

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS  
CAMPUS IV- CHAPADINHA-MA  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**RAISSA DA COSTA SOUSA**

**PROSPECÇÃO DE LECTINAS DE LEGUMINOSAS DO BAIXO PARNAÍBA**

Chapadinha - MA  
2017

**RAISSA DA COSTA SOUSA**

**PROSPECÇÃO DE LECTINAS DE LEGUMINOSAS DO BAIXO PARNAÍBA**

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do grau de Bacharel/Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Claudener Souza Teixeira

Chapadinha - MA  
2017

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Sousa, Raissa da Costa.  
Prospecção de lectinas de leguminosas do Baixo Parnaíba  
/ Raissa da Costa Sousa. - 2017.  
40 p.

Orientador(a): Claudener Souza Teixeira.  
Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas,  
Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2017.

1. Atividade lectínica. 2. Baixo Parnaíba Maranhense.  
3. Caracterização de proteínas. 4. Potencial lectínico.  
I. Teixeira, Claudener Souza. II. Título.

À minha querida mãe, Eraneide Vieira da Costa, e as minhas irmãs,  
Rayane da Costa Sousa e Karla Thayse da Costa Sousa.  
Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por fazer deste breve instante que é a vida algo precioso. Por ser tudo!

A intercessão de minha Mãe Santíssima Virgem Maria.

A minha família, vocês são o significado do amor para mim.

Ao meu orientador e amigo, professor Dr. Claudener Souza Teixeira, pela confiança, cuidado, paciência e solicitude. Sobretudo pela amizade e por sempre olhar com esperança e bondade para mim. Tenho orgulho em ter caminhado por seus passos.

Aos colegas de laboratório por toda ajuda nos trabalhos e amizade, Nathália Matos e Rafael Carvalho.

Ao meu pai Luis Rogério Almeida Sousa e padrasto Edson Moreira Nascimento, ao querido cunhado José Luiz pela paciência todas as vezes que precisei de sua ajuda.

As biolindas: Jéssica Garreto, Vanderline Santos, Ivanilda Pereira, Flávia Zizeth, Núbia Costa, Nathália Alves, Norma Ferreira, Elinalva Moraes e Joysymara Pontes pelo carinho e amor, vocês foram um abrigo no meio de uma tempestade.

Aos amigos Hyanna Monteles e Álef Matheus Galvão, pela contribuição para esse trabalho.

Aos amigos, Layse Carollyne, Joseane Rodrigues, Christian Pinto, Danylo Portela, Raíza Mourão, Marcos Diego e Taienny Gomes pela amizade e por eu estar presente em suas orações.

Ao Laboratório de Produtos de Origem Animal (LAPOA) e à Professora Michelle Maia Parente.

Ao Prof. Dr. Wellington Ferreira do Nascimento e Karla Lílian Rodrigues Batista.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho e para minha formação humana e acadêmica.

Muito obrigada!

***“Aquele que tem caridade no coração tem  
sempre qualquer coisa para dar.”***

*Santo Agostinho*

## RESUMO

Lectinas são proteínas de origem não imune, que possuem no mínimo um sítio não catalítico capaz de ligar-se a carboidratos de forma reversível. Atualmente, vários trabalhos têm sido descritos sobre o potencial lectínico de espécies de leguminosas e os estudos aumentam à medida que novas lectinas são descobertas, caracterizadas e purificadas. Com base nestas informações, o presente estudo visa a prospecção e caracterização de lectinas de leguminosas do Baixo Parnaíba Maranhense. Diferentes espécies de leguminosas da região foram coletadas e utilizadas para testes de atividade hemaglutinante com eritrócitos de coelho e humano (sistema ABO). Foram obtidos extratos das amostras coletadas através da preparação de farinha, utilizando para a extração de proteína os tampões Tris-HCl 0,1 M pH 7,6, Glicina 0,1 M pH 2,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0, todos contendo NaCl 0,15 M. Os eritrócitos de coelho e humano foram lavados com NaCl 0,15 M e a papa de hemácias preparada a 3% foi utilizada para detecção da atividade hemaglutinante, posteriormente os eritrócitos também foram tratados com enzima tripsina e papaína. Para algumas espécies foi determinada a especificidade a carboidratos e o título da atividade hemaglutinante. Das 17 espécies coletadas e testadas 11 apresentaram aglutinação para determinados tipos de eritrócitos, enquanto 6 não apresentaram resultados satisfatórios para a atividade hemaglutinante. As espécies que aglutinaram com maior variedade de eritrócitos foram *Vatairea macrocarpa* Benth e *Dolichos lablab* Linn. As espécies *Bauhinia pulchella* e *Dimorphandra gardneriana*, apresentaram resultados da atividade hemaglutinante inibida pelos açúcares galactose,  $\alpha$ -Lactose e  $\beta$ -Lactose. A caracterização dessas novas lectinas de leguminosas da região do baixo Parnaíba Maranhense promove a descoberta de novas lectinas com potenciais biotecnológicos e conseqüentemente o uso dessas proteínas bioativas como ferramentas moleculares.

Palavras-chave: Atividade lectínica. Potencial lectínico. Caracterização de proteínas. Baixo Parnaíba Maranhense.

## ABSTRACT

Lectins are proteins of non-immune origin, which have at least one non-catalytic site capable of reversibly binding to carbohydrates. Currently several papers have now been described on the lectin potential of legume species and studies increase as new lectins are discovered, characterized and purified. Based on this information, the presented study aims at prospecting and characterization of legume lectins from Baixo Parnaíba Maranhense. Different legume species of the region were collected and used for hemagglutinating activity tests with rabbit and human erythrocytes (ABO system). Extracts of the collected samples were obtained through the preparation of flour, using for the extraction of protein 0.1 M Tris-HCl pH 7.6, 0.1 M Glycine pH 2.6 and 0.1 M Glycine pH 9.0, all related 0.15 M NaCl. Rabbit and human erythrocytes were washed with NaCl 0.15 M and erythrocyte paste prepared at 3% was used for the detection of haemagglutinating activity, later erythrocytes were also treated with trypsin and papain enzymes. For some species a carbohydrate specificity and the little of hemagglutinating activity were determined. Of the 17 species collected and tested 11 presented agglutination for certain types of erythrocytes, while 6 did not present satisfactory results for hemagglutinating activity. The species that agglutinated with a greater variety of erythrocytes were *Vatairea macrocarpa* Benth and *Dolichos lablab* Linn. The species *Bauhinia pulchella* Benth and *Dimorphandra gardneriana* Tuslane, presented results of the hemagglutinating activity inhibited by sugars galactose,  $\alpha$ -Lactose and  $\beta$ -Lactose. The characterization of these new leguminous lectins from the lower region of Parnaíba Maranhense promotes the discovery of new lectins with biotechnological potential and consequently the use of these bioactive proteins as molecular tools.

