

## PADRONIZAÇÃO DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NECROSANTE DE VENENOS BOTRÓPICOS E DA POTÊNCIA ANTINECROSANTE DO ANTIVENENO DE *B. JARARACA*

Medardo SILES VILLARROEL\*

Flávio ZELANTE\*\*

Raymundo ROLIM ROSA\*\*\*

Reynaldo Schwindt FURLANETTO\*\*\*\*

**RESUMO:** Após a comprovação de que a cobaia (*Cavia porcellus*), dentre os animais usuais de laboratório, é o que apresenta maior sensibilidade local aos venenos botrópicos em estudo, os autores verificaram a atividade necrosante local dos venenos de *B. jararaca*, *B. alternatus*, *B. cotiara*, *B. neuwiedi*, *B. pradoi*, *B. jararacussu* e *B. moojeni*, padronizando-a em termos de Dose Mínima Necrosante (DMN) ou Unidade Necrosante (UN). Constataram que o veneno da espécie *B. moojeni* é o que apresenta maior atividade local, ao passo que os venenos de *B. alternatus* e *B. jararacussu* demonstraram ser menos ativos. Foi possível o estabelecimento do conceito de Unidade Antinecrosante (UAN) do antiveneno de *B. jararaca*, em relação ao veneno específico. Constataram, também, que o efeito neutralizante de uma UAN do antiveneno de *B. jararaca* somente exerce plena atividade quando administrada por via intravenosa, imediatamente após a inoculação de uma DMN do veneno específico.

**UNITERMOS:** Ação local dos venenos botrópicos; quantificação da atividade necrosante de venenos botrópicos; quantificação da atividade antinecrosante do antiveneno de *B. jararaca*.

### INTRODUÇÃO

As observações de Brazil e Rangel Pestana<sup>3</sup> (1909) e de outros pesquisadores que os seguiram<sup>1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 11</sup>, comprovaram que os venenos botrópicos possuem, além de suas atividades tóxica e coagulante, uma ação

\* Professor Livre Docente do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

\*\* Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

\*\*\* Diretor do Serviço de Imunologia do Instituto Butantan e Professor Assistente Doutor do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

\*\*\*\* Professor Catedrático do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo ("in memoriam").

Endereço para correspondência: Caixa Postal 4365 — São Paulo — Brasil.

local responsável pela necrose do tecido afetado, cuja intensidade é variável de acordo com a espécie de serpente e com a dose de veneno inoculada.

Esta atividade, responsável pelas seqüelas dos acidentes botrópicos, não tem merecido a devida atenção dos pesquisadores, sendo poucos os trabalhos experimentais em que é analisada.

Eichbaum<sup>4</sup> (1947) verificou que a inoculação intravenosa de anti-venenos botrópicos mono e polivalentes, após a administração do veneno de *B. jararaca* por via intradérmica em cães e em coelhos, não impedia a ação necrosante do veneno, mesmo quando o imunessoro era inoculado em altas doses.

Schöttler<sup>10</sup> (1955/56), através de inoculações subcutâneas em camundongos, verificou que a severidade das reações locais dependia da dose do veneno botrópico inoculado e não da sua real toxicidade. Estes efeitos eram neutralizados, até determinado grau, pelos antivenenos específicos, mesmo quando aplicados em doses adequadas.

Araújo e Belluomini<sup>2</sup> (1960/62) verificaram, em várias espécies de animais domésticos e de laboratório, a sensibilidade local a venenos de serpentes do gênero *Bothrops*. A cobaia demonstrou ser mais sensível principalmente aos venenos das espécies *B. newwiedi*, *B. jararaca*, *B. atrox* e *B. jararacussu*.

Homma e Tu<sup>6</sup> (1970), estudando a ação de antivenenos sobre o efeito local conseqüente à inoculação de venenos de serpentes do sudeste da Ásia, demonstraram, em camundongos, que o antiveneno, inoculado por via intravenosa, exerce atividade neutralizadora, principalmente quando administrado imediatamente após a inoculação do veneno. Quando inoculado 10 a 30 minutos após, o antiveneno tem sua atividade neutralizadora diminuída em relação ao efeito local. Por outro lado, quando inoculado por via intramuscular, deixa de exercer qualquer efeito protetor.

