

Identificação de esteroides no veneno do sapo *Rhaebo guttatus* por RMN e CG-EM

Bryan W. Debiasi¹ (IC)*, Janaína C. Noronha¹ (PG), Domingos J. Rodrigues¹ (PQ), Gerardo M. Vieira Júnior¹ (PQ)

¹Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato grosso, 78557-267 Sinop, MT, *bryan.wender@hotmail.com

Palavras Chave: *Bufo* spp., *Rhaebo guttatus*, esteroides, RMN, CG-EM

Introdução

A família Bufonidae é uma família de sapos constituída por aproximadamente 33 gêneros e 471 espécies, sendo conhecida vulgarmente como a família dos sapos verdadeiros¹. Possui uma distribuição quase cosmopolita, ocorrendo em quase todas as áreas, exceto em Madagascar e Antártica². Do ponto de vista químico a literatura relata a presença de esteroides, alcaloides, ácidos graxos, peptídeos e proteínas no veneno e pele destes anfíbios e também relata como principal ação biológica destes venenos a atividade citotóxica³.

A espécie *R. guttatus* (sinônimas: *Bufo guttatus*, *Bufo crucifer*, *Bufo melini*, *Rhaebo anderssoni*) é encontrada na região amazônica da Bolívia, Brasil, Colômbia e Equador até a Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname e Venezuela⁴. O trabalho tem como objetivo investigar a constituição química do veneno da espécie *Rhaebo guttatus*.

Resultados e Discussão

O extrato metanólico do veneno de *R. guttatus* foi submetido a fracionamento por cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 e gel de sílica, resultando no isolamento de **1** (Figura 2), identificado por massas, RMN ¹H e ¹³C, em comparação com dados da literatura⁵. A análise em CG-EM (Figura 1) feita na mesma fração possibilitou identificar além de **1** mais dois esteroides: o campesterol (**2**) e o sitosterol (**3**) (Figura 2), através de seus espectros de massas e por comparação com dados descritos na literatura⁵. Os espectros de massas apresentaram os picos dos íons moleculares para **1**, **2** e **3**: m/z 386 [M⁺], 400 [M⁺] e 414 [M⁺], respectivamente.

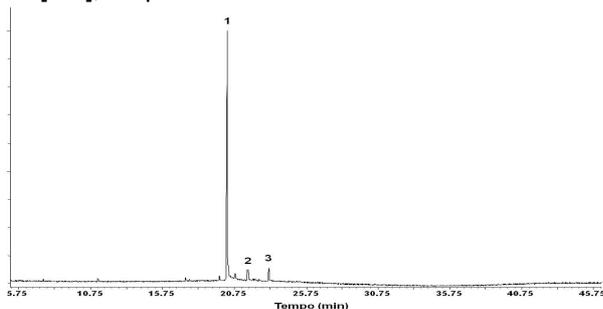


Figura 1. Cromatograma de íons totais (CG-EM) do extrato do veneno de *R. guttatus*.

O espectro de RMN ¹H de **1** mostrou um padrão característico de esteroides Δ^5 evidenciado pelos sinais entre δ 0,60 e 0,93, correspondentes a grupos metílicos, o simpleto largo em δ 3,45, atribuível ao hidrogênio carbinólico H-3 e outro simpleto largo em δ 5,28 referente ao hidrogênio olefínico H-6. O espectro de RMN ¹³C apresentou 25 sinais, sendo que os sinais em δ 42,3 e 31,9 atribuídos a dois carbonos cada. Observou-se ainda os sinais em δ 71,8 do carbono carbinólico C-3, δ 140,7 e 121,7 referentes aos carbonos olefínicos C-5 e C-6, respectivamente. A comparação destes dados com os disponíveis na literatura⁵ permitiu identificar a substância **1** como sendo o esteroide colesterol (Figura 2).

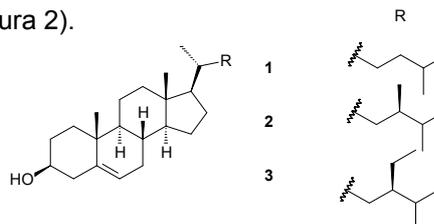


Figura 2. Estruturas dos esteroides identificados no veneno de *R. guttatus*.

Conclusões

O estudo químico do veneno de *R. guttatus* resultou no isolamento e/ou identificação de três esteroides: um de origem endógena, o colesterol (**1**), e dois, campesterol (**2**) e sitosterol (**3**), ambos provavelmente oriundos da dieta do animal.

Agradecimentos

À FAPEMAT e CNPq pelo apoio financeiro. À UNESP e UFPI pelos experimentos de RMN e CG-EM, respectivamente.

¹Pramuk, J. B. *Zoo. J. Lin. Soc.* **2006**, *146*, 407-452.

²Duellman, W. E.; Sweet, S. **1999**. Distribution patterns of amphibians in the Nearctic region of North America. 31-110.

³Ferreira, P.M.P., Barbosa Lima, D.J., Debiasi, B.W., Soares, B.M., Machado, K. C., Noronha, J. C., Rodrigues de J.D., Sinhonor, A.P., Pessoa, C., Vieira Júnior, G.M. *Toxicon*. **2013**, *72*: 43-51.

⁴Frost, D. R.; Grant, T.; Faivovich, J.; Bain, R. H.; Haas, A.; Haddad, C. F. B.; de Sá, R. O.; Channing, A.; Wilkinson, M.; Donnellan, S. C.; Raxworthy, C. J.; Campbell, J. A.; Blotto, B. L.; Moler, P.; Drewes, R. C.; Nussbaum, R. A.; Lynch, J. D.; Green, D. M.; Wheeler, W. C.. *Bull. Am. Mus. Nat. His.* **2006**, *297*, 365.

⁵Kasal, A.; Budesinsky, M.; Griffiths, W.J. *Spectroscopic Methods of Steroid Analysis*, **2010**. c.2.