Key words: Lectin activity. Lectinic potential. Characterization of proteins. Baixo Parnaíba Maranhense.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> Demonstração em tubos de ensaio de atividade lectínica.....	22
<b>Figura 2-</b> Foto da espécie <i>Macroptilium lathyroides</i> .....	23
<b>Figura 3-</b> Foto da espécie <i>Senna obtusifolia</i> .....	23
<b>Figura 4-</b> Foto da espécie <i>Dolichos Lablab</i> .....	24
<b>Figura 5-</b> Foto da espécie <i>Mimosa pudica</i> .....	25
<b>Figura 6-</b> Foto da espécie <i>Bauhinia pulchella</i> .....	25
<b>Figura 7-</b> Foto da espécie <i>Caesalpinia sp.</i> .....	26
<b>Figura 8-</b> Foto da espécie <i>Stryphnodendron adstringens</i> .....	27
<b>Figura 9-</b> Foto da espécie <i>Parkia biglobosa</i> .....	28
<b>Figura 10-</b> Foto da espécie <i>Dimorphandra gardneriana</i> .....	28
<b>Figura 11-</b> Foto da espécie <i>Ormosia arbórea</i> .....	29
<b>Figura 12-</b> Foto da espécie <i>Vatairea macrocarpa</i> .....	30

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Espécies utilizadas nos testes, eritrócitos com os quais apresentaram atividade hemaglutinante, tampão de extração em que proteína apresentou atividade hemaglutinante e tempo que a atividade hemaglutinante foi observada após o teste..... 31

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> - Gráfico de eficiência tamponar .....	33
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AH</b>	Atividade Hemaglutinante
<b>Con A</b>	Concanavalina A
<b>Con Br</b>	Lectina de <i>Canavalia brasiliensis</i>
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>HCl</b>	Ácido Clorídrico
<b>M</b>	Concentração Molar (Mol.L <sup>-1</sup> )
<b>m/v</b>	Relação massa/volume
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>RPM</b>	Rotação por minuto
<b>Tris</b>	Tris-hidroximetil-aminometano
<b>U.H.mL<sup>-1</sup></b>	Unidade Hemaglutinante por Mililitro
<b>VMR</b>	Lectina de <i>Vatairea macrocarpa</i>
<b>µL</b>	Micro litro

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 OBJETIVOS GERAIS .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....</b>	<b>18</b>
<b>4. METODOLOGIA .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Coleta e identificação botânica das espécies .....</b>	<b>19</b>
<b>4.2. Preparação da farinha .....</b>	<b>19</b>
<b>4.3. Extração de proteínas .....</b>	<b>19</b>
<b>4.4. Tratamento de eritrócitos .....</b>	<b>19</b>
<b>4.5. Screen da atividade hemaglutinante .....</b>	<b>20</b>
<b>4.6. Determinação da atividade hemaglutinante .....</b>	<b>20</b>
<b>4.7. Inibição da atividade hemaglutinante .....</b>	<b>21</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>5.1. Estudo da atividade hemaglutinante .....</b>	<b>22</b>
<b>5.2. Título da atividade hemaglutinante .....</b>	<b>31</b>
<b>5.3. Inibição da atividade hemaglutinante .....</b>	<b>32</b>
<b>5.4. Eficiência tamponar .....</b>	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Lectinas são proteínas de origem não imune, que apresentam no mínimo um domínio não catalítico capaz de reconhecer e se ligar reversivelmente a carboidratos específicos. Com características biológicas distintas, as lectinas podem ser identificadas por meio de sua capacidade de aglutinação de células (PEUMANS & VAN DAMME, 1995). Amplamente distribuídas na natureza, são encontradas em plantas, animais vertebrados, invertebrados e microrganismos (LIS & SHARON, 1986).

Quanto aos aspectos estruturais, Peumans & Van Damme (1995) classificaram as lectinas em quatro grupos principais: as Merolectinas, proteínas simples que possuem apenas um domínio de ligação a carboidrato e apresentam caráter monovalente, por isso são incapazes de precipitar glicoconjugados. Uma típica merolectina é a heveína, purificada a partir do látex da espécie *Hevea brasiliensis* (VAN PARIJS *et al.*, 1991); Hololectinas, compostas de dois ou mais domínios de ligação a carboidratos estruturalmente relacionados. As hololectinas compreendem as lectinas de plantas mais bem caracterizadas, a maior parte das lectinas de plantas descritas pertencem a esse grupo. Como exemplo temos a lectina da semente da espécie de *Canavalia ensiformis* (ConA), uma lectina ligante a glicose/manose que apresenta diversas atividades biológicas descritas, todas essas atividades estão relacionadas diretamente com a capacidade dessa lectina reconhecer e ligar carboidratos de superfície celulares; Quimerolectinas, proteínas que possuem um ou mais domínios de carboidratos ligantes e um domínio com função distinta, agindo independentemente do domínio de ligação a carboidrato. Um exemplo é a ricina, que possui dois domínios de ligação para carboidratos comportando-se como uma hololectina e um domínio para a inativação do ribossomo (PEUMANS & VAN DAMME, 1998); E as superlectinas lectinas que apresentam dois ou mais sítios lectínicos, porém com especificidades a carboidratos não relacionados.

O estudo das lectinas data desde o século XIX, quando o pesquisador Silas Weir Mitchell em 1860 observou que o sangue de pombo na presença de veneno da serpente *Crotalus durissius*, apresentava coagulação das hemácias. Stillmark (1888) descreveu o efeito tóxico de sementes de *Ricinus communis* e foi o primeiro a associar a capacidade

hemaglutinante ao fator proteico tóxico da ricina. Landsteiner & Raubitishek (1908) estudaram a seletividade das aglutininas, destacaram a característica não tóxica das lectinas, e a partir de então foram descobertos outros vegetais com a mesma característica não tóxica e hemaglutinante. A primeira purificação de lectina foi realizada por James Summer, em 1919, a partir de sementes de *Canavalia ensiformis*. Summer isolou uma proteína que denominou de concanavalina A (Con A), através de precipitação salina e cristalização, deste modo obteve-se a primeira hemaglutinina pura (SHARON & LIS, 2004). Em 1972, o termo lectina foi generalizado para todas as proteínas que possuíssem a capacidade de aglutinar células ou precipitar polissacarídeos e glicoproteínas (SHARON & LIS, 1972), ocorrendo inibição desta atividade por carboidratos (RÜDIGER, 1998).

As lectinas apresentam distribuição universal no reino vegetal e a maioria dessas proteínas foram isoladas e caracterizadas de leguminosas, podendo ser encontradas em diversas partes da planta. As sementes são a maior fonte de lectinas em leguminosas, contudo, as lectinas podem ser encontradas também em partes vegetativas da planta, apesar de existirem em quantidade inferior. Admite-se então que os órgãos de reserva são a principal fonte de lectinas em plantas (PEUMANS & VAN DAMME, 1998).

De acordo com as propriedades e localizações das lectinas em leguminosas, várias hipóteses sobre as funções fisiológicas têm sido sugeridas. As lectinas podem exercer diversas funções biológicas como proteínas de reserva, no mecanismo de defesa contra patógenos desempenhando ação inseticida, fungicida e antibactericida (CHRISPEELS & RAIKHEL, 1991), apresentam também capacidade de aglutinar eritrócitos, transporta e armazena carboidratos (PUSZTAI, 1991), entre outras funções.

O Território Baixo Parnaíba é formado por microrregiões que apresentam uma densidade demográfica de 17,63 hab/Km<sup>2</sup> e população média por município de cerca de 21.529 habitantes. O Território está inserido, em sua maior parte, na Mesorregião Leste Maranhense, ficando apenas o município de Tutóia na Mesorregião Norte Maranhense (MINISTÉRIO DE DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO, 2005).

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

As lectinas representam uma classe de proteínas de origem não imune que se ligam, específica e reversivelmente, a açúcares. Amplamente distribuídas na natureza, são encontradas em plantas, animais vertebrados, invertebrados e microrganismos (LIS & SHARON, 1986). Lectinas de leguminosas apresentam alta similaridade estrutural, porém podem apresentar propriedades biológicas diferenciadas. (CAVADA *et al.*, 2001).

