

AÇÃO PREVENTIVA DA ACETAMIDA SOBRE A INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM BOVINOS POR “ERVA-DO-RATO” (*PALICOUREA MARCGRAVII*)

MACHADO, Tairiny Pacheco¹; SANTOS, Fabrício Carrião dos²; CUNHA, Paulo Henrique Jorge da³

¹ Estudante de Iniciação Científica - Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutaí - GO. tairinypmachado@gmail.com;

² Orientador - Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutaí - GO. fabricao.carriao@ifgoiano.edu.br;

³ Colaborador - Escola de Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal de Goiás - GO.

RESUMO: Objetivou-se avaliar o efeito protetor da acetamida sobre a intoxicação experimental em bovinos por “erva-do-rato” (*Palicourea marcgravi*). Para tanto, realizou-se a colheita de amostras, o preparo, a exsiccata e a quantificação do ácido monofluoroacetato de sódio (MF) na planta (0,06%). Paralelamente, realizou-se testes para a determinação da acetamida no plasma bovino, uma vez que conhecimento da farmacocinética da acetamida, a confirmação da *P. marcgravi* pela exsiccata e a determinação da concentração do MF são aspectos que caracterizam o mérito científico do projeto. Entretanto, não foi possível a validação de metodologia capaz de quantificar a acetamida no plasma bovino, possivelmente pela grande quantidade de interferentes percebíveis no comprimento de onda utilizado. Assim, anteriormente a intoxicação com os animais, novos estudos devem ser conduzidos para determinar a concentração do analito e contribuir no entendimento da ação protetora nas intoxicações pela *P. marcgravi*.

Palavras-chave: HPLC-PDA, Morte súbita, Monofluoroacetato de sódio

INTRODUÇÃO

No Brasil há algumas plantas tóxicas que causam morte súbita em bovinos e responsável por grandes perdas econômicas. Entre elas, a *Palicourea marcgravi* ou erva-do-rato destaca-se pela boa palatabilidade, ampla distribuição geográfica e pelos seus efeitos cumulativos (Tokarnia et al., 2012).

O princípio tóxico da *P. marcgravi* é o ácido monofluoroacetato de sódio (MF). O potencial tóxico do MF está relacionado com a capacidade de promover a interrupção do ciclo do ácido cítrico e resulta na diminuição da produção de ATP, acúmulo de glicose, citrato e lactato nos tecidos, promovendo os principais sinais clínicos como incoordenação, hiperexcitabilidade, taquicardia e morte súbita (Tokarnia et al., 2012).

A acetamida é um composto doador de acetato e tem sido testado como antídoto nos casos de intoxicação por MF em diversas espécies. No intuito de aprimorar os conhecimentos sobre a farmacocinética e a eficácia da substância são necessários mais estudos.

O presente estudo visa avaliar capacidade protetora da acetamida, sobre a intoxicação experimental em bovinos por erva-do-rato (*Palicourea marcgravi*).

MATERIAL E MÉTODOS

Anteriormente a intoxicação experimental, realizou-se da colheita e do preparo da planta para o

fornecimento aos animais. Para tanto, foram colhidas amostras das folhas da planta no campo, secas em temperatura ambiente, moídas e armazenadas à temperatura de 22°C. Uma alíquota da amostra foi encaminhada ao Poisonous Plant Research Laboratory - Logan, Utah, EUA (PPRL-EUA) para determinação da concentração de MF na planta. Durante a colheita das folhas, realizou-se a retirada de alguns galhos da espécie. O material foi enviado ao Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFG (DM/ICB/UFG) para a obtenção da exsiccata.

Paralelamente ao período de confirmação da espécie da planta e a dosagem do MF, realizou-se um estudo para o conhecimento da farmacocinética da acetamida. O intuito foi determinar com precisão o momento ideal para a intoxicação experimental, por meio da concentração sérica do analito no momento do fornecimento oral da *P. marcgravi* aos animais. Em parceria com o Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas da Escola de Farmácia da UFG (NEPET-UFG) foram realizadas tentativas de quantificação da acetamida em diferentes condições cromatográficas e métodos de extração, primeiro em solução de água ultrapura e posteriormente em plasma bovino por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-PDA).

