% dos animais (DL_{50}) está acima de 2.000 mg/kg. Com base no teste de toxicidade aguda, três doses (50, 100 e 200 mg/kg) foram selecionadas para os estudos farmacológicos subsequentes.

3.4. Quantificação de proteínas da peçonha e SDS-PAGE

A quantificação de proteínas revelou que cada 1mg de TstiV continha aproximadamente 233,86 μg de proteínas, correspondendo a cerca de 23% (m/m). O perfil eletroforético proteico obtido por SDS-PAGE exibiu bandas variando de 153 a 27 kDa (Figura 3). As bandas com maior intensidade no TstiV corresponderam a proteínas de médio peso molecular entre 30 e 45 kDa.

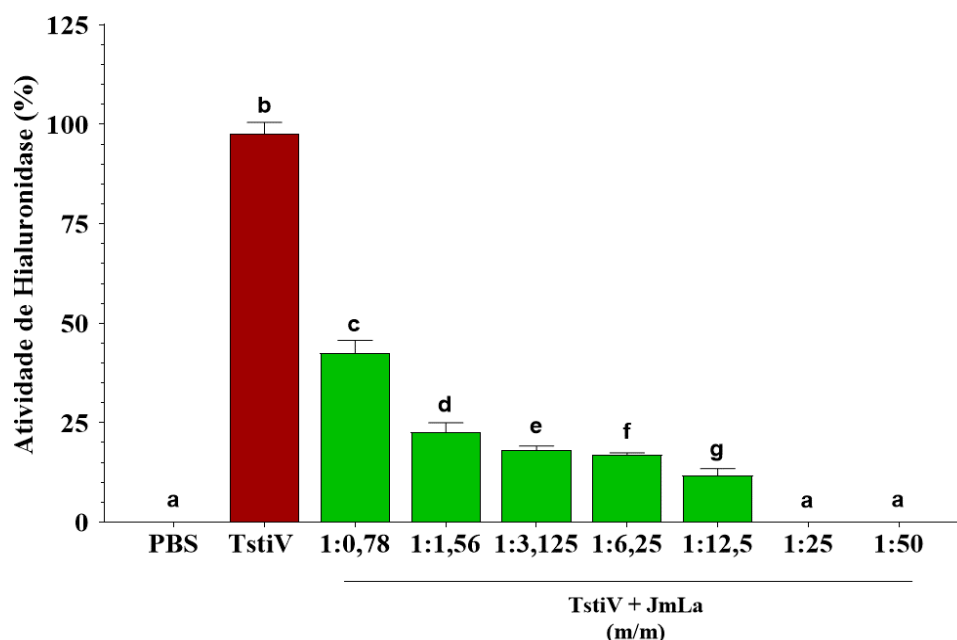
Figura 3. Análise SDS-PAGE (15%) da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV). Na pista 1: Marcador de peso molecular (180, 130, 100, 70, 55, 40, 35, 25 e 15 kDa, respectivamente). Na pista 2: TstiV (153, 129, 71,3, 60,9, 45,7, 37,3, 35,4, 31, 27,5 kDa, respectivamente).



3.5. Inibição da atividade da hialuronidase

O ensaio turbidimétrico foi empregado para determinar a atividade da hialuronidase, com base na degradação enzimática do ácido hialurônico. De acordo com testes anteriores (dados não mostrados), 2,18 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$ de TstiV foram capazes de degradar 100% do ácido hialurônico. A capacidade de consumir 100% do substrato serviu de controle para a peçonha de *T. stigmurus* (TstiV). Várias proporções de látex de *J. mutabilis* (JmLa) foram então utilizadas para avaliar o seu potencial para inibir a atividade da hialuronidase. JmLa inibiu a atividade da hialuronidase do TstiV de maneira dependente da concentração, reduzindo a atividade da hialuronidase em mais de 50%, mesmo na proporção mais baixa de 1: 0,78 (peçonha: látex, m/m). Em proporções mais altas (1:25 e 1:50, peçonha: látex, m/m), JmLa inibiu completamente a capacidade da peçonha de hidrolisar o ácido hialurônico (Figura 4).

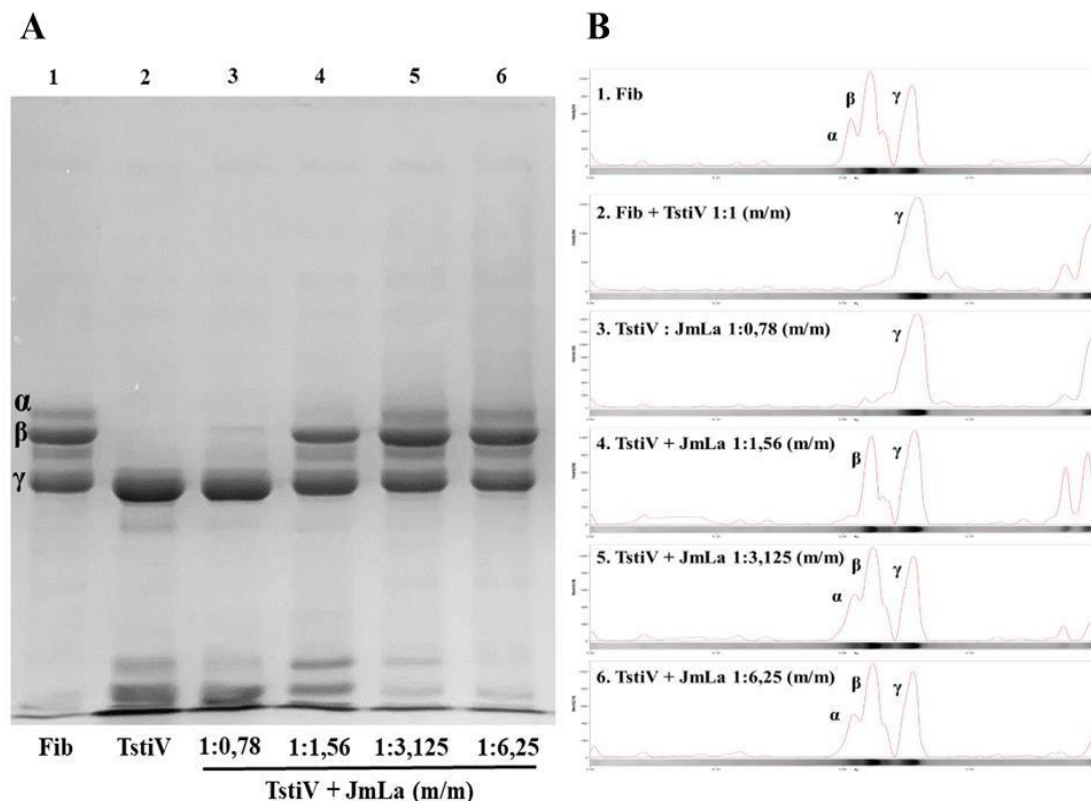
Figura 4. Inibição da atividade da hialuronidase da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) pelo látex de *J. mutabilis* (JmLa). O TstiV foi incubado sozinho (controle TstiV) ou com diferentes proporções de JmLa (peçonha: látex, m/m) por 30 min a 37°C. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) (n = 4). Letras minúsculas diferentes significam diferenças estatísticas em relação ao controle negativo. ANOVA unidirecional seguida de teste de Tukey. ($p < 0,05$).



3.6. Inibição da atividade fibrinogenolítica

A peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) foi capaz de hidrolisar as cadeias α e β do fibrinogênio bovino após 4 horas a 37 °C, conforme observado por densitografia. Como mostrado na Figura 5A, a presença de JmLa inibiu a degradação da cadeia β a partir da proporção de 1:1,56 (pista 4). Em proporções mais elevadas (pistas 5 e 6), a degradação de ambas as cadeias α e β foi inibida. Na Figura 5B, a análise densitográfica revela alterações nas conformações dos picos entre as amostras, correspondentes às alterações causadas pelo TstiV, incluindo a presença de fibrinopeptídeos de degradação.

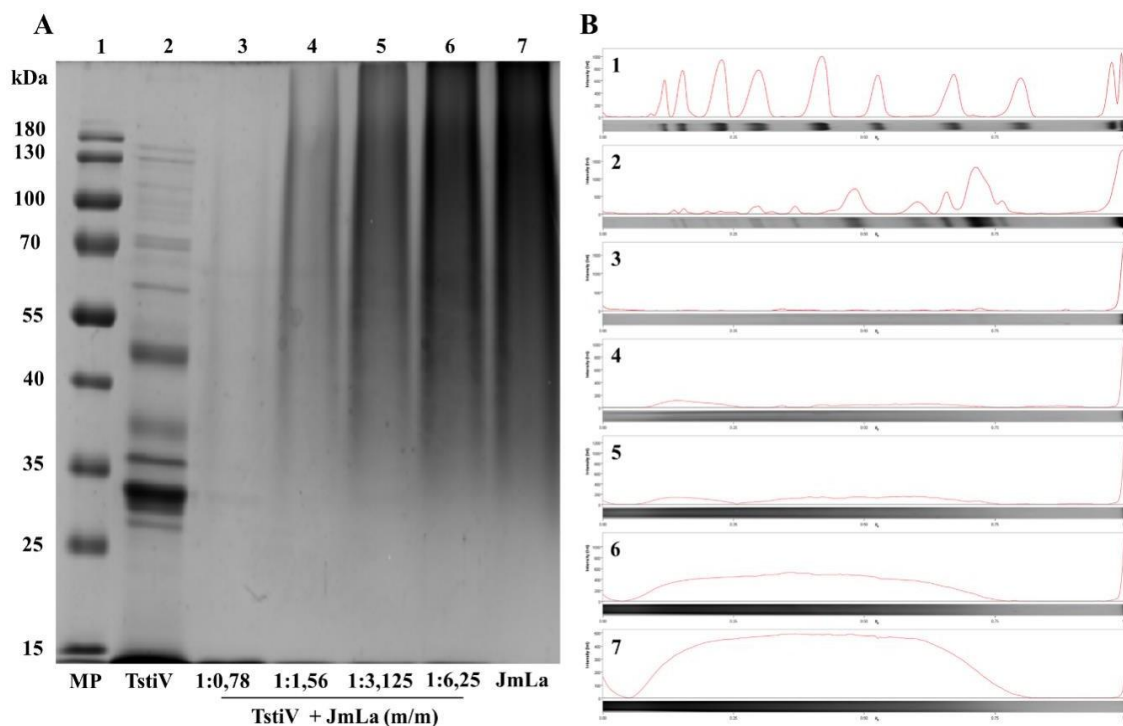
Figura 5. Inibição da atividade fibrinogenolítica da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) pelo látex de *J. mutabilis* (JmLa) por SDS-PAGE, 12,5%. (A) análise SDS-PAGE da atividade fibrinogenolítica do TstiV. 1- Fib representa o perfil de fibrinogênio. 2- Fib + TstiV representa a atividade fibrinogenolítica do TstiV. 3 a 6- TstiV + JmLa (m/m) 1:0,78, 1:1,56, 1:3,125 e 1:6,25, respectivamente (B) análise densitográfica do gel SDS-PAGE demonstrada em A.



3.7. Interação entre peçonha e látex em SDS-PAGE

A interação entre o látex de *J. mutabilis* (JmLa) e a peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) foi analisada por SDS-PAGE. O perfil eletroforético do TstiV, na ausência de JmLa, apresentou bandas variando de 153 a 27 kDa (Figura 6A, pista 2). Quando o TstiV foi pré-incubado com diferentes proporções de JmLa (peçonha:látex, m/m), o perfil mudou e as bandas proteicas estavam ausentes em todas as proporções testadas (Figura 6A, pistas 3-6). Nenhuma banda de proteína foi detectada na análise JmLa em PBS (Figura 6A, pista 7). A análise densitométrica confirmou as observações dos géis (Figura 6B).

Figura 6. Interação entre o látex de *J. mutabilis* (JmLa) e a peçonha de *T. stigmurus* (TstiV). (A) análise SDS-PAGE 15% de TstiV e JmLa. 1- PM: Peso Molecular, 2- TstiV 240 µg, 3 a 6-TstiV + JmLa (m/m) 1:0,78, 1:1,56, 1:3,125 e 1:6,25, respectivamente, 7- JmLa 1,5 mg. (B) análise densitográfica do gel SDS-PAGE demonstrada em A.