Embora lectinas estejam comumente relacionadas a efeitos de toxicidade, há trabalhos documentados na literatura sobre seus benefícios, sendo as lectinas potenciais ferramentas de interesse terapêutico para diversas pesquisas como terapia do câncer, imunologia, propriedade antibacteriana, inseticida, antimicrobianas e antitumorais (SINGH & SARATHI, 2012; OLIVEIRA, 2011; HAMID *et al.* 2013). O estudo de suas propriedades biológicas tem sugerido importantes aplicações biotecnológicas, dentre estas aplicações, destaca-se a identificação de receptores de membrana e a detecção de estruturas características de neoplasias (LIS & SHARON, 1998).

Segundo estudos de Hamid *et al.* (2013), as lectinas contribuem para o reconhecimento de células tumorais (marcadores de superfície), para a estimulação mitogênica, localização e adesão celular, apoptose, transdução de sinal através das membranas e citotoxicidade. Uma das maiores potencialidades de aplicação das lectinas está na imunologia devido a sua alta capacidade de estimular a resposta mitogênica em linfócitos humanos. Essa propriedade das lectinas foi estudada primordialmente por Nowell ao avaliar o efeito de fitohemaglutinina de *Phaseolus vulgaris* sobre linfócitos humanos (JANEWAY *et al.*, 2000). As lectinas também influenciaram avanços na endocrinologia. Cavada *et al.* (2003), relataram a fosforilação do receptor de insulina, induzida por lectinas vegetais glicose/manose específicas *in vitro*.

Diversos estudos têm sido desenvolvidos para lectinas no campo da oncologia, Shlyakhovenko *et al.* (1995) comprovaram que lectinas promovem adesão de células tumorais a tecidos alvos de maneira específica.

As lectinas possuem uma grande abundância nas plantas, especialmente nas leguminosas, contudo, pouco se sabe das funções fisiológicas dessas proteínas. Entre

algumas funções propostas para as lectinas de plantas reconhece-se a de armazenamento ou transporte de carboidratos, proteção contra patógenos, reconhecimento celular, atividade inseticida, proteínas de reserva ou reguladores de crescimento (TRIGUEIROS *et al.* 2003). Carlini & Grossi-de-Sá, (2002) afirmaram que dentre as proteínas envolvidas no mecanismo de defesa das plantas estão as lectinas.

A atividade inseticida das lectinas é de grande vantagem para o ramo agrícola. Murdock & Shade (2002) identificaram 5 lectinas específicas para *N*-acetil glicosamina e 2 específicas para *N*-acetil galactosamina/Galactose, que causaram um retardamento significativo no tempo de desenvolvimento de larvas de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera), uma grande praga para armazenamento de grãos. Em testes realizados com cupins, as lectinas do gênero *Stryphnodendron*, induziu à mortalidade nestes insetos. (OLIVEIRA, 2011).

Ximenes (2009), em testes com as lectinas do gênero *Caesalpinia* afirma o potencial antimicrobiano das lectinas, onde o crescimento de bactérias gram-positivas ou negativas foi inibido em suas amostras pela presença de lectinas. A atividade anti-inflamatória das lectinas está associada à inibição da migração de leucócitos e uma atividade antinociceptiva que pode estar associada à inibição da dor inflamatória, sugere Silva (2013) em seus estudos sobre lectinas de *Parkia biglobosa*.

No potencial antifúngico, a lectina da semente de *Phaseolus vulgaris* apresentou efeito supressivo no crescimento das espécies de fungos *Fusarium oxysporum*, *Coprinus comatus* e *Rhizoctonia solani* (YE *et al.*, 2001). Lilley *et al.* (1999) sugeriram uma associação para o papel das lectinas entre planta-animal, podendo as lectinas propulsionarem um fator imunológico contra parasitos para animais que se alimentam das plantas que contêm lectinas.

Todos os efeitos e aplicações aqui descritos sugerem que as lectinas possuem importantes aplicações em diversas áreas das ciências naturais e da saúde, sugerindo assim, a importância de se realizar a prospecção e caracterização de novas espécies de lectinas de leguminosas.

### **3. OBJETIVOS**

#### ***3.1 OBJETIVOS GERAIS***

Identificar e caracterizar lectinas de leguminosas da região do Baixo Parnaíba.

#### ***3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS***

- Extrair e caracterizar lectinas presentes em sementes de leguminosas;
- Determinar a especificidade a carboidrato;
- Fazer levantamento geral da presença de lectinas nas espécies estudadas.

## **4. METODOLOGIA**

### ***4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DAS ESPÉCIES***

As espécies utilizadas nos testes foram coletadas em algumas localidades do Baixo Parnaíba Maranhense, a maior parte das coletas se concentraram na cidade de Chapadinha.

As espécies coletadas para experimentos foram devidamente identificadas através de exsicatas pelo Herbário Prisco Bezerra, pertencente ao Departamento de Biologia no Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará.

### ***4.2 PREPARAÇÃO DA FARINHA***

Para preparação da farinha, foram coletadas sementes de leguminosas, estas, foram moídas ou piladas, e posteriormente peneiradas a fim de obter a farinha mais fina possível. A farinha foi então armazenada em tubos falcon à temperatura ambiente fechados para uso posterior.

### ***4.3 EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS***

As proteínas foram extraídas em solução Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 contendo NaCl 0,15 M, Glicina 0,1 M pH 2,6 contendo NaCl 0,15 M, e Glicina 0,1 M pH 9,0 contendo NaCl 0,15M. na proporção 1:10 (m/v), pesando 3 g de farinha para 30 mL de tampão, cada solução foi colocada em tubo falcon de 50 mL. A mistura foi mantida sob agitação constante durante 4 horas em temperatura ambiente. Posteriormente os tubos contendo a mistura foram reservados por 30 minutos, para que decantasse o excesso da farinha. Logo após, foi retirado 12 mL do sobrenadante de cada tubo e passado então para tubos falcon de 15 mL. Estes então foram centrifugados uma vez a 1.500 rpm durante 5 minutos. Depois da centrifugação utilizou-se somente o sobrenadante das amostras para os testes de atividade hemaglutinante.

### ***4.4 TRATAMENTO DE ERITRÓCITOS***

Para os ensaios da atividade hemaglutinante foram utilizadas amostras de eritrócitos de coelho, coletados no Biotério do Laboratório de Biologia Estrutural e Molecular, do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da UFMA; bem como

eritrócitos humanos coletados no Centro de Hemoterapia e Hematologia do Maranhão (HEMOMAR).

Os eritrócitos coletados foram transferidos para tubos falcon de 15 mL, lavados com NaCl 0,15 M em centrífuga por 9 vezes a 1.500 rpm durante 5 minutos, a cada lavagem o sobrenadante foi descartado e adicionado NaCl 0,15 M até completar o volume de 12 mL, posteriormente, a papa de hemácias foi preparada a 3% e utilizada para determinação da atividade hemaglutinante. Também foi realizado o tratamento do sangue com enzima tripsina e papaína.

#### **4.5 SCREEN DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE**

Em tubos de ensaio, foram adicionados primeiramente 100 µl de Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 em todos os tubos, posteriormente 100 µl da amostra (solução de tampão + farinha), e depois 100 µl de eritrócitos. O controle positivo foi feito com 100 µl de Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 + 100 µl da amostra de ConBr + 100 µl de eritrócitos, e o controle negativo 100 µl de Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 + 100 µl de cada tampão (Tris-HCl pH 7,6, Glicina pH 2,6 e Glicina pH 9,0 com NaCl 0,15 M) + 100 µl de eritrócitos. Todos os ensaios foram realizados em duplicatas. O resultado do *screen* da atividade hemaglutinante foi observado visualmente 2 (duas) horas após o término do teste.