Baseados nessas considerações, nos propusemos a quantificar a ação local de sete venenos botrópicos mais comuns e a verificar a quantidade do antiveneno específico necessário para impedir essa ação local, quando inoculado imediatamente e quando inoculado em tempos variados, após a aplicação do veneno necrosante.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Venenos utilizados

Utilizamos venenos das espécies *B. jararaca*, *B. alternatus*, *B. cotiara*, *B. newwiedi*, *B. pradoi*, *B. jararacussu* e *B. moojeni*, obtidos, processados e conservados de acordo com o descrito em trabalhos anteriores<sup>12, 13</sup>

### 2. Animais utilizados

Baseados nos resultados de testes preliminares realizados em camundongos, hamsters, cobaias e coelhos, padronizamos o emprego de cobaia branca (*Cavia porcellus*) de 300 a 350 g de peso, sem distinção de sexo,

por ter este animal apresentado maior sensibilidade local aos venenos em estudo.

### 3. *Determinação da Dose Mínima Necrosante (DMN) ou Unidade Necrosante (UN) de venenos botrópicos*

Convencionamos como DMN ou UN a menor quantidade de veneno botrópico, contido num volume de 0,1 ml, necessária para provocar uma área de necrose de 6 a 8 mm<sup>2</sup>, num período de observação de 72 horas, quando inoculada por via intradérmica no abdômen depilado de cobaias de 300 a 350 g de peso. Eram inoculadas doses correspondentes a 40, 80, 160 e 320 µg de cada um dos venenos, em quatro pontos equidistantes da região ventral depilada da cobaia, segundo um escantilhão previamente determinado. O veneno de *B. jararaca* foi considerado como padrão.

### 4. *Antiveneno botrópico empregado*

Utilizamos o antiveneno de *B. jararaca*, fornecido pelo Instituto Butantan e por nós titulado em camundongos (1 ml neutralizava 12 mg de veneno específico).

### 5. *Atividade neutralizante do antiveneno de B. jararaca para uma DMN do veneno específico*

Imediatamente após a inoculação de uma DMN do veneno de *B. jararaca*, eram administradas, por via intravenosa (veia digital de uma das patas), quantidades variáveis do antiveneno. A leitura, baseada no desenvolvimento de lesões na área inoculada, era realizada até 72 horas após. Complementando esta verificação, outras cobaias inoculadas com a mesma quantidade de veneno, receberam o antiveneno em tempos diferentes (15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas e 8 horas), a fim de se verificar até quanto tempo a inoculação do antiveneno específico poderia interferir na ação de uma DMN do veneno.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cobaia, demonstrando ser o animal mais sensível, prestou-se satisfatoriamente para a quantificação de atividade necrosante dos venenos botrópicos. Esta verificação vem de encontro às observações de Araújo e Belluomini<sup>2</sup> (1960/62). A quantificação em termos de Dose Mínima Necrosante (DMN) ou Unidade Necrosante (UN) por nós estabelecida, teve a finalidade de aferir a atividade local dos venenos botrópicos e de servir, também, de base para a aferição do título antinecrosante dos antivenenos específicos. Nossa conduta se baseou nas observações de Furlanetto<sup>5</sup> (1961) relativas aos venenos aranêicos do gênero *Loxosceles*. A tabela 1 apresenta os resultados dos testes para a determinação da Dose Mínima Necrosante (DMN) dos sete venenos ensaiados.

TABELA 1

Determinação da Dose Mínima Necrosante (DMN) de sete venenos botrópicos, inoculados intradermicamente em cobaias

Venenos em $\mu\text{g}$	OBSERVAÇÕES																			
	2 h				24 h					48 h					72 h					
	E	Eq	F	H	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N	
<i>Bothrops jararaca</i>	40	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	80	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,7x0,5
	160	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,9x0,7
	320	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	1,4x1,0
<i>Bothrops alternatus</i>	40	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	80	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	160	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,7x0,4
	320	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	1,0x0,8
<i>Bothrops cotiara</i>	40	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	80	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	160	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,7x0,4
	320	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	1,0x0,8
<i>Bothrops neuwiedi</i>	40	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
	80	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,5x0,4
	160	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,9x0,9
	320	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	1,3x1,0