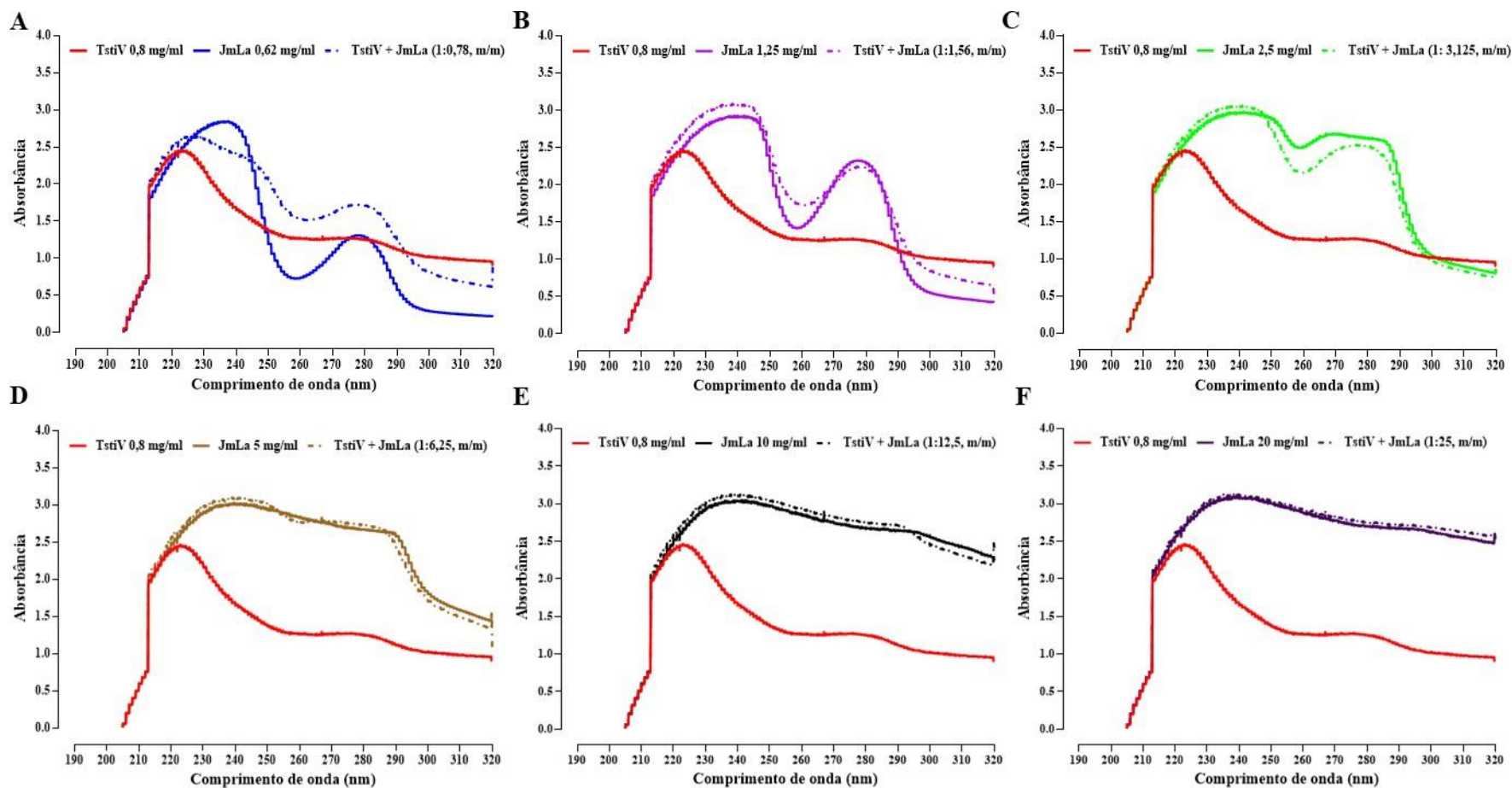


3.8. Interação entre peçonha e látex no espectro UV-VIS

O método espectrofotométrico UV-VIS foi utilizado para examinar o perfil de absorvância e detectar potenciais interações entre os componentes da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) e o látex de *J. mutabilis* (JmLa), com foco nas alterações de absorvância na faixa de 190 – 320 nm (Figura 7). Os comprimentos de onda máximos de absorção para TstiV foram medidos em 225 nm e 280 nm, enquanto para JmLa foram observados em 240 nm e 280 nm quando analisados separadamente.

O ensaio demonstrou uma interação entre TstiV e JmLa, evidenciada por alterações nos padrões de absorção em comparação com os compostos individuais. As alterações mais significativas ocorreram na faixa de concentração de 0,62 – 2,5 mg/mL de JmLa, correspondendo às proporções de 1:0,78, 1:1,56 e 1:3,125 (peçonha: látex, m/m).

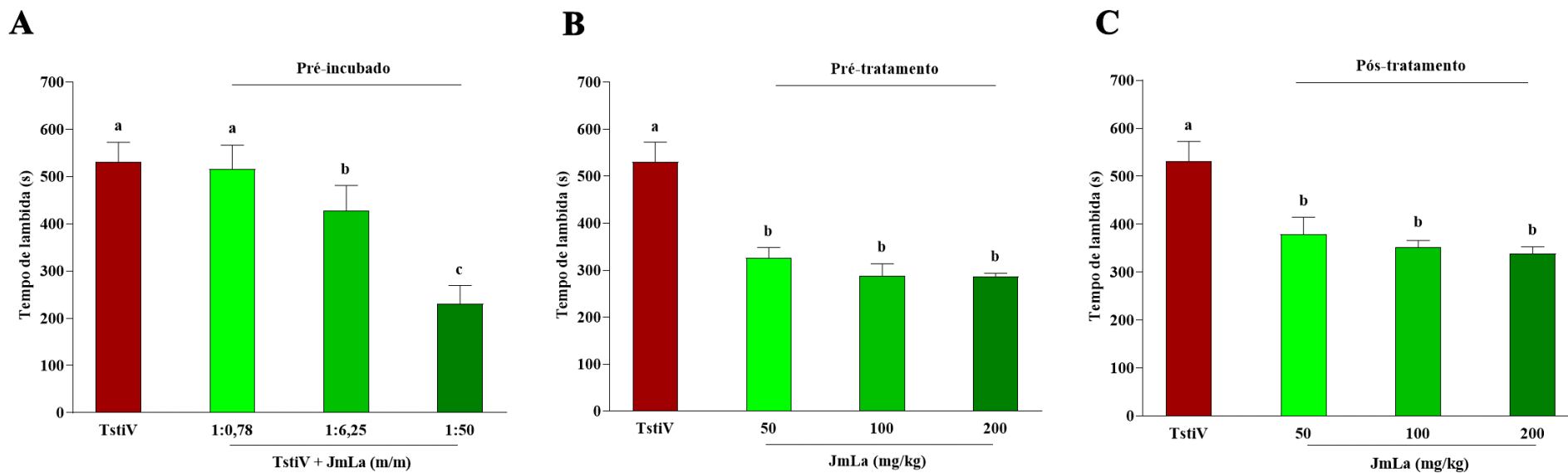
Figura 7. Interação entre a peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) e látex de *J. mutabilis* (JmLa) analisado em UV-VIS. TstiV 0,8 mg/ml foi incubado com diferentes proporções de látex (m/m) durante 30 min a 37°C e analisado no espectro UV-VIS. Controles apenas para espectros da peçonha (0,8 mg/ml) e diferentes concentrações de látex (0,62, 1,25, 2,5, 5, 10 e 20 mg/ml) também foram analisados.



3.9. Inibição da nocicepção induzida pela peçonha

A resposta nociceptiva induzida por uma única injeção da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) foi avaliada 30 minutos, imediatamente após o envenenamento, avaliando o tempo (em segundos) que os camundongos passaram lambendo as patas. No protocolo pré-incubado (Figura 8A), os resultados demonstram redução significativa no tempo de lambedura da pata em relação ao grupo controle (TstiV), com as concentrações de 1:6,25 e 1:50, nas proporções 19,2% e 56,5%, respectivamente. Tanto no protocolo pré-tratamento quanto no pós-tratamento, foram observadas respostas semelhantes. No protocolo de pré-tratamento (Figura 8B), doses de 50, 100 e 200 mg/kg de JmLa reduziram o tempo de lambida em 38,6%, 45,7% e 46,0%, respectivamente. No protocolo pós-tratamento (Figura 8C), doses de 50, 100 e 200 mg/kg reduziram o tempo de lambida em 28,6%, 33,7% e 36,2%, respectivamente.

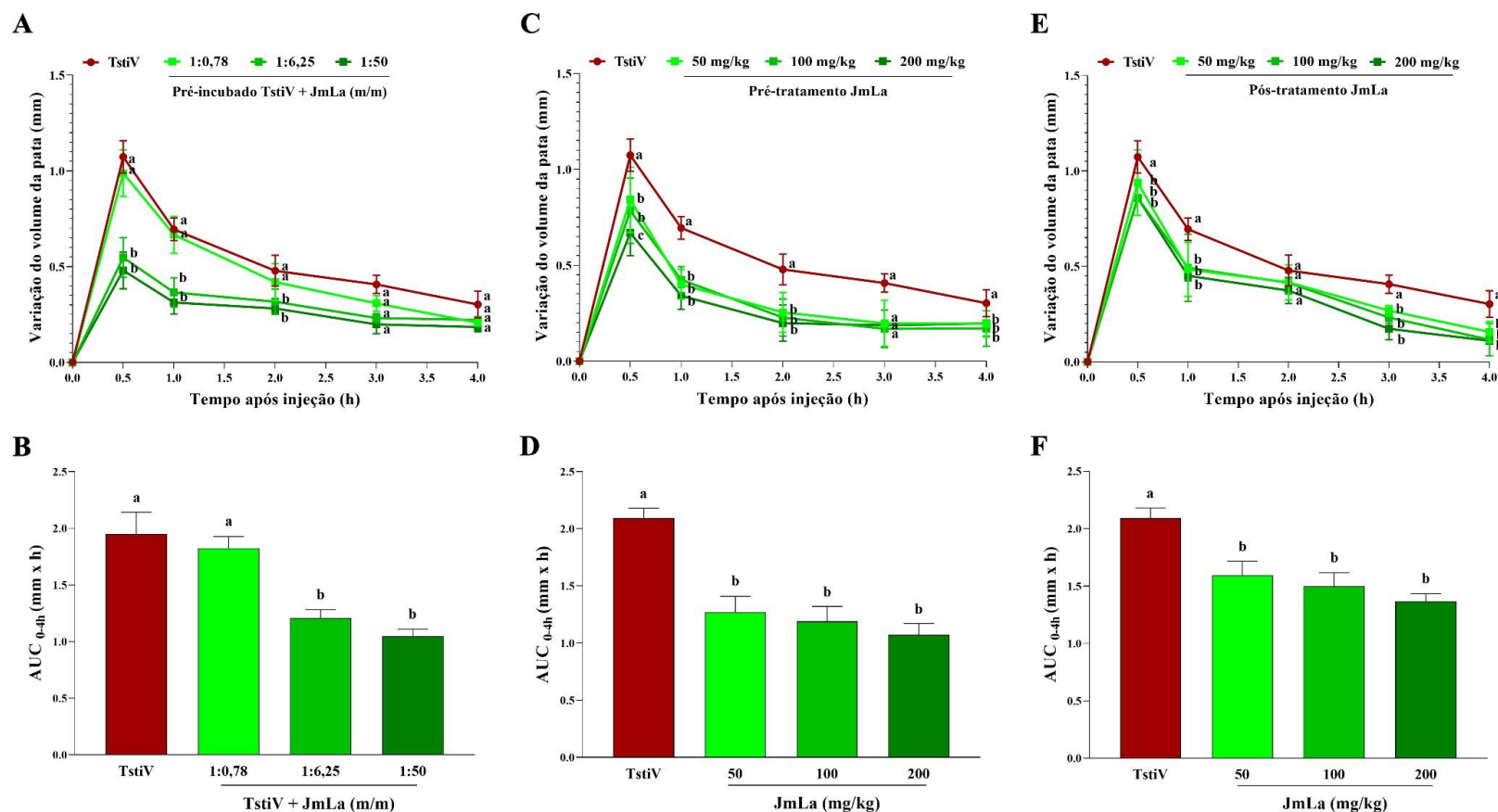
Figura 8. Inibição da atividade nociceptiva da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) pelo látex de *J. mutabilis* (JmLa) em protocolos de pré-incubação (A), pré-tratamento (B) e pós-tratamento (C). Letras minúsculas diferentes significam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle TstiV na ANOVA two-way seguida do pós-teste Tukey. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) ($n = 6/\text{grupo}$).



3.10. Inibição da atividade edematogênica

A atividade edematogênica induzida por injeção única da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) foi avaliada em intervalo de 0,5 a 4 horas após o envenenamento. Os resultados demonstram que no protocolo pré-incubado (Figura 9A), o JmLa reduziu o edema de pata até a segunda hora nas proporções de 1:6,25 e 1:50. Nessas proporções, a AUC foi reduzida em 42,3% e 50%, respectivamente (Figura 9B). Porém, na proporção inferior (1:0,78) nenhum efeito foi observado. Tanto nos protocolos pré-tratamento como pós-tratamento, foram observados efeitos semelhantes sem uma relação dose-resposta clara. No protocolo de pré-tratamento (Figura 9C), doses de 50, 100 e 200 mg/kg de JmLa reduziram o edema de pata até a quarta hora após o envenenamento. Os valores de AUC foram reduzidos em 39,3%, 43,1% e 48,7%, respectivamente (Figura 9D). Da mesma forma, no protocolo pós-tratamento (Figura 9E), todas as doses de JmLa também diminuíram a resposta edematogênica até a quarta hora após o envenenamento. No entanto, a magnitude deste efeito foi inferior à observada no protocolo pré-tratamento. As AUC foram reduzidas em 23,8%, 28,3% e 34,6% em doses de 50, 100 e 200 mg/kg de JmLa, respectivamente (Figura 9F).

Figura 9. Inibição da atividade edematogênica da peçonha de *T. stigmurus* (TstiV) pelo látex de *J. mutabilis* (JmLa) em protocolos de pré-incubação, pré-tratamento e pós-tratamento. (A, C, E) Evolução temporal do edema. (B, D, F) Área sob a curva de tempo após 4 h (AUC 0-4h). Letras minúsculas diferentes significam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle (TstiV) na ANOVA two-way seguida do pós-teste Tukey. Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) ($n = 6/\text{grupo}$).