Para a determinação da acetamida utilizou-se o sistema HPLC Shimadzu® LC - 20AT equipado com detector UV-PDA SPD M20, operando a

200nm, coluna Shimadzu® C18 ODS-VP 250 x 4,6 mm, 5 µm e o volume de injeção de 20 µL. As tentativas de quantificação da acetamida foram realizadas com diferentes substâncias constituintes da fase móvel, e conseqüentemente alterações do pH e da velocidade de fluxo da fase móvel. Nas avaliações em plasma, as variações também ocorreram em relação aos métodos de extração com o uso de diferentes metodologias e combinações com cartuchos de fase sólida. A acetamida foi identificada pela comparação com o padrão preparado em água ultrapura, e os parâmetros analisados foram o tempo de retenção e o espectro ultravioleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de *P. marcgravii* analisadas no PPRL-EUA apresentaram concentração média de 0,06% de MF na planta. Os resultados são inferiores aos encontrados por Lee et al. (2012), porém estudos apontam para grandes variações da concentração do MF em relação as características do solo e maturação da planta (Lee et al., 2012; Tokarnia et al., 2012). As amostras enviadas ao DM/ICB/UFG foram confirmadas como *P. marcgravii* por meio da exsicata n°. 49.138, uma vez que a exsicata garante a confirmação da espécie.

A acetamida foi determinada com sucesso por HPLC-PDA em água ultrapura (Machado et al., 2015). A condição cromatográfica, semelhante a utilizada por Elias et al. (2012), a fase móvel foi composta pela mistura de tampão fosfato de potássio 30mM, pH 2,6 e metanol (98:2, v/v), fluxo de 0,35 mL/min. O método se mostrou linear e preciso ($p < 0,01$) na faixa de 0,5 a 100 µg.mL⁻¹. Os resultados foram semelhantes aos verificados em mananciais de água contaminadas com os herbicidas (Elias et al., 2012).

Em plasma bovino, duas condições cromatográficas e dois métodos de extração apresentaram-se capazes de determinar a acetamida (Santos et al., 2015). A condição cromatográfica A teve como fase móvel o ácido heptanossulfônico (HSA) 0,05 mM pH 7,4 e metanol (99:1 v/v) e fluxo 0,5 mL/min. Já a fase móvel B, foi utilizado ácido sulfúrico 0,01 M com HSA 0,05 mM, pH 2,0 e metanol (97,5:2,5 v/v) e fluxo 0,7 mL/min. Na condição 1 de extração, foram adicionados 500 µL de acetonitrila a 500 µL de plasma, agitado em vórtex por 30 s e centrifugado a 10000 rpm. A condição 2 é uma continuação da condição 1, onde o sobrenadante coletado foi eluído em um cartucho de fase sólida (OASIS HLB SPE, 1 mL). A condição cromatográfica B se sobressaiu tanto na extração 1 quanto na 2, pois apresentou melhor recuperação do analito e melhor resolução em relação aos interferentes. Apesar dos resultados, as combinações

entre as condições cromatográficas e os métodos de extração não permitiram a validação da metodologia. Acredita-se que determinação da acetamida em plasma bovino foi dificultada pela presença de compostos biológicos capazes de interferir no pico cromatográfico do analito. Além disso, esses interferentes são mais facilmente detectados à um menor comprimento de onda, como o utilizado para a detecção da acetamida.

CONCLUSÃO

Até o momento, os testes desenvolvidos para quantificar a acetamida no plasma bovino não apresentaram resultados satisfatórios. O conhecimento da farmacocinética da acetamida sanguínea, a confirmação da *P. marcgravii* pela exsicata e a determinação da concentração do MF são aspectos que caracterizam o mérito científico do projeto. Assim anteriormente a intoxicação com os animais, novos estudos devem ser realizados para determinar a concentração no momento da intoxicação e contribuir no entendimento da ação protetora nas intoxicações pela *P. marcgravii*.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ELIAS, G.; MATTSON, E. D.; LITTLE, J. E. A HPLC method for the quantification of butyramide and acetamide at ppb levels in hydrogeothermal waters. **Analytical Methods**, v. 4, p. 530-533, 2012.
- LEE, S. T.; COOK D.; RIET-CORREA, F.; PFISTER, J. A.; ANDERSON, W.R.; LIMA, F. G.; GARDNER, D. R. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. **Toxicon**, v. 60, p. 791-796, 2012.
- MACHADO, T. P.; SANTOS, F. C.; OLIVEIRA NETO, J. R.; CUNHA, L. C.; CUNHA, P. H. J. Determinação da acetamida em solução de água ultrapura por HPLC-PDA. In: **Ciclo de Debates e Palestras em Química**, 3., 2015, Urutaí. Anais... Urutaí: Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutaí, 2015.
- SANTOS, F. C.; OLIVEIRA NETO, J. R.; CUNHA, P. H. J.; CUNHA, L. C. Determinação da acetamida em solução de água ultrapura por HPLC-PDA. In: **Congresso Brasileiro de Buiatria**, 11., 2015, São Paulo. Biológico. São Paulo: Instituto Biológico, 2015. v. 77, Suplemento 2, p.94.
- TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F.; BARBOSA, J. D.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. **Plantas tóxicas do Brasil, para animais de produção**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2º edição. 566 p., 2012.