#### **4.6 DETERMINAÇÃO DO TÍTULO DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE**

Com os resultados das amostras que apresentaram atividade hemaglutinante em seus respectivos tipos de eritrócitos, foi realizada a determinação do título desta atividade, onde as amostras foram diluídas serialmente com o intuito de determinar qual a menor quantidade de amostra suficiente para apresentar atividade hemaglutinante.

Em placas de microdiluição, foram adicionados em todos os poços 100 µl de Tris-HCl 0,1 M pH 7,6, posteriormente 100 µl da amostra no primeiro poço, diluindo 3 vezes em cada poço e passando para o seguinte até o último poço, que ficou com 200 µl. Em seguida, foi adicionado o eritrócito com o qual a amostra apresentou atividade, 100 µl de eritrócitos em cada poço até o antepenúltimo poço. O resultado da determinação do título da atividade hemaglutinante foi observado em 2 (duas) horas após o término do teste.

#### ***4.7 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE***

Foram realizados testes de especificidade por carboidratos para as amostras que apresentaram resultado positivo para a atividade hemaglutinante, utilizando 8 (oito) diferentes tipos de açúcares: glicose, manose, galactose, fucose, rhaminose,  $\beta$ -lactose,  $\alpha$ -lactose e *N*-acetil-glicosamina.

Em placas, foram adicionados em todos os poços 50  $\mu$ l de Tris-HCl 0,1 M pH 7,6, posteriormente 50  $\mu$ l do açúcar no primeiro poço, diluindo 3 vezes em cada poço e passando para o seguinte até o último poço, que ficou com 100  $\mu$ l, em seguida, foi adicionado 50  $\mu$ l da amostra em cada poço. Passado 1 (uma) hora, foi adicionado o eritrócito com o qual a amostra apresentou atividade, 50  $\mu$ l de eritrócitos em cada poço até o antepenúltimo poço. O resultado da inibição da atividade hemaglutinante foi observado em 2 (duas) horas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ESTUDO DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE

Os resultados positivos obtidos para o teste hemaglutinante foram detectados visualmente, após 2 horas do término do teste com a formação de um coágulo, uma aglutinação das hemácias nos tubos de ensaio. Os resultados negativos foram identificados quando este coágulo não se formava, ou seja, a malha de hemácias não se ligava.



Figura 1. Ao lado esquerdo tubo de ensaio com atividade lectínica, observa-se a aglutinação das hemácias. Ao lado direito tubo de ensaio sem atividade lectínica, sem aglutinação de hemácias. Foto: Raissa Costa.

No total foram utilizadas para teste de atividade hemaglutinante 17 espécies de leguminosas coletadas na região do Baixo Parnaíba, onde 6 espécies não apresentaram atividade hemaglutinante e 11 espécies aglutinaram com determinados tipos de eritrócitos, sendo esta atividade forte ou fraca, ambas são consideradas.

As espécies *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb., *Senna obtusifolia* L. Irwin & Barneby, *Dolichos lablab* Linn, *Mimosa* sp., *Bauhinia pulchella* Benth, *Caesalpinia* sp., *Stryphnodendron* sp., *Parkia* sp., *Dimorphandra gardneriana* Tulasne, *Ormosia arbórea* (Vell.) Harms e *Vatairea macrocarpa* Benth apresentaram atividade hemaglutinante satisfatória nos testes realizados. As espécies *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, *Delonix* sp., *Senna* sp., *Serjania* sp., *Clitoria* sp. e *Albizia* sp. não apresentaram aglutinação de eritrócitos nos testes realizados.

As espécies que aglutinaram com maior variedade de eritrócitos foram *Vatairea macrocarpa* e *Dolichos Lablab*, ambas apresentaram atividade com eritrócitos de coelho normal e tratado com tripsina e papaína, eritrócitos de sangue humano A+, B+ e O-. A *Vatairea macrocarpa* também aglutinou com eritrócitos de sangue humano O+. A

*Dolichos Lablab* aglutinou em todos os eritrócitos apenas em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6, enquanto, a *Vatairea macrocarpa* apresentou atividade com os tampões testados, Glicina 0,1 M pH 2,6, Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0.

A *Macroptilium lathyroides*, espécie da família Fabaceae, apresentou atividade hemaglutinante para eritrócitos de coelho tratado com tripsina em Glicina 0,1 M pH 2,6 após 2h do teste. Nenhum estudo anterior a esse descreveu resultados positivos para teste de atividade hemaglutinante em espécies do gênero *Macroptilium*.



Figura 2. *Macroptilium lathyroides* vulgarmente conhecida como feijão de rola. Foto: Raissa Costa.

*Senna obtusifolia* ou mata pasto como é popularmente conhecida, apresentou atividade para eritrócitos de coelho sem tratamento, em Glicina 0,1 M pH 2,6 após 2h do teste. Um estudo descrito por Pinto *et al.* (2005) para espécies do gênero *Senna* aponta que frações proteicas das sementes possuem uma atividade tóxica que pode ser atribuída a hemaglutininas semelhantes à lectinas, devido à ocorrência de aglutinação sanguínea observada em experimentos *in vitro* utilizando eritrócitos humanos tipo A, B e O e eritrócitos de carneiro e camundongo. Apesar de apresentar o mesmo gênero do estudo descrito por Pinto *et al.* a espécie *Senna obtusifolia* testada apresentou aglutinação somente para eritrócitos de coelho sem tratamento nos testes realizados, tendo sido testada também com eritrócitos humanos ABO.



Figura 3. *Senna obtusifolia* ou mata pasto. Foto: David L Green.

A *Dolichos lablab* apresentou atividade para eritrócitos de coelho normal e tratado com tripsina e papaína, eritrócitos humano A+, B+ e O-, todos em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 após 2h do teste.

Há muitos estudos descritos na literatura sobre a potencialidade lectínica da *Dolichos lablab*. Num estudo realizado por Colucci *et al.* (1999) foi constatada a capacidade de preservação de progenitores hematopoiéticos em cultura em suspensão pela lectina da *Dolichos lablab*.

Num experimento realizado por Guarani *et al.* (2007) verificou-se que ao utilizar lectinas das sementes de *Dolichos lablab* associada a um inibidor de proteinase, um efeito sinérgico dessas proteínas é observado causando redução de peso e mortalidade em larvas de *Anagasta kuehniella*, inseto patógeno de produtos agrícolas, sugerindo assim uma nova perspectiva para o uso biotecnológico dessas proteínas.



Figura 4. *Dolichos lablab*. Foto: Jack Scheper.

*Mimosa sp.* apresentou atividade hemaglutinante para eritrócitos A+ em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6, após 2h do teste. Bezerra *et al.* (2008) descreveu em trabalho de purificação parcial a atividade hemaglutinante para espécie do mesmo gênero *Mimosa*, que apresentou aglutinação para eritrócitos de coelho sem tratamento em Glicina 0,1 M pH 2,6. Feitosa *et al.* (2015) realizou um estudo onde a espécie *Mimosa tenuiflora* apresentou atividade hemaglutinante para eritrócitos humanos tipo A.



Figura 5. *Mimosa pudica* espécie do mesmo gênero usado nos testes. Foto: Getty images.