TABELA 1 (Continuação)

Venenos em µg	OBSERVAÇÕES																			
	2 h				24 h					48 h					72 h					
	E	Eq	F	H	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N	
<i>Bothrops pradoi</i>	40	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
	160	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	0,9x0,9
	320	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	1,2x0,9
<i>Bothrops jararacussu</i>	40	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	160	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	0,8x0,6
	320	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	1,0x0,6
<i>Bothrops moojeni</i>	40	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	0,7x0,7
	160	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	1,1x0,9
	320	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	1,6x1,3

## Legenda:

E = edema	(+) presente; (-) ausente
Eq = equimose	(+) presente; (-) ausente
F = flictena	(+) presente; (-) ausente
H = hemorragia	(+) presente; (-) ausente
N = necrose	expressa em (+) positivo ou (-) negativo, nas primeiras 48 horas. Com 72 horas, expressa em cm.

Verificamos que a DMN dos venenos de *B. jararaca*, *B. cotiara*, *B. neuwiedi* e *B. pradoi*, está ao redor de 160  $\mu\text{g}$ ; para os venenos de *B. alternatus* e de *B. jararacussu* está na ordem de 320  $\mu\text{g}$  e, finalmente, para o veneno de *B. moojeni* está compreendida entre 80 e 160  $\mu\text{g}$ . Baseados nestes resultados e em nossas condições experimentais, ressaltamos que o veneno de *B. moojeni* induziu a uma ação necrótica mais intensa do que a apresentada pelos outros seis venenos. Por outro lado, os venenos de *B. alternatus* e de *B. jararacussu* mostraram-se menos ativos quanto a este aspecto. Assim, considerando-se cada um dos venenos isoladamente, o seu efeito local é proporcional à dose inoculada intradermicamente. De uma forma constante, até duas horas após a inoculação, os primeiros sinais caracterizaram-se pelo aparecimento de edema e de equimose; 24 horas após, seguiam-se flictena e hemorragia, principalmente nos animais que receberam 160 a 320  $\mu\text{g}$  do veneno e, para a maioria das peçonhas, a necrose tornou-se evidente a partir de 80  $\mu\text{g}$ . Em 48 horas já não eram constatados flictena e hemorragia; porém, o edema e a equimose persistiram, embora em fase de regressão. Obviamente, a necrose tornou-se mais evidente nos animais que receberam maiores doses de veneno, sendo melhor caracterizada na leitura de 72 horas.

A determinação da DMN dos venenos estudados, nos permitiu verificar a quantidade do antiveneno de *B. jararaca* capaz de impedir, completamente, a atividade necrosante do veneno específico. Inicialmente, inoculamos intradermicamente uma DMN (160  $\mu\text{g}$ ) do veneno de *B. jararaca* no abdômen depilado de cobaias. Imediatamente após, era inoculado, por via intravenosa, 1 ml de cada diluição do antiveneno específico (1/10, 1/20, 1/40, 1/80 e 1/160), cujo título antitóxico, por nós determinado, neutralizava 12 mg/ml. As leituras eram realizadas até um período máximo de 72 horas. A tabela 2 sumariza os resultados obtidos.

Os dados expostos na tabela 2 demonstraram que uma DMN do veneno de *B. jararaca*, em nossas condições experimentais, foi neutralizada, completamente, por 1 ml de antiveneno específico diluído a 1/10. Um mililitro da diluição a 1/20 reduziu consideravelmente a necrose provocada por uma DMN do veneno. Por outro lado, os animais controles, inoculados só com o veneno, apresentaram, em média, uma necrose de 6,3 mm<sup>2</sup>. Quando comparados com este valor, os resultados da proteção parcial de 1 ml do antiveneno diluído a 1/20, 1/40 e 1/80, apresentaram as seguintes áreas de necrose: 0,9, 3,0 e 4,8 mm<sup>2</sup>, respectivamente. No entanto, 1 ml do antiveneno diluído a 1/160, não revelou nenhuma ação protetora, pois a necrose era praticamente igual ao controle. Estas constatações nos possibilitaram estabelecer a unidade de medida antinecrosante. Assim, conceituamos Unidade Antinecrosante (UAN) como a menor quantidade de antiveneno que, imediatamente após a aplicação do veneno, é inoculada intravenosamente em cobaia de 300 a 350 g, é capaz de neutralizar integralmente o efeito local de uma DMN, administrada por via intradérmica. No caso presente, o título do antiveneno de *B. jararaca* corresponde a 10 UAN/ml, apresentando, por outro lado, um título antitóxico correspondente a 12 mg/ml.