4. Discussão

O uso de produtos naturais, incluindo plantas medicinais, para tratar envenenamento por mordidas e picadas de animais é difundido entre populações de regiões tropicais e subtropicais do mundo. Esta prática foi amplamente documentada em numerosos inquéritos etnobotânicos (Butt et al., 2015; Saraiva et al., 2015; Carrera-Fernández et al., 2023). Numa recente revisão sistemática de plantas medicinais utilizadas para envenenamento, as famílias botânicas mais proeminentes com propriedades antivenenos notáveis incluíam Asteraceae, Apocynaceae, Araceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Rubiaceae e Zingiberaceae (Liaqat et al., 2022). Nesse contexto, muitas espécies pertencentes ao gênero *Jatropha* têm sido amplamente citadas em estudos etnobotânicos para tratamento de acidentes ofídicos e de escorpiões em todo o mundo, incluindo *J. gossypifolia*, *J. curcas*, *J. glandulífera*, *J. elliptica*, *J. molíssima*, *J. multifida*, *J. podagrica* e *J. mutabilis* (Lans et al., 2001; Albuquerque et al., 2007; Sabandar et al., 2013; Saraiva et al., 2015; Dharmadasa et al., 2016). Dentre essas espécies, *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. é relatada na medicina popular pelo uso de seu látex no tratamento de envenenamentos (Albuquerque et al., 2007; Trentin et al., 2011). Os curandeiros locais afirmam que após uma picada de serpentes ou escorpião, a vítima deve cortar um galho de *J. mutabilis* e beber seu látex. Além disso, o látex pode ser esfregado diretamente no local da picada ou picada. No entanto, apesar desse conhecimento tradicional, não foram publicados estudos sobre o efeito neutralizante do látex de *J. mutabilis* contra a peçonha do escorpião *Tityus stigmurus*, classificado como a espécie mais perigosa do Nordeste do Brasil. Nessa perspectiva, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico e a toxicidade oral aguda do látex de *J. mutabilis* (JmLa), bem como seu potencial para neutralizar os efeitos da peçonha de *Tityus stigmurus*.

Neste estudo, o perfil fitoquímico do látex de *J. mutabilis* sugere a presença de várias classes onipresentes de metabólitos secundários, incluindo compostos fenólicos como flavonóides, bem como terpenóides, alcalóides, peptídeos cíclicos e glicosídeos cardíacos. Na literatura, essas classes de metabólitos secundários são bem descritas como tendo potencial antiveneno (Mors et al., 2000; Adrião et al., 2022). Os flavonóides naturais são bem conhecidos pela sua capacidade de inibir enzimas, incluindo toxinas da peçonha (Xue et al., 2017). Por exemplo, a quercetina e a harpalcina 2 foram descritas como potentes inibidores da fosfolipase A2 da peçonha das serpentes *Bothrops pirajai*,

Crotalus durissus terrificus, *Apis mellifera*, e *Naja naja* (Cotrim et al., 2011; Ximenes et al., 2012), enquanto a rutina (Alves et al., 2018), narigenina (Srimathi; Sabareesh; Gurunathan, 2022) e kaempferol (Ajisebiola; Oladele; Adeyi, 2023) demonstraram atividade antiveneno respectivamente para as serpentes *Bothrops jararacussu*, *Naja naja*, e *Bitis arietans*. Esses compostos interagem com proteínas presentes nas peçonhas, precipitando e reduzindo o potencial de toxinas no organismo. Além disso, suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes podem contribuir para a redução do estresse oxidativo tecidual e celular causado pela ação de toxinas. No entanto, os compostos mais representativos detectados em JmLa (Figura 2, picos 53-58) foram identificados como peptídeos cíclicos (53-57): pohlianina A, pohlianina C, chevalierina B e wholerimida A, previamente descritos no látex de *Jatropha pohliana*, *Jatropha chevalieri*, e *Jatropha integerrima*, respectivamente, além de um glicosídeo megastigman do tipo oblongionosídeo (58) (Auvín-Guette et al., 1999; Takeshige et al., 2012; Juca et al., 2017). Segundo Cavalcante et al. (2020), peptídeos cíclicos conhecidos como orbitídeos (peptídeos vegetais que são ciclizados N para C e não contêm ligações dissulfeto) são abundantes no látex de plantas pertencentes ao gênero *Jatropha*. Esses compostos específicos ainda não foram relatados na literatura quanto ao seu potencial antiveneno, sugerindo a necessidade de investigações adicionais sobre sua capacidade de neutralizar as toxinas da peçonha. No entanto, os orbitídeos demonstraram diversas atividades biológicas interessantes, como propriedades antioxidantes, inibição de proteases (Altei et al., 2014), efeitos anti-inflamatórios, potencial neuroprotetor e atividades hepatoprotetoras (Samra et al., 2024), que poderão estar contribuindo com os efeitos observados neste estudo.

A atividade antioxidante do látex foi avaliada utilizando os ensaios de eliminação de radicais DPPH e ABTS⁺, bem como o ensaio de redução de molibdênio (VI) em molibdênio (V). Os resultados foram significativos, consistentes com a presença das classes de metabólitos descritas anteriormente. A atividade antioxidante é frequentemente investigada em estudos de plantas com propriedades antiveneno, pois o estresse oxidativo desempenha um papel crucial na fisiopatologia do envenenamento e na ação das toxinas no organismo (Mors et al., 2000; Bouimeja et al., 2018; 2019). Os danos causados pela peçonha de escorpiões, como *Tityus serrulatus*, podem levar a processos inflamatórios prolongados devido à liberação massiva de mediadores inflamatórios, incluindo espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem causar danos sistêmicos em camundongos

(Maciel et al., 2014). Na peçonha de *Tityus stigmurus*, a diversidade de moléculas bioativas pode causar danos celulares e teciduais (Furtado et al., 2020). Este veneno também é conhecido por induzir efeitos genotóxicos e mutagênicos, como alterações nas células espermatogênicas dos túbulos seminíferos de camundongos, afetando tanto o número quanto a morfologia dessas células. Esses efeitos são atribuídos à extensa liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) pelo sistema imunológico (Silva et al., 2019). Neste estudo, diversas classes de metabólitos secundários de plantas identificados no JmLA, como compostos fenólicos, terpenóides, esteróides e alcalóides, exibem atividade antioxidante. Isto sugere que eles poderiam reduzir potencialmente o estresse oxidativo causado pelo envenenamento.

Para investigar os potenciais efeitos tóxicos do látex, conduzimos um teste de dose limite em ratos de acordo com as diretrizes da OCDE e os monitoramos quanto a sinais comportamentais de toxicidade. A ausência de mortalidade ou sinais de intoxicação sugere que o látex pode ter DL₅₀ superior a 2.000 mg/kg (v.o.), indicando sua relativa segurança. É importante ressaltar que os testes de toxicidade são essenciais para verificar a segurança biológica dos compostos (Wolff et al., 2019; Aldana-Mejía et al., 2023). Embora muitos produtos naturais tenham efeitos terapêuticos benéficos, os seus efeitos tóxicos podem por vezes superar esses benefícios. Nossos resultados sugerem que o JmLA pode ser considerado seguro; no entanto, mais testes, incluindo citotoxicidade, toxicidade subaguda, crônica, subcrônica, toxicidade reprodutiva e genotoxicidade, são necessários em estudos futuros para investigar minuciosamente a segurança biológica do látex de *J. mutabilis*.

De maneira geral, entre os principais grupos moléculas encontradas na peçonha de escorpiões estão mucoproteínas, inibidores de enzimas, peptídeos de baixo peso molecular, hialuronidase, fosfolipases, serino e metaloproteases, toxinas de canais iônicos dependentes de voltagem, neurotransmissores e aminas biogênicas (Cid-Urbe et al., 2019; Borges et al., 2019; Borges et al., 2020). A ação tóxica do envenenamento é atribuída principalmente à ação de enzimas e toxinas de canais iônicos dependentes de voltagem. Estas moléculas iniciam uma cascata de reações biológicas e bioquímicas no corpo, incluindo a liberação maciça de neurotransmissores. Este processo leva a uma perturbação da homeostase e desencadeia reações inflamatórias progressivas (Petricevich et al., 2010). Embora a composição da peçonha de diferentes espécies de escorpiões seja

geralmente semelhante, variações podem ocorrer devido a fatores como distribuição geográfica, sexo, idade, interações com presas e predadores e diferenças entre grupos taxonômicos (Bridges et al., 1997; Pucca et al., 2014; Oliveira et al., 2018; Tobassum et al., 2018; Solano-Godoy et al., 2021). Portanto, certas atividades biológicas podem ser mais pronunciadas em algumas espécies de escorpiões em comparação com outras. Neste estudo, foi detectada a ação das enzimas hialuronidase e fibrinogenolítica no TstIV. A hialuronidase, também conhecida como “fator de propagação” no envenenamento, é uma enzima crucial capaz de interagir e quebrar o ácido hialurônico encontrado na matriz extracelular, atividade intimamente associada com a resposta de dor promovida no envenenamento. Esta ação reduz a integridade da membrana e facilita a entrada de outras toxinas no ambiente intracelular (Pessini et al., 2001; Jung, 2020). Além disso, a hialuronidase contribui para o processo inflamatório, ativando mediadores inflamatórios nos tecidos através dos resíduos de ácido hialurônico. Isto destaca a importância de direcionar esta enzima em estudos antivenenos (Oliveira-Mendes et al., 2019). Em relatos anteriores, hialuronidases presentes na peçonha de escorpiões pertencentes ao gênero *Tityus*, incluindo *Tityus stigmurus*, foram detectadas por eletroforese, com peso molecular de aproximadamente 45 kDa (Guerra-Duarte et al., 2019). Aqui, bandas mais significativas no SDS-PAGE detectaram proteínas com o mesmo peso molecular (Figura 3), corroborando a atividade da hialuronidase encontrada no TstIV e inibida com sucesso pelo JmLa. Estes resultados corroboram a atividade anti-hialuronidase detectada em diferentes extratos de *Jatropha gossypifolia* (Félix-Silva et al., 2017; Batista et al., 2024). Porém, alguns estudos sugerem que a inibição completa da hialuronidase pode não ser suficiente para prevenir respostas sistêmicas, pois a ação da peçonha envolve a participação de diversas outras toxinas nesse processo (Félix-Silva et al., 2017).

Desta maneira, o estudo com a investigação da atividade detectada aqui foi a fibrinogenolítica, que já foi identificada entre os componentes da peçonha de *T. stigmurus* (Almeida et al., 2012; Silva et al., 2016), atribuída à ação de metaloproteases (Oliveira et al., 2022). O ensaio demonstrou que o TstIV era capaz de clivar as cadeias α e β do fibrinogênio, semelhante aos achados com as peçonhas de *T. serrulatus* (Carmo et al., 2014) e *T. discrepans* (Brazón et al., 2014). Estas proteases atuam principalmente na matriz extracelular, exacerbando processos inflamatórios, oxidativos e dor. Através da hidrólise das cadeias α e β do fibrinogênio, essas proteases potencializam os efeitos anticoagulantes e hemorrágicos, formando coágulos de fibrina fracos e incoaguláveis e induzindo hipofibrinogenemia (Girón et al., 2013; Cavalcante et al., 2022). O látex de

Jatropha mutabilis foi capaz de inibir a ação fibrinogenolítica da peçonha de *T. stigmurus*. Atividade semelhante foi observada no extrato aquoso das folhas de *Jatropha gossypifolia*, que inibiu a ação fibrinogenolítica da peçonha de *Bothrops jararaca* (Félix-Silva et al., 2014). Este efeito sugere um papel potencial do JmLa na redução da incoagulabilidade sanguínea induzida pela peçonha e merece uma investigação mais aprofundada.

Além disso, avaliamos a capacidade do JmLa de interagir diretamente com a peçonha usando espectrofotometria SDS-PAGE e UV-VIS. Nossos resultados mostraram que o látex interagiu com proteínas de vários pesos moleculares. Achados semelhantes foram relatados para extratos de *Plathymenia reticulata* Benth. (Fabaceae) e *Aniba fragrans* Ducke (Lauraceae) quando incubadas com peçonha de *Bothrops atrox* (Moura et al., 2016; Moura et al., 2018). O potencial dos extratos vegetais para interagir com peçonhas animais é atribuído a metabólitos secundários, como polifenóis, geralmente taninos e flavonóides. Esses metabólitos interagem diretamente com as proteínas, causando precipitação e formando complexos insolúveis que impedem a penetração das proteínas no gel, alterando sua estrutura e propriedades biológicas. Eles também podem quelar íons metálicos essenciais para a função de algumas proteínas, como as metaloproteinases, que são cruciais para atuar nas estruturas da membrana celular (Muhit et al., 2016; Moura et al., 2016; Guimarães et al., 2020; Nascimento et al., 2021). No ensaio espectrométrico UV-VIS, essa interação também foi observada através de alterações no perfil de absorção de luz. Os resultados mostram variações na absorbância nas menores concentrações de látex incubadas com a peçonha. Em contraste, nas concentrações mais elevadas testadas, as variações diminuem e o padrão de absorbância assemelha-se ao do látex em análise independente. Essas mudanças nos padrões de absorbância as amostras testes que passaram a apresentar padrões cada vez mais semelhantes aos padrões do controle do látex podem ser interpretadas como a complexação de moléculas durante o processo de interação entre os compostos (Srinivasa et al., 2014; Hingane et al., 2018).