*Bauhinia pulchella* ou pata-de-vaca apresentou atividade para eritrócitos de coelho tripsinado em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0 e eritrócitos de coelho papaínado em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0 após 2h do teste.

As espécies do gênero *Bauhinia* são amplamente estudadas pela sua forte atividade hemaglutinante. O gênero *Bauhinia* está inserido na família Fabaceae, família mais estudada de lectinas de plantas. As espécies de *Bauhinia* destacam-se pelas suas propriedades biológicas, entre elas algumas apresentam atividade citotóxica, antioxidante e antitumoral (PETTIT *et al.*, 2006; KUMAR *et al.*, 2005). Para a espécie *B. pulchella* ainda não há na literatura nenhum estudo descrito com resultados positivos para a atividade hemaglutinante além deste.



Figura 6. *Bauhinia pulchella* vulgarmente conhecida como pata-de-vaca. Foto: Raissa Costa.

*Caesalpinia sp.* aglutinou eritrócitos de coelho tratado com tripsina em Glicina 0,1 M pH 9,0 após 12h do teste. De acordo com Ximenes (2009) o gênero *Caesalpinia* aglutina eritrócitos de humanos, galinha, coelho e rato, a espécie do gênero *Caesalpinia* utilizada neste projeto foi testada com eritrócitos humano e de coelho, apresentando atividade hemaglutinante somente para eritrócitos de coelho tratado com tripsina. Neste mesmo estudo é afirmado o potencial antimicrobiano das lectinas do gênero *Caesalpinia*, onde o crescimento de bactérias gram-positivas ou negativas não foi observado em suas amostras.



Figura 7. *Caesalpinia sp.* Foto: Álef Matheus Galvão.

*Stryphnodendron sp.* apresentou atividade para eritrócitos de coelho tripsinado em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 após 12h do teste.

Em estudo descrito sobre lectinas do gênero *Stryphnodendron*, a lectina apresentou caráter antibacteriano tendo bons índices de concentração mínima inibitória para as cepas gram-negativas (MELO *et al.*, 2013). Segundo Sharon & Lis (1990) elas inibem estas bactérias em função da presença da *N*-acetilglicosamina na camada de peptidoglicanos destas. Uma vez ligados à lectina, os peptidoglicanos não mais auxiliam na sua alimentação, afetando seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, a presença de metabólitos secundários importantes nos extratos reforça a ação bactericida.

Melo *et al.* (2014) realizaram testes hemaglutinantes com extratos do gênero *Stryphnodendron*, onde obtiveram aglutinação em todos os tipos sanguíneos do sistema

ABO e também eritrócitos de coelho, apesar de apresentar o mesmo gênero do estudo descrito por *Melo et al.* a espécie testada neste presente estudo apresentou aglutinação somente para eritrócitos de coelho com tratamento em tripsina, tendo sido testada também com eritrócitos humanos ABO e eritrócitos de coelho normal e tratado com papaína.

Na atividade inseticida, *Melo et al.* (2014) concluiu que nenhuma das amostras de lectinas do gênero *Stryphnodendron* utilizadas para teste induziu mortalidade expressiva contra *Sitophilus zeamais*, inseto que ataca produtos agrícolas, como o milho, inviabilizando seu uso no combate destes. Enquanto, *Oliveira* (2011) constatou a eficiência inseticida do gênero *Stryphnodendron* para cupins induzindo-os à mortalidade e verificou por método cromatográfico para a presença de metabólitos secundários traços de taninos.



Figura 8. *Stryphnodendron adstringens*, conhecido como barbatimão-verdadeiro, espécie do mesmo gênero usado nos testes. Foto: Eurico Zimbres.

*Parkia sp.* apresentou atividade para eritrócitos de coelho nativos e tratados com tripsina e papaína, em Glicina 0,1 M pH 2,6, Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0 após 2h do teste. Esses resultados são de acordo com o trabalho de *Grangeiro et al.* (1990), onde estudos preliminares de sementes de *Parkia* também aglutinaram somente eritrócitos de coelho.

O gênero *Parkia* é um dos mais citados na literatura de lectinas, *Suvachittanont & Jaranchavanapet* (2000) descreveram o efeito mitogênico de lectinas do gênero *Parkia*, onde as lectinas aumentaram a incorporação de 3H timidina no DNA de linfócitos humanos. A atividade mitogênica da lectina é comparável à dos mitogênicos de células T conhecidos, tais como concanavalina A, fito-hemaglutinina e mitogênio de pokeweed.

A lectina do gênero *Parkia* mostra semelhança de sequência com genes de defesa estrogênicos e patogênicos de várias plantas diferentes, sugerindo uma ancestralidade comum para lectinas relacionadas à jacalina e proteínas de defesa induzíveis. (MANN *et al.*, 2001).

Silva (2013) afirma em seus estudos que a lectina de *Parkia biglobosa* exibe atividade anti-inflamatória que está associada à inibição da migração de leucócitos e uma atividade antinociceptiva que pode estar associada à inibição da dor inflamatória.

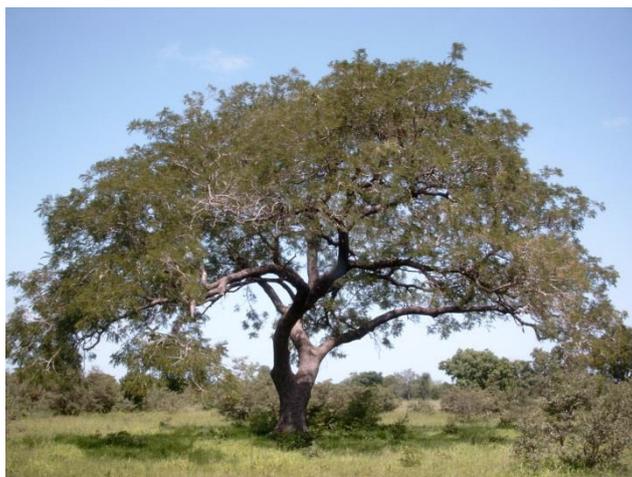


Figura 9. Árvore de *Parkia biglobosa*, espécie do mesmo gênero usado nos testes Foto: Vitellaria.

*Dimorphandra gardneriana* apresentou atividade para eritrócitos de coelho tripsinado em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0 após 2h do teste. Os resultados encontrados pelo presente estudo para a atividade hemaglutinante de espécies do gênero *Dimorphandra* corrobora com outros dois trabalhos publicados que também apresentaram aglutinação para eritrócitos de coelho. (FERNANDES *et al.*, 2011; FERNANDES, 2012).



Figura 10. Vagens de *Dimorphandra gardneriana*. Foto: Maurício Mercadante.

*Ormosia arborea*, vulgarmente conhecida como olho-de-cabra ou olho-de-boi, apresentou atividade para eritrócitos de coelho tripsinado em Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 após 12h do teste. Fernandes *et al.* (2011) realizaram testes hemaglutinantes para o gênero *Ormosia* e obteve aglutinação para eritrócitos de rato.



Figura 11. Sementes de *Ormosia arborea*. Foto: Marquinhos A.

*Vatairea macrocarpa* (VML) apresentou atividade para eritrócitos de coelho nativos e tratados com tripsina e papaína, eritrócitos humanos A+, B+, O+ e O-, todos em Glicina 0,1 M pH 2,6, Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0 após 2h do teste.

A *Vatairea macrocarpa* é referência nos estudos de lectina. Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos utilizando a *Vatairea macrocarpa* como objeto de estudo.