Uma vez determinadas a DMN e a UAN, restaria saber até quanto tempo após a inoculação do veneno, o antiveneno teria capacidade de impedir ou diminuir a necrose. Partindo desta premissa, realizamos nossas

TABELA 2

Determinação do efeito neutralizante do antiveneno de *B. jararaca* (1 ml/12 mg) aplicado, intravenosamente, em cobaias anteriormente inoculadas com uma DMN (160 µg) do veneno específico, por via intradérmica.

Antiveneno diluído a	OBSERVAÇÃO																			
	2 h				24 h					48 h					72 h					
	E	Eq	F	H	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N	
1:10	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:20	+	+	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	0,3x0,3
1:40	+	+	—	—	—	+	—	—	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	0,6x0,5
1:80	+	+	—	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	0,8x0,6
1:160	+	+	—	—	—	+	+	—	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	1,0x0,7
Controle do veneno	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	—	0,9x0,7

Legenda:

- E = edema ..... (+) presente; (—) ausente  
 Eq = equimose ..... (+) presente; (—) ausente  
 F = flictena ..... (+) presente; (—) ausente  
 H = hemorragia ..... (+) presente; (—) ausente  
 N = necrose ..... expressa em (+) positivo ou (—) negativo, nas primeiras 48 horas. Com 72 horas, expressa em cm.

experiências, inoculando intradermicamente uma DMN (160 µg) do veneno de *B. jararaca* em cobaias; em seguida era inoculada, intravenosamente, uma UAN (1 ml da diluição a 1/10) do mesmo antiveneno específico, em vários intervalos de tempo (15 min., 30 min., 1h, 2h, 4h e 8h). Os resultados estão expostos na tabela 3.

Pelos resultados constantes na tabela 3, pode-se verificar que uma UAN do antiveneno de *B. jararaca*, aplicada a partir de 15 minutos após, não neutralizou completamente o efeito local de uma DMN do veneno específico. As áreas de necrose, observadas até 72 horas, aumentaram progressivamente, de acordo com o aumento do intervalo de tempo em que era administrado o antiveneno. O antiveneno, quando inoculado em intervalos de 15, 30 e 60 minutos, promoveu uma redução considerável das áreas de necrose, equivalentes a 0,6, 1,2 e 2,4 mm<sup>2</sup>, respectivamente. Em compensação, quando inoculado com intervalos de 2 a 4 horas, os resultados parecem pouco significativos, pois as respectivas áreas de necrose correspondem a 4,2 e 5,6 mm<sup>2</sup>. Finalmente, o antiveneno, quando injetado após 8 horas, não protegeu absolutamente contra a ação de uma DMN, tendo a área de necrose a mesma magnitude que a apresentada pelo controle. Estes nossos resultados não concordam plenamente com os apresentados por Eichbaum<sup>4</sup> (1947), possivelmente por ter o autor observado os animais somente nas primeiras 24 horas o que, segundo nossas observações, é tempo insuficiente para uma caracterização satisfatória da área de necrose.

Aliás, Rosenfeld e De Langlada<sup>9</sup> (1964) já haviam verificado, em camundongos, que a inoculação do antiveneno por via subcutânea, 15 minutos após a aplicação do veneno específico, não diminui, praticamente, a atividade necrosante.

Por outro lado, quando os nossos atuais resultados são confrontados com os de Homma e Tu<sup>6</sup> (1970), verificamos serem concordantes, embora os autores tivessem trabalhado com venenos de serpentes da Ásia.