Os sintomas causados pelo envenenamento por escorpião podem variar dependendo de fatores como o quadro clínico do paciente, a quantidade de peçonha injetada e a espécie de escorpião responsável pela picada (Brasil, 2009). Porém, alguns sintomas são comuns a todas as espécies de escorpiões, como formação de edema no local da picada e dor intensa e imediata (Petricevich, 2010). Aqui, os sintomas de edema e dor foram avaliados usando três protocolos de tratamento *in vivo* diferentes. O protocolo de

pré-incubação (incubação da peçonha com diversas proporções de látex a 37°C por 30 minutos antes da injeção) é crucial para avaliar a capacidade do látex de interagir com os componentes da peçonha e seu impacto nos sintomas pós-injeção. O protocolo de pré-tratamento (administração de látex antes da injeção da peçonha) ajuda a especular a biodisponibilidade do composto em circulação durante o processo de envenenamento. O protocolo pós-tratamento (administração de látex imediatamente após a injeção da peçonha) simula o uso terapêutico com antiveneno comercial, normalmente administrado assim que o envenenamento tiver começado no sistema. Moura et al. (2014) discutem a potencial superestimação em estudos de antivenenos ao relatar a eficácia de extratos de plantas com base apenas em testes em protocolos de pré-incubação. Por esse motivo, o estudo também incluiu protocolos de pré e pós-tratamento, simulando o uso tradicional do tratamento com látex e soroterapia.

A nocicepção induzida pela peçonha de *T. stigmurus* foi avaliada medindo o tempo que os camundongos passaram lambendo a pata onde a peçonha foi injetada, enquanto o edema foi avaliado medindo o volume das patas dos camundongos. Em ambos os ensaios, concentrações ou doses mais elevadas do tratamento foram mais eficazes na inibição da dor e do edema, embora não tenha sido observada uma relação dose-resposta clara em nenhum dos casos. Esses resultados são consistentes com os resultados dos testes *in vitro* de hialuronidase e inibição fibrinogenolítica, onde proporções mais elevadas de látex foram capazes de inibir completamente os efeitos induzidos pela peçonha. No protocolo pós-tratamento, a capacidade de neutralização foi reduzida, possivelmente devido a fatores farmacocinéticos como tempos de absorção e distribuição, pois a peçonha atua rapidamente no organismo. O mecanismo de dor induzido pela peçonha de escorpião, por exemplo, é causado principalmente pela ação de aminas biogênicas como a histamina, bem como de toxinas que afetam os canais iônicos dependentes de voltagem. Essas toxinas agem rapidamente no fluxo de íons, como sódio, potássio e cálcio, nas células excitáveis do sistema nervoso periférico, perturbando o equilíbrio iônico e causando danos celulares. Esta perturbação desencadeia o recrutamento de mediadores inflamatórios, que promovem a inflamação local, incluindo a formação de edema (Diocot, 2021). O uso tradicional de plantas medicinais não visa apenas neutralizar toxinas específicas, mas também abordar danos secundários que podem agravar o quadro clínico dos indivíduos, como o prolongamento do processo inflamatório, enquanto a soroterapia antiveneno convencional normalmente se concentra em neutralizar as toxinas presentes na circulação sistêmica do indivíduo (Nath; Mukherjee, 2023). Dessa forma, a

capacidade anti-inflamatória de compostos vegetais como os peptídeos cíclicos e glicosídeos (Noh et al., 2015; Samra et al., 2024) aqui identificados como componentes majoritários no látex de *Jatropha mutabilis* (JmLa) podem ter contribuído para controlar os efeitos sistêmicos da intoxicação (não avaliados neste estudo) ou limitar a persistência do processo inflamatório, e assim reduzir os sintomas nos testes de dor e formação de edema. Ainda assim, sugerimos que ainda são necessários mais estudos sobre estes compostos isolados e ação direta sobre as toxinas da peçonha.

As atividades aqui identificadas contribuem para afirmar a utilização de produtos naturais, como o látex *Jatropha mutabilis*, no tratamento de envenenamentos por animais peçonhentos, como os escorpiões. Nesta perspectiva, os ensaios pré-clínicos desempenham um papel crucial na avaliação do potencial do látex como agente antiveneno. A importância dos estudos pré-clínicos reside na sua capacidade de fornecer dados fundamentais sobre segurança e eficácia antes de avançar para ensaios em humanos, inicialmente através da identificação de compostos ativos que possam ter propriedades antiveneno (Challal et al., 2023). Em seguida, modelos animais e sistemas in vitro são utilizados para avaliar a capacidade do látex de neutralizar eficazmente o veneno. Esses estudos ajudam a determinar o potencial terapêutico do látex e a identificar possíveis mecanismos farmacológicos de ação (Atanasov et al., 2021). Além disso, a segurança é uma preocupação primordial e os estudos de toxicidade são essenciais para garantir que o látex não produza efeitos adversos no organismo. Em resumo, os dados aqui apresentados corroboram o uso do látex de *Jatropha mutabilis* como antiveneno, lançando as bases para futuras investigações de toxicidade, possíveis aplicações clínicas e oferecendo uma alternativa promissora para o tratamento de envenenamentos por animais peçonhentos.

5. Conclusão

Nossos resultados fornecem suporte científico para o uso tradicional do látex de *Jatropha mutabilis* no tratamento de envenenamento por escorpiões no Nordeste do Brasil pela primeira vez. Além de ser seguro para administração via oral e não apresentar toxicidade aguda em camundongos, o látex exibiu uma grande variedade de constituintes fitoquímicos, incluindo flavonóides, terpenóides, alcalóides, peptídeos cíclicos e glicosídeos. Esses compostos demonstraram a capacidade de neutralizar atividades enzimáticas, bem como os efeitos nociceptivos e edematogênicos da peçonha de *Tityus stigmurus*. Estudos futuros

deverão focar no isolamento desses compostos bioativos com efeitos antiveneno, que poderiam servir como alternativa complementar no tratamento de vítimas de escorpionismo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro (IBPG-1146-2.00/22).

Referências

- Adrião, A A X., Santos, A O., Lima, E J S P., Maciel, J B., Paz, W H P., Silva, F M A., Pucca, M B., Moura-da-Silva, A M., Monteiro, W M., Sartim, M A., 2022. Plant-Derived Toxin Inhibitors as Potential Candidates to Complement Antivenom Treatment in Snakebite Envenomations. *Frontiers In Immunology*. 13: 842576. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.842576>.
- Agra, M F., Baracho, G., Nurit, K., Basílio, I J L D., Coelho, V P M., 2007. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. *Journal Of Ethnopharmacology*. 111, 383-395. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.007>.
- Ajisebiola, B S., OLADELE, J O., ADEYI, A O., 2023. Kaempferol from *Moringa oleifera* demonstrated potent antivenom activities via inhibition of metalloproteinase and attenuation of *Bitis arietans* venom-induced toxicities. *Toxicon*. 233, 10724. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107242>.
- Albuquerque, C M R., Barbosa, M O., Iannuzzi, L., 2009. *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae): response to chemical control and understanding of scorpionism among the population. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 42, 255-259. <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822009000300004>.
- Albuquerque, U P., Medeiros, P M., Almeida, A L S., Monteiro, J M., Lins Neto, E M F., Melo, J G., Santos, J P. 2007. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal Of Ethnopharmacology*. 114 (3), 325-354. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.017>.
- Aldana-Mejía, J A., Miranda, A M D., Ccana-Ccapatinta, G V., Araújo, L S D., Ribeiro, V P., Arruda, C., Nascimento, S., Squarisi, I., Esperandim, T., Freitas, K S., 2023. Genotoxicity and toxicological evaluations of Brazilian red propolis oral ingestion in a

preclinical rodent model. *Journal of Ethnopharmacology*, 303, 115920–115920. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115920>.

Almeida, D D., Scortecchi, K C., Kobashi, L S., Agnez-Lima, L F., Medeiros, S R B., Silva-Junior, A., Junqueira-de-Azevedo, I L M., Fernandes-Pedrosa, M F., 2012. Profiling the resting venom gland of the scorpion *Tityus stigmurus* through a transcriptomic survey. *BMC Genomics*. 13: 362. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-13-362>

Altei, W F., Picchi, D G., Abissi, B M., Giesel, G M., Flausino, O., Reboud-Ravaux, M., Verli, H., Crusca, E., Silveira, E R., Cilli, E M., 2014. Jatrophidin I, a cyclic peptide from Brazilian *Jatropha curcas* L.: isolation, characterization, conformational studies and biological activity. *Phytochemistry*. 107, 91-96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.08.006>.

Alves, N T Q., Ximenes, R M., Jorge, R J B., Silveira, J A M., Santos, J V A., Rodrigues, F A P., Costa, P H., Xavier Junior, F A F., Evangelista, J A M., Havt, A. 2019. Anti-ophidian activity of *Bredemeyera floribunda* Willd. (Polygalaceae) root extract on the local effects induced by *Bothrops jararacussu* venom. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*. 52 (1), 1-8, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431x20187581>.

Auvin-Guette, C., Baragney, C., Blond, A., Xavier, H S., Pousset, J-L., Bodo, B., 1999. Pohnianins A, B and C, Cyclic Peptides from the Latex of *Jatropha pohliana* ssp. *molissima*. *Tetrahedron*. 55, 11495-11510.

Atanasov, A G., Zotchev, S B., Dirsch, V M., Supuran, C T., 2021. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(3), 200-216. <http://dx.doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>.

Batista, B K C., Silva, J F O., Passos, J G R., Ferreira, M R A., Soares, L A L., Rocha, H A O., Silva-Júnior, A A., Xavier-Santos, J B., Fernandes-Pedrosa, M F., 2024. Nanoemulsion containing *Jatropha gossypifolia* leaf extract reduces dermonecrosis induced by *Bothrops erythromelas* venom and accelerates wound closure. *Journal of Ethnopharmacology*. 330, 118188. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2024.118188>

Borges, A., Lomonte, B., Angulo, Y., Patiño, H A., Pascale, J M., Otero, R., Miranda, R J., Sousa, L., Graham, M R., Gómez, A., 2020. Venom diversity in the neotropical scorpion genus *Tityus*: implications for antivenom design emerging from molecular and immunochemical analyses across endemic areas of scorpionism. *Acta Tropica*. 204, 105346. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105346>.

Bouimeja, B., Hidan, M A E., Touloun, O., Laaradia, M A., Dra, L A., Khoudri, N E., Chait, A., Boumezzough, A., 2018. Anti-scorpion venom activity of *Thapsia garganica* methanolic extract: histopathological and biochemical evidences. *Journal Of Ethnopharmacology*. 211, 340-347. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.003>.

Bouimeja, B., Yetongnon, K H., Touloun, O., Berrougui, H., Laaradia, M A., Ouanaimi, F., Chait, A., Boumezzough, A., 2019. Studies on antivenom activity of *Lactuca serriola* methanolic extract against *Buthus atlantis* scorpion venom by *in vivo* methods. *South African Journal Of Botany*. 125, 270-279. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.044>.

Brasil, 2023. Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação.<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/animaisp/bases/animaisbrnet.def> (acessado em 20 de dezembro de 2023).

Brasil, 2009. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, & Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de controle de escorpiões.

Brazón, J., Guerrero, B., D'Suze, G., Sevcik, C., Arocha-Piñango, C L., 2014. Fibrin(ogen)olytic enzymes in scorpion (*Tityus discrepans*) venom. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 168, 62-69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpb.2013.11.007>.

Bridges, C R., Roux, J M L., Van Aardt, W J., 1997. Ecophysiological Adaptations to Dry Thermal Environments Measured in Two Unrestrained Namibian Scorpions, *Parabuthus villosus* (Buthidae) and *Opisthophthalmus flavescens* (Scorpionidae). *Physiological Zoology*. 70 (2), 244-256. <http://dx.doi.org/10.1086/639587>.

Butt, M A., Ahmad, M., Fatima, A., Sultana, S., Zafar, M., Yaseen, G., Ashraf, M A., Shinwari, Z K., Kayani, S., 2015. Ethnomedicinal uses of plants for the treatment of snake and scorpion bite in Northern Pakistan. *Journal Of Ethnopharmacology*. 168, 164-181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.03.045>.

Carmo, A O., Oliveira-Mendes, B B R., Horta, C C R., Magalhães, B F., Dantas, A E., Chaves, L M., Chávez-Olórtegui, C., Kalapothakis, E., 2014. Molecular and functional characterization of metalloserrulases, new metalloproteases from the *Tityus serrulatus* venom gland. *Toxicon*, 90, 45-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.07.014>.

Carrera-Fernández, M C., Herrera-Martínez, M., Ordaz-Hernández, A., Arreaga-González, H M., 2023. Medicinal plants from Mexico used in the treatment of scorpion sting. *Toxicon*. 230, 107-172. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107172>.

