



## **Fracionamento e purificação de toxinas antimicrobianas e neurotóxicas da peçonha de escorpiões amazônicos da família Buthidae**

Claudiran De Oliveira Braz, Deyanira Fuentes-Silva e Joacir Stolarz-Oliveira

A peçonha de escorpiões é uma rica fonte de compostos com potencial uso terapêutico, inclusive os peptídeos antimicrobianos (PAMs), moléculas de cadeia curta contendo entre 23 e 76 resíduos de aminoácidos, com massa molecular relativamente baixa e que agem destruindo a estrutura da membrana celular de micro-organismos patogênicos. Os PAMs têm sido isolados da peçonha de vários animais como aranhas, abelhas, serpentes e também de escorpiões do gênero *Tityus* (Scorpiones, Buthidae). Este trabalho teve como objetivo realizar a purificação de peptídeos com atividade antimicrobiana a partir da peçonha de escorpiões da família Buthidae, especificamente do escorpião amazônico *T. obscurus* Gervais, 1843, considerado o mais perigoso da região. Amostras da peçonha de *T. obscurus*, previamente fracionada em uma coluna de exclusão molecular Sephadex G-75, foram fornecidas para a realização da purificação dos PAMs. A purificação destes foi realizada pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em fase reversa (CLAE-FR) utilizando uma coluna analítica C18 (4,6 x 250 mm) previamente equilibrada com tampão A ( $H_2O$  + 0,12% de ácido trifluoroacético – TFA). Para a eluição dos peptídeos da coluna foi utilizado um gradiente linear do tampão B (Acetonitrila + 0,1% de TFA) com monitoramento da absorbância nos comprimentos de onda de 215 e 280 nm. Tanto as subfrações geradas quanto os componentes purificados foram testados para avaliar suas atividades antibacterianas e antifúngicas utilizando o método de sensibilidade por disco difusão, normas M2-A9 para bactéria e M44-A2 para fungo, do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Dentre as subfrações testadas, a subfração denominada FIV.2 demonstrou ter maior atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento da bactéria Gram-negativa *Serratia marcescens* e do fungo *Candida albicans* na quantidade de 16,5 e 177,0  $\mu g$ , respectivamente. Os picos principais de FIV.2, denominados COB 21, COB 22 e COB 23, foram purificados e todos eles inibiram o crescimento das bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *S. marcescens* na quantidade de 7, 15 e 15  $\mu g$ , respectivamente. Devido às poucas quantidades de amostras obtidas, apenas COB 23 foi utilizado em testes de atividade antifúngica, porém, sem resultado positivo na quantidade de até 10  $\mu g$ . O isolamento destes três componentes, de uma das frações geradas da peçonha de *T. obscurus*, demonstra que ela contém uma ampla diversidade de peptídeos com potencial antimicrobiano, os quais podem ser utilizados para fins terapêuticos.