Devido à inexistência, na literatura, de outros trabalhos relacionados à atividade necrosante experimental dos venenos botrópicos, esperamos que estas nossas verificações possam colaborar para um melhor conhecimento e entendimento da atividade desses venenos, trazendo subsídios à terapêutica do ofidismo, bem como colaborar para que, num futuro próximo, seja introduzida, na avaliação da potência neutralizante dos antivenenos botrópicos, uma metodologia que permita quantificar a neutralização da atividade necrosante desses venenos.

## CONCLUSÕES

1. O emprego de cobaias inoculadas intradermicamente com os venenos botrópicos, possibilitou-nos determinar e definir "Dose Mínima Necrosante" (DMN) ou "Unidade Necrosante" (UN) desses venenos;
2. a ação local devida à inoculação intradérmica de uma Dose Mínima Necrosante (DMN) do veneno de *B. jararaca* é neutralizada, integralmente, por uma "Unidade Antinecrosante"

TABELA 3

Determinação do efeito neutralizante de uma Unidade Antinecrosante do antiveneno de *B. jararaca* aplicada, em tempos diferentes, por via intravenosa em cobaias anteriormente inoculadas com uma DMN do veneno específico, por via intradérmica

Intervalo de tempo entre a inoculação do veneno e a do antiveneno	Observação em horas após a aplicação do antiveneno														
	24 h					48 h					72 h				
	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N	E	Eq	F	H	N
1 minuto	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15 minutos	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	0,3x0,2
30 minutos	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,4x0,3
1 hora	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,6x0,4
2 horas	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,7x0,6
4 horas	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,8x0,7
8 horas	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,9x0,7
Controle do veneno	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0,8x0,8

Legenda:

- E = edema ..... (+) positivo; (-) negativo  
 Eq = equimose ..... (+) positivo; (-) negativo  
 F = flictena ..... (+) positivo; (-) negativo  
 H = hemorragia ..... (+) positivo; (-) negativo  
 N = necrose ..... expressa em (+) positivo ou (-) negativo, nas primeiras 48 horas.  
 Com 72 horas, expressa em cm.

(UAN) do antiveneno específico quando administrada por via intravenosa, imediatamente após o veneno;

3. a administração de uma UAN em tempos posteriores, tende a diminuir a sua capacidade neutralizante, de sorte que, quando aplicada após 8 horas da inoculação do veneno, não se verifica qualquer atividade protetora.

ABSTRACT: After the confirmation that the guinea-pig (*Cavia porcellus*) presents the highest local sensibility to the bothropic venoms under study, the authors measured the local activity of the venoms from *B. jararaca*, *B. alternatus*, *B. cotiara*, *B. neuwiedi*, *B. pradoi*, *B. jararacussu* and *B. moojeni*, standardizing it in terms of minimum necrotising dosis (MND) or Necrotizing Unit (NU). They verified that venoms from the species *B. moojeni* presents the highest local activity, where as the venoms from *B. alternatus* and *B. jararacussu* proved less active. It was possible to establish the concept of an antinecrotizing unit (ANU) of the *B. jararaca* antivenom in relation to the specific venom. They confirmed also that the neutralizing effect of one ANU from the *B. jararaca* antivenin exerts only full activity when applied by intravenous route immediately after the inoculation of a MND of the specific venom.