- Cavalcante, B N., Santos, A D C., Almeida, J R G S., 2020. The genus *Jatropha* (Euphorbiaceae): A review on secondary chemical metabolites and biological aspects. *Chemico-Biological Interactions*. 318: 108976. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.108976>.
- Cavalcante, J S., Silva, W R G B., Oliveira, L A., Brito, I M C., Muller, K S., Vidal, I S J., Santos, L D., Jorge, R J B., Almeida, C., Bicho, C L., 2022. Blood plasma proteome alteration after local tissue damage induced by *Bothrops erythromelas* snake venom in mice. *Journal of Proteomics*. 269, 104742. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104742>.
- Cid-Urbe, J I., Veytia-Bucheli, J I., Romero-Gutierrez, T., Ortiz, E., Possani, L D., 2019. Scorpion venomomics: a 2019 overview. *Expert Review Of Proteomics*. 17, 1, p. 67-83. <http://dx.doi.org/10.1080/14789450.2020.1705158>.
- Challal, S., Skiba, A., Langlois, M., Esguerra, C V., Wolfender, J-L., Crawford, A D., & Skalicka-Woźniak, K., 2023. Natural product-derived therapies for treating drug-resistant epilepsies: From ethnopharmacology to evidence-based medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 317, 116740. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116740>.
- Chippaux, J P., Goyffon, M., 2008. Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta Tropica*, 107, 71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.05.021>.
- Cotrim, C A., Oliveira, S C B., Diz Filho, E B., Fonseca, F V., Baldissera, L., Antunes, E., Ximenes, R M., Monteiro, H S A., Rabello, M M., Hernandez, M Z. 2011. Quercetin as an inhibitor of snake venom secretory phospholipase A2. *Chemico-Biological Interactions*. 189, 9-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2010.10.016>.
- Costa, E C., Menezes, P M N., Silva, F S., Ribeiro, L A A., Rolim, L A., Araújo, E C C., Nunes, X P., 2020. *Jatropha mutabilis*, a new source of vitexin: HPLC quantification and pharmacological evaluation. *Natural Product Research*. 35, 6200-6203. [doi:10.1080/14786419.2020.1837807](https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1837807)
- Costa, E C., Almeida, J R G S., Filho, J A S., Araújo, E C C., 2018. Perfil fitoquímico, atividade antioxidante e fotoprotetora de extratos de *Jatropha mutabilis* (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 20, 314-321.
- Dictionary of Natural Products, 2024. <http://dnp.chemnetbase.com/intro/> (Accessed 10 March 2024).
- Diochot, S. 2021. Pain-related toxins in scorpion and spider venoms: a face to face with ion channels. *Journal of Venomous Animals And Toxins Including Tropical Diseases*. 27, 1-33. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2021-0026>.

Dharmadasa, R M., Akalanka, G C., Muthukumarana, P R M., Wijesekara, R G., 2016. Ethnopharmacological survey on medicinal plants used in snakebite treatments in Western and Sabaragamuwa provinces in Sri Lanka. *Journal Of Ethnopharmacology*. 179, 110-127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.041>.

Félix-Silva, J., Gomes, J A S., Xavier-Santos, J B., Passos, J G R., Silva-Junior, A A., Tambourgi, D V., Fernandes-Pedrosa, M F., 2017. Inhibition of local effects induced by *Bothrops erythromelas* snake venom: assessment of the effectiveness of brazilian polyvalent bothropic antivenom and aqueous leaf extract of *Jatropha gossypifolia*. *Toxicon*. 125, 74-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.11.260>.

Félix-Silva, J., Souza, T., Menezes, Y A S., Cabral, B., Câmara, R B G., Silva-Junior, A A., Rocha, H A O., Rebecchi, I M M., Zucolotto, S M., Fernandes-Pedrosa, M F., 2014. Aqueous Leaf Extract of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) Inhibits Enzymatic and Biological Actions of *Bothrops jararaca* Snake Venom. *Plos One*. 9, e:104952.

Furtado, A A., Daniele-Silva, A., Silva-Júnior, A A., Fernandes-Pedrosa, M F., 2020. Biology, venom composition, and scorpionism induced by brazilian scorpion *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae). *Toxicon*. 185, 36-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.06.015>.

Girón, M E., Guerreiro, B., Salazar, A M., Sánchez, E E., Alvarez, M; Rodríguez-Acosta, A., 2013. Functional characterization of fibrinolytic metalloproteinases (colombienases) isolated from *Bothrops colombiensis* venom. *Toxicon*. 74, 116-126. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.07.025>.

Gomes, J A S., Félix-Silva, J., Fernandes, J M., Amaral, J G., Lopes, N P., Egito, E S T., Silva-Júnior, A A., Zucolotto, S M., Fernandes-Pedrosa, M F., 2016. Aqueous Leaf Extract of *Jatropha molissima* (Pohl) Bail Decreases Local Effects Induced by Bothropic Venom. *Biomed Research International*. 2016, 1-13. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6101742>.

Guerra-Duarte, C., Horta, C C R., Oliveira-Mendes, B B R., Magalhães, B F., Costal-Oliveira, F., Stransky, S., Freitas, C F., Campolina, D., Pardal, P P O., Lira-da-Silva, R., 2019. Determination of hyaluronidase activity in *Tityus* spp. Scorpion venoms and its inhibition by Brazilian antivenoms. *Toxicon*. 167, 134-143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.06.019>.

Guerra-Duarte, C, Saavedra-Langer, R., Matavel, A., Oliveira-Mendes, B B R., Chavez-Olortegui, C., Paiva, A L B., 2023. Scorpion envenomation in Brazil: current scenario

and perspectives for containing an increasing health problem. Plos Neglected Tropical Diseases. 17: e0011069. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0011069>.

Guimarães, N C., Freitas-de-Sousa, L A., Souza, M C S., Almeida, P D O., Dos-Santos, M C., Nunez, C V., Oliveira, R B., Mourão, R H V., Moura, V M., 2020. Evaluation of the anti-snakebite, antimicrobial and antioxidant potential of *Philodendron megalophyllum* Schott (Araceae), traditionally used in accidents caused by snakes in the western region of Pará, Brazil. Toxicon. 184, 99-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.05.024>.

Hingane, V C., Pangam, D., Dongre, P M., 2018. Inhibition of crude viper venom action by silver nanoparticles: a biophysical and biochemical study. Biophysics And Physicobiology. 15, 204-213. http://dx.doi.org/10.2142/biophysico.15.0_204.

Juca, T L., Ramos, M V., Freitas, C D T., Monteiro-Moreira, A C D O., 2017. Peptides from the Genus *Jatropha*: beyond isolation. Current Chemical Biology. 11(2), 100-109. <http://dx.doi.org/10.2174/2212796811666170425104117>.

Jung, H., 2020. Hyaluronidase: an overview of its properties, applications, and side effects. Archives of Plastic Surgery. 47(4), 297-300. <http://dx.doi.org/10.5999/aps.2020.00752>.

Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature. 227, 680-685. <http://dx.doi.org/10.1038/227680a0>.

Lans, C., Haper, T., Georges, K., Bridgewater, E. 2001. Medicinal and ethnoveterinary remedies of hunters in Trinidad. BMC Complement Altern Med. 1, 10. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-1-10>.

Liaqat, A., Mallhi, T H., Khan, Y H., Khokhar, A., Chaman, S., Ali, M. 2022. Anti-Snake Venom Property of Medicinal Plants: a comprehensive review of literature. Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences. 58, 1-16. <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902022e191124>.

Maciel, M C G., Fialho, E M., Guerra, R N M., Borges, V M., Kwasniewski, F H., Nascimento, F R F., 2014. *Tityus serrulatus* scorpion venom improves survival and lung inflammation in lethal sepsis induced by CLP in mice. Toxicon. 89, 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.06.018>.

Machado, J P V., Lima, P D., Alencar, V J B., Costa, L M L., Paz, W S., Ramos, R E S., Santos, I G A., Bezerra, L P., 2023. Incidence related to accidents caused by venomous animals in the Northeast Region of Brazil: a spatial approach and spatio-temporal

retrospective (2008 to 2017). *Acta Tropica*. 239, 106786. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106786>.

Machado, R J A., Junior, L G M., Monteiro, N K V., Silva-Júnior, A A., Portaro, F C V., Barbosa, E G., Braga, V A., Fernandes-Pedrosa, M F., 2015. Homology modeling, vasorelaxant and bradykinin-potentiating activities of novel hypotensin found in the scorpion venom from *Tityus stigmurus*. *Toxicon*. 101, 11-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.04.003>

Mendes, L C., Viana, G M M., Nencioni, A L A., Pimenta, D C., Beraldo-Neto, E., 2023. Scorpion Peptides and Ion Channels: an insightful review of mechanisms and drug development. *Toxins*. 15, 238. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins15040238>.

Mors, W B., Nascimento, M C., Pereira, B M. R., Pereira, N A. 2000. Plant natural products active against snake bite — the molecular approach. *Phytochemistry*. 55 (6), 627-642. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00229-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00229-6).

Moura, V M., Silva, W C R., Raposo, J D A., Freitas-de-Sousa, L A., Dos-Santos, M C., Oliveira, R B., Mourão, R H V., 2016. The inhibitory potential of the condensed-tannin-rich fraction of *Plathymenia reticulata* Benth. (Fabaceae) against *Bothrops atrox* envenomation. *Journal of Ethnopharmacology*. 183, 136-142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.047>.

Moura, V M., Guimarães, N C., Batista, L T., Freitas-de-Sousa, L A., Martins, J S., Souza, M C S., Almeida, P D O., Monteiro, W M., Oliveira, R B., Dos-Santos, M C., 2018. Assessment of the anti-snakebite properties of extracts of *Aniba fragrans* Ducke (Lauraceae) used in folk medicine as complementary treatment in cases of envenomation by *Bothrops atrox*. *Journal of Ethnopharmacology*. 213, 350-358. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.027>

Muhit, Md. A., Izumikawa, M., Umehara, K., Noguchi, H., 2016. Phenolic constituents of the Bangladeshi medicinal plant *Pothos scandens* and their anti-estrogenic, hyaluronidase inhibition, and histamine release inhibitory activities. *Phytochemistry*. 121, 30-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.10.009>.

Nascimento, E B., Costa, K A., Bertollo, C M., Oliveira, A C P., Rocha, L T., Souza, A L., Glória, M B A., Moraes-santos, T., Coelho, M M., 2005. Pharmacological investigation of the nociceptive response and edema induced by venom of the scorpion *Tityus serrulatus*. *Toxicon*. 45, 585-593. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.12.020>.

Nascimento, L S., Nogueira-Souza, P D., Rocha-Junior, J R., Monteiro-Machado, M., Strauch, M A., Prado, S A L., Melo, P A., Veiga-Junior, V F., 2021. Phytochemical composition, antsnake venom and antibacterial activities of ethanolic extract of *Aegiphila integrifolia* (Jacq) Moldenke leaves. *Toxicon*. 198, 121-131. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.05.004>.

Nath, S., Mukherjee, A K., 2023. Ethnomedicines for the treatment of scorpion stings: a perspective study. *Journal of Ethnopharmacology*. 305, 116078. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2022.116078>.

Nencioni, A L A., Beraldo-Neto, E., Freitas, L A., Dorce, V A C., 2018. Effects of Brazilian scorpion venoms on the central nervous system. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*. 24:3. <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-018-0139-x>.

Noh, H J., Hwang, D., Lee, E S., Hyun, J W., Yi, P H., Kim, G S., Lee, S E., Pang, C., Park, Y J., Chung, K H. 2015. Anti-inflammatory activity of a new cyclic peptide, citrusin XI, isolated from the fruits of *Citrus unshiu*. *Journal of Ethnopharmacology*. 163, 106-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.01.024>.

OCDE, 2022. *Teste nº 425: Toxicidade Oral Aguda: Procedimento Up-and-Down*, Diretrizes da OCDE para Testes de Produtos Químicos, Seção 4, Publicação da OCDE, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264071049-en>.

Oliveira, A L., Viegas, M F., Silva, S L., Soares, A M., Ramos, M J., Fernandes, P A., 2020. The chemistry of snake venom and its medicinal potential. *Nature Reviews Chemistry*. 6(7), 451-469. <http://dx.doi.org/10.1038/s41570-022-00393-7>.

Oliveira-Mendes B B R., Miranda S E M., Sales-Medina, D F., Magalhães, B F., Kalapothakis, Y., Souza, R P., 2019. Inhibition of *Tityus serrulatus* venom hyaluronidase affects venom biodistribution. *Plos Neglected Tropical Diseases*. 13:4. e0007048. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007048>.

Oliveira, U C., Nishiyama, M Y., Santos, M B V., Santos-da-Silva, A P., Chalkidis, H M., Souza-Imberg, A., Candido, D M., Yamanouye, N., Dorce, V A C., Junqueira-de-Azevedo, I L M., 2018. Proteomic endorsed transcriptomic profiles of venom glands from *Tityus obscurus* and *T. serrulatus* scorpions. *Plos One*. 13:3. e0193739. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193739>

Oukkache, N., Chgoury, F., Lalaoui, M., Cano, A A., Ghalim, N., 2013. Comparison between two methods of scorpion venom milking in Morocco. *Journal Of Venomous*

Animals and Toxins Including Tropical Diseases. 19: 5. <http://dx.doi.org/10.1186/1678-9199-19-5>.

Petricevich, V L., 2010. Scorpion Venom and the Inflammatory Response. Mediators of Inflammation, 1-16. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/903295>.