As lectinas de leguminosas são o grupo mais estudado de lectinas e têm sido amplamente ligadas a muitos processos patológicos. Os resultados experimentais e análise comparativa mostram que lectina de semente recombinante de *Vatairea macrocarpa* (rVML) é como uma ferramenta promissora para a investigação do cancro, capaz de se ligar com alta afinidade específicos associados a tumores associados, altamente estável e facilmente produzido. (SOUSA *et al.*,2016)

De acordo com Sousa *et al.* (2015) além dos efeitos biológicos específicos da VML, as semelhanças estruturais e de ligação entre ela e outras lectinas comumente usadas como marcadores histoquímicos sugerem fortemente a VML como uma ferramenta candidata para a pesquisa de câncer.

Em um estudo desenvolvido por Alencar (2007) foi investigado quais mediadores inflamatórios seriam libertados de células ativadas por lectinas de VML, neste trabalho sugere-se que a migração de neutrófilos induzida por lectinas de VML ocorre através da libertação de citocinas tais como as de fatores de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) por macrófagos. Deste modo, esta lectina pode representar uma ferramenta importante para compreender melhor situações patológicas em que um excesso de leucócitos em sítios inflamatórios causa lesão tecidual.



Figura 12. *Vatairea macrocarpa*. Foto: Rede de sementes do Xingú.

As espécies utilizadas que não apresentaram atividade hemaglutinante foram: *Leucaena leucocephala*, *Delonix sp.*, *Senna sp.*, *Serjania sp.*, *Clitoria sp.*. As espécies foram testadas em eritrócitos de coelho nativos e tratados com enzima tripsina e papaína, eritrócitos humano A+, B+ e O-. A *Serjania sp.* foi testada com eritrócitos humanos O+ também.

As espécies testadas do gênero *Albizia sp.* apresentaram hemólise em todos os testes realizados, a espécie foi testada em eritrócitos de coelho nativos e tratados com enzima tripsina e papaína e eritrócitos humano O-.

**Tabela 1.** Espécies utilizadas nos testes, eritrócitos com os quais apresentaram atividade hemaglutinante, tampão de extração em que proteína apresentou atividade hemaglutinante e tempo que a atividade hemaglutinante foi observada após o teste.

<b>Espécie</b>	<b>Eritrócitos</b>	<b>Tampão</b>	<b>Tempo</b>
<i>Macroptilium lathyroides</i>	Coelho tripsinado	Glicina 0,1 M pH 2,6	2h
<i>Senna obtusifolia</i>	Coelho sem tratamento	Glicina 0,1 M pH 2,6	2h
	Coelho sem tratamento		
	Coelho tripsinado		
<i>Dolichos lablab</i>	Coelho papaínado	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	2h
	A+		
	B+		
	O-		
<i>Mimosa sp.</i>	A+	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	2h
<i>Bauhinia pulchella</i>	Coelho tripsinado	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	2h
	Coelho papaínado	Glicina 0,1 M pH 9,0	
<i>Caesalpinia sp.</i>	Coelho tripsinado	Glicina 0,1 M pH 9,0	12h
<i>Stryphnodendron sp.</i>	Coelho tripsinado	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	12h
	Coelho sem tratamento	Glicina 0,1 M pH 2,6	
<i>Parkia sp.</i>	Coelho tripsinado	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	2h
	Coelho papaínado	Glicina 0,1 M pH 9,0	
<i>Dimorphandra gardneriana</i>	Coelho tripsinado	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	2h
		Glicina 0,1 M pH 9,0	
<i>Ormosia arbórea</i>	Coelho tripsinado	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	12h
	Coelho sem tratamento		
	Coelho tripsinado		
	Coelho papaínado	Glicina 0,1 M pH 2,6	
<i>Vatairea macrocarpa</i>	A+	Tris-HCl 0,1 M pH 7,6	2h
	B+	Glicina 0,1 M pH 9,0	
	O+		
	O-		

## 5.2 TÍTULO DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE

Com os resultados das amostras de *Bauhinia pulchella* e *Dimorphandra gardneriana* foi determinado o título da atividade hemaglutinante, onde as amostras

foram diluídas em poços serialmente com o intuito de determinar qual a menor quantidade de amostra suficiente para apresentar a aglutinação nos eritrócitos.

Para a *Bauhinia pulchella* que aglutinou com eritrócitos de coelho tripsinado em Tris-HCl pH 7,6 o resultado foi  $2^5$  (32 U. H./ mL) e em Glicina pH 9,0 o resultado foi  $2^9$  (512 U. H./ mL) e para a atividade hemaglutinante com eritrócitos de coelho tratado com papaína em Tris-HCl pH 7,6 o resultado foi  $2^6$  (64 U. H./ mL) e em Glicina pH 9,0 o resultado foi  $2^{11}$  (2.048 U. H./ mL).

*Dimorphandra gardneriana* apresentou resultados menos satisfatórios, o título da atividade para eritrócitos de coelho tratados com tripsina em Tris-HCl pH 7,6 e Glicina pH 9,0 foi de  $2^3$  (8 U. H./ mL). Fernandes (2012) calculou o título da atividade hemaglutinante da espécie *Dimorphandra caudata* que apresentou resultado de  $2^4$  ou 16 U. H./mL, resultado semelhante ao apresentado neste trabalho, ambas as espécies apresentam um baixo título de atividade hemaglutinante.

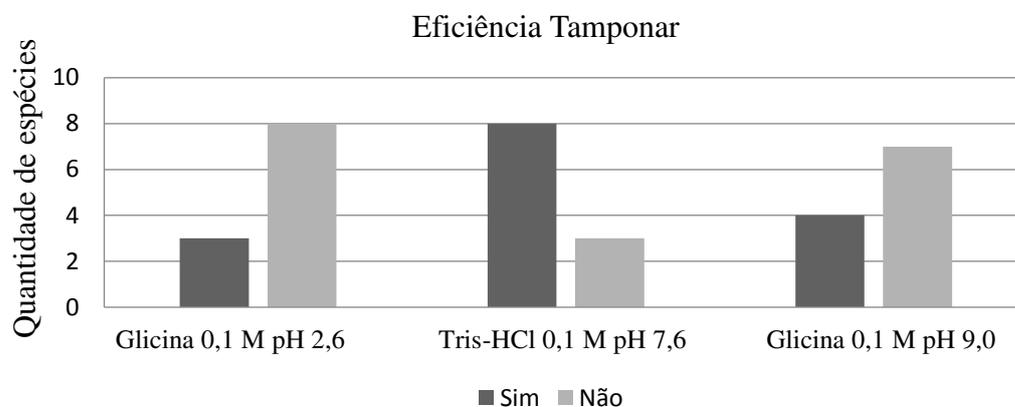
### **5.3. INIBIÇÃO DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE**

Os testes de especificidade por carboidratos realizados para as amostras de *Bauhinia pulchella* e *Dimorphandra gardneriana*, apresentaram resultados semelhantes, ambas tiveram a atividade hemaglutinante inibida pelos açúcares galactose,  $\alpha$ -Lactose e  $\beta$ -Lactose. Num estudo realizado por Oliveira (2006) a galactose também inibiu a atividade hemaglutinante em espécie testada do gênero *Bauhinia*. De acordo com Ambrosi *et al.* (2005) lectinas que possuem especificidade para galactose não são capazes de se ligar à manose ou glicose, sendo assim, esses dados corroboram com essa afirmativa. Fernandes (2012) realizou testes de especificidade a carboidratos em espécie do gênero *Dimorphandra*, onde a atividade hemaglutinante foi inibida somente por lactose e não por galactose.