KEYWORDS: Local action of bothropic venoms; quantification of the necrotizing activity of bothropic venoms; quantification of the antinecrotizing activity of *B. jararaca* antivenin.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMORIM, M.F.; MELLO, R.F. & SALIBA, F. Envenenamento botrópico e crotálico. Contribuição para o estudo experimental comparado das lesões. *Mem. Inst. Butantan*, 23:63-108, 1950/51.
2. ARAUJO, P. & BELLUOMINI, H.E. Toxicidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório. *Mem. Inst. Butantan*, 30:143-56, 1960/C2.
3. BRAZIL, V. & RANGEL PESTANA, B. Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico. *Rev. méd. São Paulo*, 12:415-25, 1909.
4. EICHBAUM, F.W. Ação dermatotóxica de venenos ofídicos e sua neutralização pelos antivenenos. *Mem. Inst. Butantan*, 20:79-93, 1947.
5. FURLANETTO, R.S. Estudos sobre a preparação do soro antiloxoscélico. São Paulo, 1961. /Tese — Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo/.
6. HOMMA, M. & TU, A.T. Antivenin for the treatment of local tissue damage due to envenomation by southeast Asian snakes. Ineffectiveness in the prevention of local tissue damage in mice after envenomation. *Amer. J. trop. Med.*, 19:880-4, 1970.
7. HOUSSAY, B.A. Acción local de los venenos de serpientes. *Rev. Asoc. méd. argent.*, 36:29-32, 1923.
8. ROSENFELD, G. Acidentes por animais peçonhentos. In: VERONESI, R., ed. *Doenças infecciosas e parasitárias*. 5.<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1972. p. 973-88.
9. ROSENFELD, G. & DE LANGLADA, F.C. Ação de Isoxsuprina (Duvalilan) sobre a necrose e a sobrevida de camundongos inoculados com veneno de *Bothrops jararaca*. *Ciênc. Cult.*, (São Paulo), 16:217, 1964.
10. SCHÖTTLER, W.H.A. Observações miscelâneas sobre peçonhas ofídicas e antivenenos. *Mem. Inst. Butantan*, 27:73-105, 1955/56.

SILES VILLARROEL, M.; ZELANTE, F.; ROLIM ROSA, R. & FURLANETTO, R.S. — Padronização da avaliação da atividade necrosante de venenos botrópicos e da potência antinecrosante do anti-veneno de *B. Jararaca*, *Mem. Inst. Butantan*, 42/43:345-355, 1978/79.

11. SALIBA, F. Estudo anatomopatológico da evolução da necrose produzida experimentalmente por veneno de *Bothrops jararaca*. Influência de substância órgão-heparinóide. *Mem. Inst. Butantan*, 31:191-200, 1964.  
botrópicos, em camundongos. *Mem. Inst. Butantan*, 42/43:311-23, 1978/1979.
12. SILES VILLARROEL, M.; ZELANTE, F.; ROLIM ROSA, R. & FURLANETTO, R.S. Padronização da titulação da atividade tóxica de venenos
13. SILES VILLARROEL, M.; ROLIM ROSA, R.; ZELANTE, F. & FURLANETTO, R.S. Padronização da avaliação da potência de antivenenos botrópicos, em camundongos. *Mem Inst. Butantan*, 42/43:325-36, 1978/1979.

## CHEMISTRY OF THE BRAZILIAN LABIATAE. THE OCCURRENCE OF URSOLIC ACID IN PELTODON RADICANS POHL

Report of TELNIK\*\*  
Assisted by MATYDA\*\*  
Elysa PANICIA\*\*\*

**ABSTRACT:** The acetone extract of the leaves of the Brazilian medicinal plant *Peltodon radicans* Pohl (Labiatae) contains santonin and ursolic acid. The distribution of ursolic acid and related triterpenes in members of the Labiatae family and their therapeutic effects are discussed.

**KEY WORD INDEX:** Labiatae; *Peltodon radicans* Pohl; santonin; ursolic acid.

### INTRODUCTION

The genus *Peltodon* is represented by four species which are distributed in Southern Brazil and Paraguay<sup>1</sup>. In the course of a phytochemical survey of Brazilian Labiatae we have examined a sample of *Peltodon radicans* Pohl, a herbaceous plant with slightly aromatic leaves and axillary violet flowers, from the São Paulo region. A decoction of the leaves is used for various folk medicinal treatments such as dermatitis and hooping-cough<sup>2</sup>. The first compound to be eluted from the chromatographic column of the acetone extract of the leaves was santonin identified by comparing its spectral properties with those of an authentic sample. Further elutions gave a white-greenish crystalline compound 1, mp 250-260°, which showed in the IR spectrum absorption bands at 3400 (OH), 1830 (C=O) and 1650 cm<sup>-1</sup> (C=C). Despite many initiatives it could not be adequately purified and its identity with ursolic acid was later established on spectroscopic evidence of its derivatives as reported in the sequel.

\* Part IV. For part III, see ref. 3.

\*\* Serviço de Química Orgânica do Instituto Butantan.

\*\*\* Departamento de Botânica do Universidade de São Paulo.

Endereço para correspondência: C. Postal 24 - 05000 - São Paulo, S.P. — Brasil.