Pessini, A C., Takao, T T., Cavaleiro, E C., Vichnewski, W., Sampaio, S V., Giglio, J R., Arantes, E C., 2001. A hyaluronidase from *Tityus serrulatus* scorpion venom: isolation, characterization and inhibition by flavonoids. Toxicon. 39(10), 1495-1504. [http://dx.doi.org/10.1016/s0041-0101\(01\)00122-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0041-0101(01)00122-2).

Prazeres, L D K T., Aragão, T P., Brito, S A., Almeida, C L F., Silva, A D., Paula, M M. F., Farias, J S., Vieira, L D., Damasceno, B P G L., Rolim, L A., 2019. Antioxidant and Antiulcerogenic Activity of the Dry Extract of Pods of *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. (Fabaceae). Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019, 1-23. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/1983137>.

Pucca, M B., Amorim, F G., Cerni, F A., Bordon, K C F., Cardoso, I A., Anjolette, F A P., Arantes, E C., 2014. Influence of post-starvation extraction time and prey-specific diet in *Tityus serrulatus* scorpion venom composition and hyaluronidase activity. Toxicon. 90, 326-336. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.08.064>.

Pucca, M B., Cerni, F A., Pinheiro-Junior, E L., Bordon, K C F., Amorim, F G., Cordeiro, F A., Longhim, H T., Cremonez, C M., Oliveira, G H., Arantes, E C., 2015. *Tityus serrulatus* venom – A lethal cocktail. Toxicon. 108, 272-284. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.10.015>.

Reis, M B., Zoccal, K F., Gardinassi, L G., Faccioli, L H., 2019. Scorpion envenomation and inflammation: beyond neurotoxic effects. Toxicon. 167, 174-179. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.06.219>.

Sabandar, C W., Ahmat, N., Jaafar, F M., Sahidin, I., 2013. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review. Phytochemistry. 85, 7-29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009>.

Samra, R M., Othman, A., Elsbaey, M., Amen, Y., Shimizu, K., 2024. Comprehensive review on megastigmane glycosides: sources, bioactivities, and ¹³C NMR spectroscopic data. Phytochemistry Letters. 60, 19-89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2024.01.008>.

Santos-da-Silva, A P., Candido, D M., Nencioni, A L A., Kimura, L F., Prezotto-Neto, J P., Barbaro, K C., Chalkidis, H M., Dorce, V A C., 2017. Some pharmacological effects of *Tityus obscurus* venom in rats and mice. Toxicon. 126, 51-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.12.008>.

Saraiva, M E., Ulisses, A V R A., Ribeiro, D A., Oliveira, L G S., Macêdo, D G., Sousa, F F S., Menezes, I R A., Sampaio, E V S B., Souza, M M A., 2015. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. 171, 141-153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.05.034>.

SciFinder, 2024. Chemical Abstracts Service: Columbus. <https://scifinder.cas.org/>(Accessed 22 February 2024).

Severino, D N.; Pereira, R L.; Knysak, I.; Cândido, D M.; Kwasniewski, F H., 2008. Edematogenic Activity of Scorpion Venoms from the *Buthidae* Family and the Role of Platelet-Activating Factor and Nitric Oxide in Paw Edema Induced by *Tityus* Venoms. *Inflammation*. 32, 57-64. <http://dx.doi.org/10.1007/s10753-008-9102-2>.

Silva, M A., Souza, T G., Melo, M E G., Silva, J M., Lima, J R., Lira, A F A., Aguiar-Júnior, F C A., Martins, R D., Jorge, R J B., Chagas, C A., 2020. *Tityus stigmurus* venom causes genetic damage in blood and testicular cells and affects the number and morphology of gametogenic lineage cells in mice. *Toxicon*. 185, 114-119. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.07.006>.

Silva, N A., Albuquerque, C M R., Marinho, A D., Jorge, R J B., Silva-Neto, A G., Monteiro, H S A., Silva, T D., Silva, M V., Correia, M T S., Pereira, T P., 2016. Effects of *Tityus stigmurus* (Thorell 1876) (Scorpiones: Buthidae) venom in isolated perfused rat kidneys. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 88, 665-675. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201620150253>

Shopo, B., Mapaya, R J., Maroyi, A., 2022. Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in Gokwe South District, Zimbabwe. *South African Journal of Botany*. 149, 29-48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.052>.

Solano-Godoy, J A., González-Gómez, J C., Torres-Bonilla, K A., Floriano, R S., Miguel, A T S F., Murillo-Arango, W., 2021. Comparison of biological activities of *Tityus pachyurus* venom from two Colombian regions. *Journal Of Venomous Animals And Toxins Including Tropical Diseases*. 27, 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2021-0005>.

Srimathi, R., Sabareesh, V., Gurunathan, J., 2022. Naringenin isolated from *Citrus reticulata* blanco fruit peel inhibits the toxicity of snake venom proteins - An in vitro and in vivo study. *Toxicon*. 220, 106943. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.106943>.

Srinivasa, V., Sundaram, M S., Anusha, S., Hemshekhar, M., Nayaka, S C., Kemparaju, K., Basappa, Girish, K S., Rangappa, K S., 2014. Novel Apigenin Based Small Molecule

that Targets Snake Venom Metalloproteases. Plos One. 9:9, e106364. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106364>

Takeshige, Y., Kawakami, S., Matsunami, K., Otsuka, H., Lhieochaiphant, D., Lhieochaiphant, S., 2012. Oblongionosides A–F, megastigmane glycosides from the leaves of *Croton oblongifolius* Roxburgh. Phytochemistry. 80, 132-136. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.05.011>.

Tobassum, S., Tahir, H M., Zahid, M T., Gardner, Q A., Ahsan, M M., 2018. Effect of Milking Method, Diet, and Temperature on Venom Production in Scorpions. Journal of Insect Science. 18 (4). <http://dx.doi.org/10.1093/jisesa/iey081>.

Trentin, D S., Giordani, R B., Zimmer, K R., Silva, A G., Silva, M V., Correia, M T S., Baumvol, I J R., Macedo, A J., 2011. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. Journal of Ethnopharmacology. 137, 327-335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.05.030>.

Venancio, E J., Portaro, F C V., Kuniyoshi, A K., Carvalho, D C., Pidde-Queiroz, G., Tambourgi, D V., 2013. Enzymatic properties of venoms from Brazilian scorpions of *Tityus* genus and the neutralisation potential of therapeutical antivenoms. Toxicon, 69, 180-190. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.02.012>.

Wolff, F R., Broering, M F., Jurcevic, J D., Zermiani, T., Bramorski, A., de Carvalho Vitorino, J., Malheiros, A., Santin, J R., 2019. Safety assessment of *Piper cernuum* Vell. (Piperaceae) leaves extract: Acute, sub-acute toxicity and genotoxicity studies. Journal of Ethnopharmacology, 230, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.10.035>.

OMS. Organização Mundial da Saúde, 2007. Rabies and envenomings: a neglected public health issue: report of a consultative meeting, World Health Organization, Geneva, 10 January 2007. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/43858>

OMS. Organização Mundial da Saúde, 2019. WHO global report on traditional and complementary medicine 2019. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/312342>.

Ximenes, R M., Rabello, M M., Araújo, R M., Silveira, E R., Fagundes, F H R., Diz-Filho, E B S., Buzzo, S C., Soares, V C. G.; Toyama, D O., Gaeta, H H. 2012. Inhibition of Neurotoxic Secretory Phospholipases A2 Enzymatic, Edematogenic, and Myotoxic Activities by Harpalycin 2, an Isoflavone Isolated from *Harpalyce brasiliiana* Benth. Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine. 2012, 1-9. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/987517>.

Xue, G., Gong, L., Yuan, C., Xu, M., Wang, X., Jiang, L., Huang, M. 2017. A structural mechanism of flavonoids in inhibiting serine proteases. *Food & Function*. 8 (7), 2437-2443. <http://dx.doi.org/10.1039/c6fo01825d>.

Yamashita, F O., Torres-Rêgo, M., Gomes, J A S., Félix-Silva, J., Passos, J G R., Ferreira, L S., Silva-Junior, A A., Zucolotto, S M., Fernandes-Pedrosa, M F., 2020. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) fruit juice decreases acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* venom: potential application for auxiliary treatment of scorpion stings. *Toxicon*. 179, 42-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.02.02>.

4 CONCLUSÕES

- A fitoquímica do látex de *J. mutabilis* demonstrou uma diversidade de classes de moléculas bioativas, dentre elas, peptídeos cíclicos, glicosídeos, flavonóides, alcalóides e terpenóides;
- O látex de *J. mutabilis* não apresentou sinais de toxicidade aguda em camundongos na dose de 2,000 mg/kg administrado via oral;
- O látex de *J. mutabilis* inibiu em 100% as atividades enzimáticas da peçonha de *T. stigmurus* nos ensaios *in vitro* e demonstrou capacidade de interação com os compostos da peçonha em SDS-PAGE e UV-VIS;
- O látex de *J. mutabilis* apresentou capacidade antiveneno *in vivo*, reduzindo os sintomas locais induzidos pelo envenenamento da peçonha de *T. stigmurus* nos camundongos.

5 SÚMULA CIRCULAR

- **Identificação:**

Nome e profissão: Felipe Santana de Souza, Biólogo

Laboratório: Laboratório de Etnofarmacologia e Fitoquímica

Departamento: Departamento de Antibióticos

- **Produção Científica:**

Artigo 1. Felipe Santana de Souza, Bruno Oliveira de Veras, Lorena de Mendonça Lucena, Rosana Casoti, René Duarte Martins, Rafael Matos Ximenes. Antivenom Potential of the Latex of *Jatropha mutabilis* Baill. (Euphorbiaceae) against *Tityus stigmurus* Venom: Evaluating its Ability to Neutralize Toxins and Local Effects in Mice. Artigo publicado no Journal of Ethnopharmacology.

Impactor Factor: 4.8. **Qualis:** A1. Acesso: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118642>.

Artigo 2. Alexandra Mendes Santana Lima, Rianne Ferreira Felix, **Felipe Santana de Souza**, Márcia Vanusa da Silva, Ranilson de Souza Bezerra, Francisco Canindé de Sousa Junior, Bruno Oliveira de Veras. Potencial Antiofídico do “Jatobá” *Hymenaea rubriflora* (Ducke, 1953) Frente as Peçonhas de *Bothrops jararaca* (Wied-Neuwied, 1824) e *Bothrops leucurus* (Wagler, 1824). Artigo aceito para publicação na Revista Evidência: Biociências, Saúde e Inovação. **Qualis:** B1.

Artigo 3. Matheus L. B. Feitosa, César M. A. Correab, **Felipe S. Souza**, André F. A. Lira. Functional traits as an Indicator of Urbanization Impact on the Scorpion Assemblage in Neotropical Forest. Artigo publicado na Canadian Journal of Zoology. **Impact Factor:** 1.0. **Qualis:** A4. Acesso: [dx.doi.org/10.1139/cjz-2024-0037](https://doi.org/10.1139/cjz-2024-0037).

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras:

1. **I Encontro do PPGCB: A ciência como uma ferramenta da AGENDA 2030 para o desenvolvimento sustentável** – Ouvinte.
2. **Verão com Ciência na Cecine 2023** – na qualidade de coordenador e ministrante do minicurso: “Introdução ao estudo de escorpiões: da teoria à prática”.
3. **EXPO CAV-UFPE e Semana Nacional da Ciência e Tecnologia 2023** – na qualidade de monitor e ministrante da palestra: Projeto: Estudo do comportamento e potencialidades da peçonha de escorpiões brasileiros.
4. **Exposição Vitória: Fauna e Flora** – na qualidade de entrevistado e palestrante sobre o escorpionismo no Brasil. Link: <https://www.youtube.com/watch?v=PnmRsk8G0uw>
5. **XXI Encontro de Zoologia do Nordeste** – na qualidade de avaliador ad hoc de trabalhos técnico-científicos.