### **5.4. EFICIÊNCIA TAMPONAR**

A eficiência tamponar foi medida de acordo com a quantidade de resultados positivos para a atividade hemaglutinante em extratos de proteína com cada solução-tampão. As soluções-tampão utilizadas para extrair as proteínas foram Glicina 0,1 M pH 2,6, Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 e Glicina 0,1 M pH 9,0. Conforme representado no gráfico 1, a solução-tampão com melhor eficiência foi Tris-HCl 0,1 M pH 7,6, tendo 8

resultados positivos de atividade hemaglutinante para as amostras proteicas extraídas com esse tampão.



**Gráfico1. Eficiência tamponar.** Os tampões foram utilizados para a extração da proteína das amostras que foram usadas no teste da atividade hemaglutinante e avaliados de acordo com os resultados positivos para a aglutinação de eritrócitos. Eixo Y: quantidade de espécies e no Eixo X: tampões de extração.

## 6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, concluiu-se que das leguminosas utilizadas para teste de atividade hemaglutinante, as espécies *Macroptilium lathyroides*, *Senna obtusifolia*, *Dolichos lablab*, *Mimosa sp.*, *Bauhinia pulchella*, *Caesalpinia sp.*, *Stryphnodendron sp.*, *Parkia sp.*, *Dimorphandra gardneriana*, *Ormosia arborea* e *Vatairea macrocarpa* apresentaram resultados positivos satisfatórios. As espécies que aglutinaram com maior variedade de eritrócitos foram *Vatairea macrocarpa* e *Dolichos lablab*, ambas apresentaram atividade com eritrócitos de coelho normal e tratado com tripsina e papaína, eritrócitos de sangue humano A+, B+ e O-. A *Vatairea macrocarpa*, especificamente, também aglutinou com eritrócitos de sangue humano O+.

A *Bauhinia pulchella* apresentou título de atividade hemaglutinante  $2^5$  (32 U. H./ mL) e  $2^9$  (512 U. H./ mL) para aglutinação em eritrócitos de coelho tripsinado em Tris-HCl pH 7,6 e Glicina pH 9,0, respectivamente, e  $2^6$  (64 U. H./ mL) e  $2^{11}$  (2.048 U. H./ mL) para eritrócitos de coelho papaínado em Tris-HCl pH 7,6 e em Glicina pH 9,0, respectivamente. A *Dimorphandra gardneriana* apresentou o título de  $2^3$  (8 U. H./ mL) para eritrócitos de coelho tratados com tripsina em Tris-HCl pH 7,6 e Glicina pH 9,0.

*Bauhinia pulchella* e *Dimorphandra gardneriana*, apresentaram resultados da atividade hemaglutinante inibida pelos açúcares galactose,  $\alpha$ -Lactose e  $\beta$ -Lactose.

A solução-tampão Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 apresentou maior eficiência tamponar, sendo o tampão que mais apresentou resultados positivos de atividade hemaglutinante para as amostras proteicas extraídas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, N. M. N., ASSREUY, A. M. S., A. H., BENEVIDES, R. G. DE MOURA, T. R.; DE SOUSA, R. B., RIBEIRO, R. A., CUNHA, F. Q., CAVADA, B. S. *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae) lectin activates cultured macrophages to release chemotactic mediators. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 374, p. 275-282, 2007.
- AMBROSI, M., CAMERON, N. R., DAVIS, B. G. Lectins: tools for the molecular understanding of the glycode. **Organic Biomolecular Chemistry**, v. 3, p. 1593-1608, 2005.
- BEZERRA, M. J. B., BEZERRA, E.H.S., NASCIMENTO, K. S., MARINHO, E.S., CAVADA, B. S. **Purificação parcial de lectinas de sementes de *Mimosa flocculosa* Burkart**. 2008. In 59° Congresso Nacional de Botânica, Natal, 2008. Disponível em: <[https://www.botanica.org.br/trabalhoscientificos/59CNBot/59CNBot\\_bioqveg\\_041.pdf](https://www.botanica.org.br/trabalhoscientificos/59CNBot/59CNBot_bioqveg_041.pdf)> Acesso em 08 dez. 2016.
- CARLINI, C. R., GROSSI-DE-SÁ, M. F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. **Toxicon**, v.40, p. 1515-1539, 2002.
- CAVADA, B. S., BARBOSA, T., ARRUDA, S., GRANGEIRO, T.B., BARRALNETTO, M. Revisiting proteus: do minor changes in lectin structure matter in biological activity? Lessons from and potential biotechnological uses of the Diocleinae subtribe lectins. **Current Protein & Peptide Science**, v 2, n. 2, p. 1-13, 2001.
- CAVADA, B. S., IGLESIAS, M.M., TRONCOSO, M.F., TEIXEIRA, E.H., TURYN, D.; DOMINICI, F.P. Glucose-mannose-binding lectins isolated from Brazilian beans stimulate the autophosphorylation of the insulin receptor in vitro. **Hormone and Metabolic Research**, v. 35, n. 2, p. 125-27, 2003.
- CHRISPEELS, M. J., RAIKHEL, N. V. Lectins, lectin genes, and their role in plant defense. **The Plant Cell**, v. 3, p. 1-9, 1991.
- COLUCCI, G., MOORE, J. G., FELDMAN, M., CHRISPEELS, M. J. cDNA cloning of FRIL, a lectin from *Dolichos lablab*, that preserves hematopoietic progenitors in suspension culture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, p. 646-650, 1999.
- FEITOSA, M. T. L., SILVA, G. N. B., SILVA, K. M., SILVA, N. F., NASCIMENTO, C. E. S., FALCÃO, R. E. A. **Inquérito etnofarmacológico do pH de extração**

da lectina presente no extrato aquoso de *Mimosa tenuiflora*. In: X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia, Juazeiro, 2015. Disponível em: <[http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos\\_anais/etn1111.pdf](http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos_anais/etn1111.pdf)>. Acesso em 12 dez. 2016.

FERNANDES, A. V. **Caracterização bioquímica e avaliação da atividade antifúngica de lectinas de sementes de Fabaceae da Amazônia**. 2012. 103 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual do Amazonas, Manaus, 2012.

FERNANDES, A. V., RAMOS, M. V., GONÇALVES, J. F., MARANHÃO, P. A. C., CHEVREUIL, L. R., SOUZA, L. A. G. Seeds of Amazonian Fabaceae as a source of new lectins. *Braz. J. Plant Physiology*. v. 23, n. 3, p. 237-244, 2011.

GRANJEIRO, T. B., DE OLIVEIRA, J. T. A., MOREIRA, R. A., CAVADA, B. S. Estudos preliminares de uma lectina de sementes de *Parkia platycephala* Benth. *Acta Botanica Brasilica*, v. 4, n. 2, p. 69-74, 1990.

GUARANI, N. R., OLIVEIRA, C. F. R., DURIGAN, R. A., MACEDO, M. L. R., FREIRE, M. G. M. **Sinergic Effect of a Proteinase Inhibitor from *Adenanthera pavonina* (APTI) and *Dolichos lablab* lectin (DLL) Against *Anagasta kuehniella***. In: XXXVI Encontro Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, Salvador, 2007. Disponível em: < <http://sbbq.iq.usp.br/arquivos/2007/cdlivro/index.htm>> Acesso em: 30 nov. 2016.

HAMID, R, MASOOD A., WANI, I. H., RAFIQ S. Lectins: Proteins with Diverse Applications. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v.3, p. 93-103, 2013.

JANEWAY, C. C., TRAVERS, P., WALPORT, M., CAORA, J. D. **Imunobiologia: O sistema imunológico na saúde e na doença**. 4º ed, Rio de janeiro: Artmed, 2000.

KUMAR, R. S., SIVAKUMAR, T., SUNDERAM, R. S., GUPTA, M., MAZUMDAR, U. K., GOMATHI, P., RAJESHWAR, Y., SARAVANAN, S., KUMAR, M. S., MURUGESH, K., KUMAR, K. A. Antioxidant and antimicrobial activities of *Bauhinia racemosa* L. stem bark. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*, v. 38, n. 7, p. 1015-1024, 2005.

LILLEY, C. J., DELVIN, P., URWIN, P. E., ATKINSON, S. J. Parasitic nematodes Proteinases and Transgenic Plants. *Parasitology Today*, v.15, p. 414-417, 1999.

LIS, H., SHARON, N. Lectin as molecules and as tools. *Annual Review of Biochemistry*, v 55, p. 35-67, 1986.

LIS, H., SHARON, N. Lectins: Carbohydrate-specific proteins mediate cellular recognition. **Chemical reviews**, v. 98, n. 2, p. 637 - 674, 1998.

MANN, K., FARIAS, C. M., DEL SOL, F. G., SANTOS, F. C., GRANGEIRO, T. B., NAGANO, C. S., CAVADA, B. S., CALVETE, J. J. The amino-acid sequence of the glucose/mannose-specific lectin isolated from *Parkia platycephala* seeds reveals three tandemly arranged jacalin-related domains. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, 2001.

MELO, A. S., CUNHA, M. C., GOMES, F. S., NAPOLEÃO, T. H., COELHO, L. C. B. B., SILVA, D. G. R., SÁ, R. A., PAIVA, P. M. G. **Avaliação de atividade antibacteriana em extratos metanólico, salino e lectina de *Stryphnodendron adstringens***. In: 6º Encontro Nacional da Tecnologia Química, Maceió, 2013. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/entequi/trabalhos/50/50-3143-14380.html>> Acesso em: 25 nov. 2016.

MELO, A. S., SILVA, C. D., COSTA, J. A., SILVA, D. G. R., SÁ, R. A. **Lectinas de *Stryphnodendron adstringens*: avaliação de atividade inseticida contra *Sitophilus zeamais***. In: Congresso Brasileiro de Química, Natal, 2014. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2014/trabalhos/7/5895-14380.html>> Acesso em 25 nov. 2016.

MINISTÉRIO DE DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO. Secretaria de Desenvolvimento Territorial Território Baixo Parnaíba. **Plano territorial de desenvolvimento rural sustentável**. São Luís, 2005.

MURDOCK L. L. & SHADE R. E. Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, p. 50, 2002.

OLIVEIRA, M. M. **Extração, isolamento e caracterização parcial de lectinas de folhas de *Bauhinia variegata* var. “cândida”**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2006.

OLIVEIRA, S. F., SÁ, R. A. **Investigação de metabólitos secundários e lectinas em *Capparis flexuosa* E *Stryphnodendron adstringens***. In: XIX Congresso de Iniciação Científica da UFPE, Recife, 2011. Disponível em: <<https://www.ufpe.br/propeq/images/conic/2011/conic/pibic/10/11011434PP.pdf>> Acesso em 05 dez. 2016.

PEUMANS, W. J., VAN DAMME, E. J. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiology**, v. 109, p. 347-352, 1995.

- PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E. J. Plant Lectins: Versatile proteins with important perspectives in biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 15, p. 199-227, 1998.
- PINTO, F. C. R., LOMBARDO, M., MARTINS, A., FERREIRA, V. C. A., RICHARDSON, M., BEMQUERER, M. P., KIYOTA, S. **Hemagglutinating proteins in toxic extracts of *Senna occidentalis* seeds**. In: XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, São Paulo, 2005. Disponível em: <<http://sbbq.iq.usp.br/arquivos/2005/cdlivro/resumos.html>> Acesso em 05 dez. 2016.
- PUSZTAI, A. **Plant lectins**. Cambridge University Press, p. 19-43, 1991.
- RÜDIGER, H. Plant lectins – more than just tools for glycoscientists: occurrence, structure and possible functions of plant lectins. **Acta anatomica**, v. 161, p. 130- 152. 1998.
- SHARON, N., LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, n. 4, 2004.
- SHARON, N., LIS, H. Lectins: Cell-Agglutinating and Sugar-Specific proteins. **Science**, v. 177, n. 4053, 1972.
- SHARON, N., LIS, H. Legume lectins: a large family of homologous proteins. **FASEB Journal**, v. 4, p. 3198-3208, 1990.
- SHLYAKHOVENKO, V.A., KOZAK, V.V., VINARCHUK, M.P. Expression of lectin receptors in sites Ehrlich tumor cells under modified polyamine levels. **Experimental Oncology**, v. 17, p. 119-123, 1995.
- SILVA, H. C. **Caracterização estrutural e biológica das lectinas de sementes de *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth e *Vatairea guianensis* Aublet**. 2013. 137 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- SINGH H., SARATHI S. P., Insight of Lectins - A review. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 3, p. 1-9, 2012.
- SOUSA, B. L., SILVA FILHO, J. C., KUMAR, P., PEREIRA, R. I., CUNHA, R. M., NASCIMENTO, K. S., BEZERRA, G. A., DELATORRE, P., NAGANO, C. S., GRUBER, K., CAVADA, B. S. Structural characterization of a *Vatairea macrocarpa* lectin in complex with a tumor-associated antigen: A new tool for cancer research. **Elsevier**, v. 72, p. 27-39, 2016.
- SOUSA, B. L., SILVA FILHO, J. C., KUMAR, P., PEREIRA, R. I., LYSKOWSKI, A., ROCHA, B. A., DELATORRE, P., BEZERRA, G. A., NAGANO, C. S., GRUBER, K., CAVADA, B. S. High-resolution structure of a new Tn antigen-binding lectin from

*Vatairea macrocarpa* and a comparative analysis of Tn-binding legume lectins. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 59, p. 103-110, 2015.

STILLMARK, H. Ueber Ricin, ein giftiges ferment aus dem samen von *Ricinus communis* L. und einigen anderen Euphorbiaceen. **Arbeiten des Pharmakologischen Institutes zu Dorpat**, v. 3, p. 59-151, 1888.

SUVACHITTANONT, W., JARANCHAVANAPET, P. Mitogenic effect of *Parkia speciosa* seed lectin on human lymphocytes. **Planta Medica**, v. 66, p. 699-704, 2000.

TRIGUEIROS, V., LOUGARRE, A., ALI-AHMED, D., RAHBE<sup>2</sup>, Y., GUILLOT, L., CHAVANT, L. FOURNIER, D., PAQUEREAU, L. Xerocomus chrysenteron lectin: identification of a new pesticidal protein. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1621, p. 292-298, 2003.

VAN PARIJS J, BROEKAERT WF, GOLDSTEIN IJ, PEUMANS WJ. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. **Plantae**. v. 183, p. 258-262, 1991.

XIMENES, N. A. **Caracterização e avaliação de atividades biológicas da lectina da bagem de *Caesalpinia ferrea* (CfePL)**. 2009. 136p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

YE, X. Y., NG, T. B., TSANG, P. W., WANG. J. Isolation of a homodimeric lectin with antifungal and antiviral activities from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Journal of Protein Chemistry**, v. 20, p. 367-375, 2001.