6. **III SIMPÓSIO/CURSO DE TOXINOLOGIA BÁSICA & APLICADA (SIMTOX): Do Envenenamento à Aplicação Biotecnológica e Medicinal** – na qualidade de ouvinte.
7. **2nd International Symposium on Therapeutic Innovation**, promovido pelo Departamento de Bioquímica do Centro de Biociências – na qualidade de ouvinte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADRIÃO, A. A. X. Plant-Derived Toxin Inhibitors as Potential Candidates to Complement Antivenom Treatment in Snakebite Envenomations. **Frontiers In Immunology**, 13: 842576, 2022. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2022.842576>.
- ALBUQUERQUE, I. C. S. *et al.* Escorpionismo em Campina Grande – PB. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2004.
- ALBUQUERQUE, U. P. *et al.* Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325-354, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.017>.
- ALMEIDA, D. D. *et al.* Profiling the resting venom gland of the scorpion *Tityus stigmurus* through a transcriptomic survey. **Bmc Genomics**, v. 13, n. 1, p. 362, 2012. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-13-362>.
- AMADO, T. F. *et al.* Vulnerable areas to accidents with scorpions in Brazil. **Tropical Medicine & International Health**, v. 26, n. 5, p. 591-601, 2021. <http://dx.doi.org/10.1111/tmi.13561>.
- BATISTA, C. V. F. *et al.* Proteomic analysis of the venom from the scorpion *Tityus stigmurus*: biochemical and physiological comparison with other *tityus* species. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 146, n. 1-2, p. 147-157, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.12.004>.
- BATTIROLA, L. D. *et al.* A case of predation on *Ancylometes rufus* (Walckenaer, 1837) (Araneae, Ctenidae) by *Tityus strandi* (Werner, 1939) (Scorpiones, Buthidae) in Southern Amazonia. **Acta Biol**, v. 44, p. 145-151, 2015.
- BERTANI, R. *et al.* Alien scorpions in the Municipality of São Paulo, Brazil – evidence of successful establishment of *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) and first records of *Broteochactas parvulus* Pocock, 1897, and *Jaguajir rochae* (Borelli, 1910). **Bioinvasions Records**, v. 7, n. 1, p. 89-94, 2018. <http://dx.doi.org/10.3391/bir.2018.7.1.14>.
- BERTANI, R.; GIUPPONI, A. P. L.; MORENO-GONZÁLES, J. A. 2024. Escorpiões do Brasil - lista dos gêneros e espécies de escorpiões registrados para o Brasil (Arachnida, Scorpiones). Versão 1.0. On-line at <http://www.ecoevo.com.br/escorpioes.php> Accessed in: 20/01/2024.
- BITTENBINDER, M. A. *et al.* Tissue damaging toxins in snake venoms: mechanisms of action, pathophysiology and treatment strategies. **Communications Biology**, v. 7, n. 1, p. 1-17, 2024. <http://dx.doi.org/10.1038/s42003-024-06019-6>.
- BORGES, A. *et al.* Genetic and toxinological divergence among populations of *Tityus trivittatus* Kraepelin, 1898 (Scorpiones: Buthidae) inhabiting paraguay and argentina. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 12, p. e0008899, 2020. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0008899>.
- BORGES, A. *et al.* Venom diversity in the Neotropical scorpion genus *Tityus*: implications for antivenom design emerging from molecular and immunochemical analyses across endemic areas of scorpionism. **Acta Tropica**, v. 204, p. 105346, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105346>.

BRAGA, F. C. Brazilian traditional medicine: historical basis, features and potentialities for pharmaceutical development. **Journal of Traditional Chinese Medical Sciences**, v. 8, p. 44-50, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcms.2020.06.005>.

BRASIL, 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 90, 16 de março. **Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos**.

BRASIL, 2009. **Manual de controle de escorpiões**. SAÚDE, M. D. Brasília: Ministério da Saúde: 72 p. 2009.

BRASIL, 2023. **Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação**. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/animaisp/bases/animaisbrnet.def> (acessado em 20 de dezembro de 2023).

BRASIL, 2024. **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 17 Jun 2024.

BRIDGES, C. R. *et al.* Ecophysiological Adaptations to Dry Thermal Environments Measured in Two Unrestrained Namibian Scorpions, *Parabuthus villosus* (Buthidae) and *Opisthophthalmus flavescens* (Scorpionidae). **Physiological Zoology**, v. 70, n. 2, p. 244-256, 1997. <http://dx.doi.org/10.1086/639587>.

CARMO, A O. *et al.* Molecular and functional characterization of metalloserrulases, new metalloproteases from the *Tityus serrulatus* venom gland. **Toxicon**, 90, 45-55, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.07.014>.

CARMO, A. O. *et al.* Evolution of alternative methodologies of scorpion antivenoms production. **Toxicon**, v. 97, p. 64-74, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.02.007>.

CARRERA-FERNÁNDEZ, M. C. *et al.* Medicinal plants from Mexico used in the treatment of scorpion sting. **Toxicon**, 230, 107-172, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107172>.

CARTAXO, S. L. *et al.* Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326-342, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.003>.

CAVALCANTE, B. N.; SANTOS, A. D. C.; ALMEIDA, J. R. G. S. The genus *Jatropha* (Euphorbiaceae): A review on secondary chemical metabolites and biological aspects. **Chemico-Biological Interactions**, 318: 108976, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.108976>.

CAVALCANTE, J. S. *et al.* Blood plasma proteome alteration after local tissue damage induced by *Bothrops erythromelas* snake venom in mice. **Journal of Proteomics**, 269, 104742, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104742>.

CHIPPAUX, J. P.; GOYFFON, M. Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. **Acta Tropica**, v. 107, n. 2, p. 71-79, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.05.021>.

CHIPPAUX, J-P. Recommandations pour la production, le contrôle et l'enregistrement des immunoglobulines antivenimeuses. **Biologie Aujourd'Hui**, v. 204, n. 1, p. 87-91, 2010. <http://dx.doi.org/10.1051/jbio/2009043>.

CID-URIBE, J. I. *et al.* Scorpion venomomics: a 2019 overview. **Expert Review of Proteomics**, v. 17, n. 1, p. 67-83, 2019. <http://dx.doi.org/10.1080/14789450.2020.1705158>.

COSTA, E. C. *et al.* Perfil fitoquímico, atividade antioxidante e fotoprotetora de extratos de *Jatropha mutabilis* (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 20, 314-321, 2018.

COSTA, E. C. *et al.* *Jatropha mutabilis*, a new source of vitexin: hplc quantification and pharmacological evaluation. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 6200-6203, 2020. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2020.1837807>.

DAVIS, C. C., CHOISY, P. Medicinal plants meet modern biodiversity science. **Current Biology**, v. 34, n. 4, p. 158-173, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2023.12.038>.

DE VERAS, B. O. *et al.* Chemical composition and evaluation of the antinociceptive, antioxidant and antimicrobial effects of essential oil from *Hymenaea cangaceira* (Pinto, Mansano & Azevedo) native to Brazil: a natural medicine. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 247, p. 112265, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2019.112265>.

DEVAPPA, R. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutritional, Biochemical, and Pharmaceutical Potential of Proteins and Peptides from *Jatropha*: review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 11, p. 6543-6555, 2010. <http://dx.doi.org/10.1021/jf100003z>.

DHARMADASA, R. M. *et al.* Ethnopharmacological survey on medicinal plants used in snakebite treatments in Western and Sabaragamuwa provinces in Sri Lanka. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 179, p. 110-127, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.041>.

DÍAZ, C. *et al.* Proteomic profile of the venom of three dark-colored Tityus (Scorpiones: buthidae) from the tropical rainforests of costa rica. **Acta Tropica**, v. 248, p. 107031, dez. 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2023.107031>.

DOMINGO-FERNÁNDEZ, D. *et al.* Modern drug discovery using ethnobotany: a large-scale cross-cultural analysis of traditional medicine reveals common therapeutic uses. **Isience**, v. 26, n. 9, p. 107729, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.isci.2023.107729>.

DUARTE, L. L. *et al.* Urbanization Impact on Scorpion Stings: an epidemiological study. **Toxicon**, p. 108039, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2024.108039>

DUNLOP, J. A.; WEBSTER, M. Fossil evidence, terrestrialization and arachnid phylogeny. **J. Arachn**, 27, 86-93, 1999.

EMIDIO, B-N.; IVO, L.; ABRAHAO, N. A. L. Dopaminergic metabolism is affected by intracerebral injection of Tb II-I isolated from *Tityus bahiensis* scorpion venom. **Toxicon**: X, v. 15, p. 100126, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxcx.2022.100126>.

ESPINAL, M. R.; LÓPEZ, L. I.; MORA, J. M. Consumption event of the Pallas's mastiff bat (*Molossus molossus*) by the Central America bark scorpion (*Centruroides exilimanus*) in Honduras. **Therya Notes**, v. 1, n. 1, p. 110-114, 2020. http://dx.doi.org/10.12933/therya_notes-20-24.

ESTRADA-GÓMEZ, S. *et al.* Characterizing the biological and biochemical profile of six different scorpion venoms from the Buthidae and Scorpionidae family. **Toxicon**, v. 130, p. 104-115, 14 fev. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.02.007>.

FÉLIX-SILVA, J. *et al.* Aqueous Leaf Extract of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) Inhibits Enzymatic and Biological Actions of *Bothrops jararaca* Snake Venom. **Plos One**, v. 9, n. 8, p. e104952, 2014. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0104952>.

FÉLIX-SILVA, J. *et al.* Inhibition of local effects induced by *Bothrops erythromelas* snake venom: assessment of the effectiveness of brazilian polyvalent bothropic antivenom and aqueous leaf extract of *Jatropha gossypifolia*. **Toxicon**, v. 125, p. 74-83, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.11.260>.

FOERSTER, S. I. A. *et al.* Notes on the courtship behavior of the parthenogenetic scorpion *Tityus stigmurus*. **Acta Arachnologica**, v. 70, n. 2, p. 83-86, 2021. <http://dx.doi.org/10.2476/asjaa.70.83>.

FREITAS, G. C. C.; VASCONCELOS, S. D. Scorpion fauna of the island of Fernando de Noronha, Brazil: first record of *Tityus stigmurus* (thorell, 1877) (arachnida, buthidae). **Biota Neotropica**, v. 8, n. 2, p. 235-237, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-06032008000200019>.

FURTADO, A. A. *et al.* Biology, venom composition, and scorpionism induced by brazilian scorpion *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Butidae). **Toxicon**, v. 185, p. 36-45, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.06.015>.

GANGUR, A. N. *et al.* Changes in predator exposure, but not in diet, induce phenotypic plasticity in scorpion venom. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1863, p. 20171364, 2017. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.1364>.

GBIF: The Global Biodiversity Information Facility (2024). Disponível em <https://www.gbif.org/what-is-gbif> Acessed in: 20/01/2024.

GIRÓN, M. E. Functional characterization of fibrinolytic metalloproteinases (colombienases) isolated from *Bothrops colombiensis* venom. **Toxicon**, 74, 116-126, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.07.025>.

GOMES, J. A. S. *et al.* Aqueous Leaf Extract of *Jatropha molissima* (Pohl.) Bail. Decreases Local Effects Induced by Bothropic Venom. **Biomed Research International**, v. 2016, p. 1-13, 2016. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6101742>.

GUERRA-DUARTE, C. *et al.* Scorpion envenomation in Brazil: current scenario and perspectives for containing an increasing health problem. **Plos Neglected Tropical Diseases**, 17: e0011069, 2023. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0011069>.

GUTIÉRREZ, J. Global Availability of Antivenoms: the relevance of public manufacturing laboratories. **Toxins**, v. 11, n. 1, p. 5, 24 2018. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins11010005>.

GUTIÉRREZ, J. M. *et al.* Snakebite envenoming. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, 14 set. 2017. doi:10.1038/nrdp.2017.63.

GUTIÉRREZ, J. M.; CHIPPAUX, J. P.; ISBISTER, G. K. PLOS Neglected Tropical Diseases broadens its coverage of envenomings caused by animal bites and stings. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 6, p. 0009-481, 2021. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0009481>.

GUTIÉRREZ, J. M.; R. CASEWELL, N.; LAUSTSEN, A. H. Progress and Challenges in the Field of Snakebite Envenoming Therapeutics. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, 1 ago. 2024. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-022024-033544>

JORGE, R. J. B. *et al.* Plants and Phytocompounds Active Against *Bothrops* Venoms. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 22, p. 2003-2031, 2019. <http://dx.doi.org/10.2174/1568026619666190723153925>.

KALAPOTHAKIS, Y. *et al.* Divergence in toxin antigenicity and venom enzymes in *Tityus melici*, a medically important scorpion, despite transcriptomic and phylogenetic affinities with problematic Brazilian species. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 263, p. 130311–130311, 23 fev. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130311>.

LANS, C. *et al.* Medicinal and ethnoveterinary remedies of hunters in Trinidad. **BMC Complement Altern Med**. 1, 10, 2001. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-1-10>.

LAUSTSEN, A. H. *et al.* Pros and cons of different therapeutic antibody formats for recombinant antivenom development. **Toxicon**, v. 146, p. 151-175, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.03.004>.

LEÓN, G. *et al.* Current technology for the industrial manufacture of snake antivenoms. **Toxicon**, v. 151, p. 63-73, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.06.084>.

LIAQAT, A. *et al.* Anti-Snake Venom Property of Medicinal Plants: a comprehensive review of literature. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, p. 1-10, 2022. <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902022e191124>.

LIRA, A. F. A.; ALBUQUERQUE, C. M. R. ; DE SOUZA, A. M. Intraguild predation and cannibalism in Scorpions (Scorpiones: Buthidae) in the Brazilian Atlantic Forest. **North-Western Journal of Zoology**, v. 13, p. 356-358, 2017.

LIRA-DA-SILVA, R. M.; AMORIM, A. M.; BRAZIL, T. K. Envenenamento por *Tityus stigmurus* (Scorpiones; Buthidae) no Estado da Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 3, p. 239-245, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822000000300001>.

LOURENÇO, W. R. Parthenogenesis in scorpions: some history - new data. **Journal Of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 14, n. 1, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-91992008000100003>.

LOURENÇO, W. R. Scorpions and life-history strategies: from evolutionary dynamics toward the scorpionism problem. **Journal Of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 24, n. 1, 2018. <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-018-0160-0>.

MACHADO, J. P. V. *et al.* Incidence related to accidents caused by venomous animals in the Northeast Region of Brazil: a spatial approach and spatio-temporal retrospective (2008 to 2017). **Acta Tropica**, v. 239, p. 106786, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106786>.

MACHADO, R. J. A. *et al.* Homology modeling, vasorelaxant and bradykinin-potentiating activities of novel hypotensin found in the scorpion venom from *Tityus stigmurus*. **Toxicon**, 101, 11-18, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.04.003>

MAGALHÃES, S. F. V. *et al.* Snakebite envenomation in the Brazilian Amazon: a descriptive study. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 113, n. 3, p. 143-151, 2019. <http://dx.doi.org/10.1093/trstmh/try121>.

MARCUSSI, S. *et al.* **Escorpiões: Biologia, envenenamento e mecanismo de ação das toxinas**, 1ed. São Paulo: FUNPEC, 2011.

MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F. *et al.* Serotherapy against Voltage-Gated Sodium Channel-Targeting α Toxins from *Androctonus* Scorpion Venom. **Toxins**, 11: 63, 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins11020063>.

MEIJDEN, A. V. D.; COELHO, P.; RASKO, M. Variability in venom volume, flow rate and duration in defensive stings of five scorpion species. **Toxicon**, v. 100, p. 60-66, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.04.011>.

MENDES, L. C. *et al.* Scorpion Peptides and Ion Channels: an insightful review of mechanisms and drug development. **Toxins**, v. 15, n. 4, p. 238, 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins15040238>.

MORS, W. B. *et al.* Plant natural products active against snake bite — the molecular approach. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 627-642, 2000. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00229-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00229-6).

NASCIMENTO, E. B. *et al.* Pharmacological investigation of the nociceptive response and edema induced by venom of the scorpion *Tityus serrulatus*. **Toxicon**, v. 45, n. 5, p. 585-593, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.12.020>.

NATH, S.; MUKHERJEE, A. K. Ethnomedicines for the treatment of scorpion stings: a perspective study. **Journal of Ethnopharmacology**, 305, 116078, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2022.116078>.

NENCIONI, A. L. A. *et al.* Effects of Brazilian scorpion venoms on the central nervous system. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 24, n. 3, 2018. <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-018-0139-x>.

NICOLA, M. R. *et al.* Scorpions: taxonomy, anatomy, medical relevance, venom composition, pharmacology, toxicology and clinical management. **Encyclopedia of Toxicology**, p. 445-456, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-824315-2.00209-8>.

NISANI, Z.; HAYES, W. K. Venom-spraying behavior of the scorpion *Parabuthus transvaalicus* (Arachnida: Buthidae). **Behavioural Processes**, v. 115, p. 46-52, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2015.03.002>.

OLIVEIRA, A. L. The chemistry of snake venom and its medicinal potential. **Nature Reviews Chemistry**, v. 6, n. 7, 451-469, 2022. <http://dx.doi.org/10.1038/s41570-022-00393-7>.

OLIVEIRA, U. C. *et al.* Proteomic endorsed transcriptomic profiles of venom glands from *Tityus obscurus* and *T. serrulatus* scorpions. **Plos One**, v. 13, n. 3, p. e0193739, 2018. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0193739>.

OLIVEIRA-MENDES, B. B. R., *et al.* Inhibition of *Tityus serrulatus* venom hyaluronidase affects venom biodistribution. **Plos Neglected Tropical Diseases**, 13:4. e0007048, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007048>.

ORTIZ, E. *et al.* Scorpion venom components as potential candidates for drug development. **Toxicon**, v. 93, p. 125-135, 2015. <http://doi.10.1016/j.toxicon.2014.11.233>

OSSANAI, L. T. *et al.* Effects of a toxin isolated from *Tityus bahiensis* scorpion venom on the hippocampus of rats. **Life Sciences**, v. 91, n. 7-8, p. 230-236, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2012.06.029>.

PAPP, F. *et al.* Tst26, a novel peptide blocker of Kv1.2 and Kv1.3 channels from the venom of *Tityus stigmurus*. **Toxicon**, v. 54, n. 4, p. 379-389, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.05.023>.

PESSINI, A. C. *et al.* A hyaluronidase from *Tityus serrulatus* scorpion venom: isolation, characterization and inhibition by flavonoids. **Toxicon**, v. 39, n. 10, p. 1495-1504, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/s0041-0101\(01\)00122-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0041-0101(01)00122-2).

PETRICEVICH, V L. Scorpion Venom and the Inflammatory Response. **Mediators of Inflammation**, 1-16, 2010. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/903295>.

PIMENTEL, L. A. *et al.* Poisoning by *Jatropha ribifolia* in goats. **Toxicon**, 59, 5, p. 587-591, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.01.002>.

Plants of the World: *Jatropha* L. | Plants of the World Online | Kew Science. (2024). Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:325951-2#children>

PRAZERES, L. D. K. T. *et al.* Antioxidant and Antiulcerogenic Activity of the Dry Extract of Pods of *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. (Fabaceae). **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1-23, 2019. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/1983137>.

PUCCA, M B., *et al.* *Tityus serrulatus* venom – A lethal cocktail. **Toxicon**. 108, 272-284, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.10.015>.

PUCCA, M. B. *et al.* Influence of post-starvation extraction time and prey-specific diet in *Tityus serrulatus* scorpion venom composition and hyaluronidase activity. **Toxicon**, v. 90, p. 326-336, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.08.064>.

RAMALHO, S D. *et al.* Biologically Active Orbitides from the Euphorbiaceae Family. **Planta Medica**, 84, 558-567, 2017. <https://doi.org/10.1055/s-0043-122604>

REIN, J. O. 2024. **The Scorpion Files**. 2024. Disponível. <https://www.ntnu.no/ub/scorpion-files/> Acessed in: 20/01/2024.

REIS, M. B. *et al.* Scorpion envenomation and inflammation: beyond neurotoxic effects. **Toxicon**, v. 167, p. 174-179, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.06.219>.

RODRÍGUEZ-CABRERA, T. M.; MARTÍNEZ-MUÑOZ, C. A.; TERUEL, R. Predation by the scorpion *Rhopalurus junceus* (Scorpiones: Buthidae) on the centipede *Scolopocryptops ferrugineus* (Scolopendromorpha: Scolopocryptopidae). **Revista Ibérica de Aracnologia**, v. 26, p. 85-86, 2015.

SABANDAR, C. W. *et al.* Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review. **Phytochemistry**, v. 85, p. 7-29, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009>.

SANAEI-ZADEH, H. Hypersensitivity reaction to scorpion antivenom. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 5, n. 5, p. 51, 2014. <http://dx.doi.org/10.4103/2229-5178.144536>.

SANTOS, M. J.; MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. **Biologia reprodutiva de duas espécies de *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) em Caatinga, Nordeste do Brasil**. Revista Brasileira de Botânica, v. 28, n. 2, p. 361-373, 2005.

SHOPO, B.; MAPAYA, R. J.; MAROYI, A. Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in Gokwe South District, Zimbabwe. **South African Journal of Botany**, v. 149, p. 29-48, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.052>.

SILVA, M. A. *et al.* Role of venom quantity in the feeding behavior of *Jaguajir rochae* (Scorpiones: buthidae). **Acta Ethologica**, v. 22, n. 2, p. 99-104, 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s10211-019-00312-y>.

SIMONE, Y.; MEIJDEN, A. V. D. Armed stem to stinger: a review of the ecological roles of scorpion weapons. **Journal Of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 27, 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2021-0002>.

SIQUEIRA, T. S. *et al.* Scorpion envenomation in Brazil and its relationship with the social determinants of health: a population-based ecological study. **Acta Tropica**, v. 253, p. 107165, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107165>.

SOLANO-GODOY, J. A. *et al.* Comparison of biological activities of *Tityus pachyurus* venom from two Colombian regions. **Journal Of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 27, n. 2021, 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2021-0005>.

SOUZA E SILVA, J. L. EFEITOS DA DENSIDADE POPULACIONAL E DA ATRATIVIDADE FLORAL SOBRE A FREQUÊNCIA DE VISITANTES FLORAIS DE *Jatropha mutabilis* (POHL) BAILL. (EUPHORBIACEAE): UMA ESPÉCIE MONÓICA. 2014. Dissertação. Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

TOBASSUM, S. *et al.* Effect of Milking Method, Diet, and Temperature on Venom Production in Scorpions. **Journal Of Insect Science**, v. 18, n. 4, p. 19, 2018. <http://dx.doi.org/10.1093/jisesa/iey081>.

VENANCIO, E. J. *et al.* Enzymatic properties of venoms from Brazilian scorpions of *Tityus* genus and the neutralization potential of therapeutical antivenoms. **Toxicon**, v. 69, p. 180-190, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.02.012>.

WADDINGTON, J.; RUDKIN, D. M.; DUNLOP, J. A. A new mid-Silurian aquatic scorpion—one step closer to land?. **Biology Letters**, v. 11, n. 1, p. 20140815, 2015. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2014.0815>.

WARD, M. J.; ELLSWORTH, S. A.; NYSTROM, G. S. A global accounting of medically significant scorpions: epidemiology, major toxins, and comparative resources in harmless counterparts. **Toxicon**, v. 151, p. 137-155, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.07.007>.

WENDRUFF, A. J. *et al.* A Silurian ancestral scorpion with fossilised internal anatomy illustrating a pathway to arachnid terrestrialisation. **Sci Rep**, v. 10, n. 14, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56010-z>

WIEZEL, G. A. *et al.* The complex repertoire of *Tityus* spp. venoms: advances on their composition and pharmacological potential of their toxins. **Biochimie**. 220, 144-166, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2023.12.012>.

World Health Organization, 2013. **WHO Traditional Medicine Strategy 2014–2023 (WHO)**. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241506096>

World Health Organization, 2007. **Rabies and envenomings: a neglected public health issue: report of a consultative meeting, World Health Organization, Geneva, 10 January 2007**. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/43858>

YAMASHITA, F. O., *et al.* Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) fruit juice decreases acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* venom: potential application for

auxiliary treatment of scorpion stings. **Toxicon**, 179, 42-52, 2020.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.02.02>.

ANEXOS

1. Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) – UFPE.



Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 01 de setembro de 2023

Ofício nº 66/23

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof. Rafael Matos Ximenes

Departamento de Antibióticos/CB

Processo nº101/2022

Certificamos que a proposta intitulada “**Estudo do potencial antiescorpiônico de *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill (Euphorbiaceae) no envenenamento experimental induzido pela peçonha de *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae)**”. Registrado como nº101/2022 sob a Responsabilidade do Prof., Rafael Matos Ximenes. Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/08/2023

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/11/2023 a 31/12/2024
Espécie/linhagem/raça	Mus musculus, linhagem Swiss (camundongos heterogênicos)
Nº de animais	103 animais
Peso/Idade	25 a 35 g/ 60 dias
Sexo	Machos (88) Fêmea (15)
Origem: Biotério de Criação	Biotério de Criação do Departamento de Antibióticos
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de Experimentação do Departamento de Antibióticos – UFPE

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691

2. Autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio.



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 63945-5	Data da Emissão: 17/11/2022 16:51:01	Data da Revalidação: 01/03/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Renê Duarte Martins	CPF: 024.774.134-57
Título do Projeto: Estudo de comportamento, peçonha e efeitos biológicos da peçonha de escorpiões brasileiros	

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Experimentação efeitos biológicos	07/2021	05/2023
2	Extração da peçonha	07/2021	05/2023
3	Experimentos comportamentais e ecológicos	07/2021	05/2023
4	Coleta dos animais	05/2021	05/2022

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Meykson Alexandre da Silva	Pesquisador/ Pós-graduando	111.545.974-07	Brasileira
2	Rafael Matos Ximenes	Colaborador	048.795.254-01	Brasileira
3	Nelson Correia de Lima Júnior	Colaborador	067.171.304-31	Brasileira
4	José Rivaldo de Lima	Pesquisador	113.873.064-56	Brasileira
5	Felipe Santana de Souza	Iniciação Científica; manuseio; manutenção e extração	111.005.144-14	Brasileira
6	Stenio Italo Araujo Foerster	Colaborador	082.254.994-84	Brasileira
7	RENATA DOS SANTOS MÉLO	estagiária pibic	711.721.004-46	Brasileira
8	JOAO VITOR PEREIRA DA SILVA	estagiário	704.717.394-30	Brasileira

Observações e ressalvas

1	Deve-se observar as as recomendações de prevenção contra a COVID-19 das autoridades sanitárias locais e das Unidades de Conservação a serem acessadas.
2	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender as exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender as exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, a difusão ou a pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria ICMBio nº 748/2022, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.

3. Autorização do Sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado – SisGen.



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão

Cadastro nº AB87A02

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro:	AB87A02
Usuário:	Universidade Federal de Pernambuco
CPF/CNPJ:	24.134.488/0001-08
Objeto do Acesso:	Patrimônio Genético/CTA
Finalidade do Acesso:	Pesquisa

Espécie

Jatropha mutabilis

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: Atividades antiveneno e anti-inflamatória do exsudato de *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae)

Equipe

Rafael Matos Ximenes	Universidade Federal de Pernambuco
Bruno de Oliveira Veras	Universidade Federal de Pernambuco
Felipe Santana de Souza	Universidade Federal de Pernambuco
René Duarte Martins	Universidade Federal de Pernambuco

Envios de Amostra

Espécie:	<i>Jatropha mutabilis</i>
Tipo do Patrimônio Genético:	-
Forma do Patrimônio Genético:	Outra
Instituição Destinatária:	Universidad de Sevilla
Sede da Instituição Destinatária:	C. Prof. García González, 2, Sevilla, Andaluzia, 41012, Espanha
Data do Cadastro:	11/01/2023 17:22:06
Situação do Cadastro:	Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético