



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

LUIZ FERNANDO BEZERRA EVANGELISTA

**EFEITO HIPOGLICÊMICO DA LECTINA DE FOLHAS DE
Bauhinia monandra Kurz. (BmoLL) EM RATOS WISTAR COM DIABETES
MELLITUS TIPO 2**

MOSSORÓ

2018

LUIZ FERNANDO BEZERRA EVANGELISTA

**EFEITO HIPOGLICÊMICO DA LECTINA DE FOLHAS DE
Bauhinia monandra Kurz. (BmoLL) EM RATOS WISTAR COM DIABETES
MELLITUS TIPO 2**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Michele Dalvina
Correia da Silva

Co-orientadora: Profa. Me. Ana Claudia de
Oliveira

MOSSORÓ

2018

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

E92e Evangelista, Luiz Fernando Bezerra.
EFEITO HIPOGLICÊMICO DA LECTINA DE FOLHAS DE
Bauhinia monandra Kurz. (BmoLL) EM RATOS WISTAR
COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 / Luiz Fernando
Bezerra Evangelista. - 2018.
40 f. : il.

Orientadora: Michele Dalvina Correia da Silva.
Coorientadora: Ana Claudia de Oliveira.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia,
2018.

1. Planta. 2. Proteína. 3. Antidiabética. I.
Silva, Michele Dalvina Correia da, orient. II.
Oliveira, Ana Claudia de, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

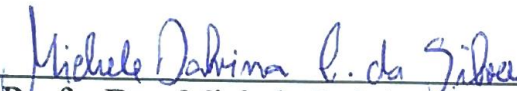
LUIZ FERNANDO BEZERRA EVANGELISTA

**EFEITO HIPOGLICÊMICO DA LECTINA DE FOLHAS DE
Bauhinia monandra Kurz. (BmoLL) EM RATOS WISTAR COM DIABETES
MELLITUS TIPO 2**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Biotecnologia.

Defendida em: 01 / 09 / 2018.

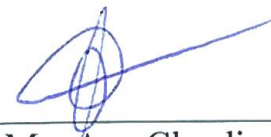
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Michele Dalvina Correia da Silva
(Presidente da Banca Examinadora e Orientadora)



Profa. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra
(Examinadora)



Profa. Me. Ana Claudia de Oliveira
(Examinadora)

A minha avó Maria Luiza (In Memoriam) por ter sido uma guerreira e enfrentado com todas as forças as adversidades que a vida lhe impôs.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser fonte inesgotável de luz que ilumina e guia todos os meus passos e pelas pessoas especiais colocadas no meu caminho.

À minha orientadora Profa. Dra. Michele Dalvina Correia da Silva, pelo acolhimento no Laboratório de Biologia Celular e Molecular (LABCEMOL), pela oportunidade de crescimento científico e aprendizado durante todo o curso. Meu eterno obrigado!

À minha co-orientadora Profa. Me. Ana Claudia de Oliveira, pelo apoio, e por ter dividido o conhecimento e confiança no desenvolvimento desse trabalho, além de ser um anjo na minha vida.

Aos meus pais Esmerina e Luiz, que mesmo distantes fisicamente, são minha fonte de estímulo, confiança, amor e carinho dados durante toda minha vida. Por acreditarem nos meus propósitos e me apoiarem sempre em tudo. Sem eles minha vida não teria sentido.

À minha irmã Fernanda, pela força constante e cumplicidade fundamental para minha caminhada até aqui.

Aos colegas e amigos do LABCEMOL, em especial a José Carlos da Silveira Pereira, pelos ensinamentos além do que este trabalho expressa, pela paciência e momentos compartilhados.

A Breno de Holanda Almeida, nada nessa vida é por acaso, e ter tido a oportunidade de lhe conhecer foi o maior presente que levo para a vida. Com você compartilhei momentos bons e difíceis durante a realização desta jornada. Agradeço por me ouvir, pela paciência, pela ajuda na hora necessária e pelos vários momentos de risadas. Obrigado amigo!

Aos amigos da turma, curso e vida, Bruna Araújo, Kewen Santiago, Kamila Pátula, Johny Wisllas, Romana Renery, Amanda Araújo, Barbara Silva, Fran Costa, Giliane Duarte, Sara Cilea, Gisele Lannay, Tasyele Freire, Luiza Santiago, Darlianne Sousa, Ingrid Follone, Rafaella Cavalcanti, pela amizade, por fazerem essa jornada se tornar mais fácil e pelas várias risadas em momentos de distrações.

Agradeço a Empresa de Biotecnologia Aplicada ao Semi-Árido (EMBASA) e ao tutor Prof. Dr. Lívio Carvalho de Figueiredo pelo meu crescimento profissional como biotecnologista e também como pessoa, além do que a graduação permitiu.

Agradeço, enfim, a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, me ajudaram a concluir esse trabalho.

“Para conhecermos os amigos é necessário passar pelo sucesso e pela desgraça. No sucesso, verificamos a quantidade e, na desgraça, a qualidade”.

Confúcio

RESUMO

Espécies do gênero *Bauhinia* são conhecidas na medicina popular por seus efeitos no tratamento do diabetes, doença responsável por causar distúrbios no metabolismo de lipídeos, proteínas e carboidratos, resultando em diversas desordens fisiológicas devido a falhas na produção e/ou secreção de insulina pelas células β das ilhotas pancreáticas. Diabetes tipo 2, causado pela destruição parcial das células β pancreáticas, é a forma mundialmente diagnosticada em mais 90 % dos casos. Esse trabalho teve por objetivo avaliar se a lectina isolada das folhas da espécie *Bauhinia monandra*, denominada BmoLL, possui efeito hipoglicemiante quando administrada (2 mg/Kg) em ratos machos diabéticos. BmoLL exibiu AH com eritrócitos glutarizados de coelho (AH: 2.048^{-1}), bem como teor proteico (0,52 mg/mL). SDS-PAGE revelou duas bandas proteicas, equivalentes as subunidades já descritas para BmoLL em literatura (de 33 e 26 kDa). Para o desenvolvimento do ensaio biológico, ratos machos (com 150 g) foram induzidos a desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (por administração intraperitoneal de estreptozotocina, 100 mg/Kg), confirmada pelo teste de tolerância intraperitoneal à glicose. 4 grupos de animais (n=6) foram submetidos a diferentes tratamentos por gavagem, durante 20 dias: grupo I - animais normoglicêmicos (ingestão diária de tampão citrato-fosfato 0,01 M em NaCl 0,15 M, pH 6,5); grupo II – animais diabéticos (DM) sem tratamento (ingestão diária de tampão); grupo III - animais diabéticos (DM) tratados com BmoLL (ingestão de 2 mg/Kg/dia); grupo IV - animais diabéticos (DM) tratados com Glibenclamida (ingestão de 0,071 mg/Kg/dia). A cada 5 dias, foi avaliado o nível glicêmico dos animais. BmoLL apresentou atividade hipoglicemiante, reduzindo os níveis séricos de glicose nos ratos em 63,5 % enquanto a Glibenclamida reduziu em 40,25 %. Portanto, conclui-se que BmoLL (a 2 mg/Kg) foi capaz de controlar os níveis de glicose no sangue, reduzindo níveis séricos de modo mais efetivo que fármaco comercial Glibenclamida.

Palavras-chave: Planta, Proteína, Antidiabética.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1. Diabetes Mellitus	12
2.1.1. Diabetes mellitus tipo 1.....	12
2.1.2. Diabetes mellitus tipo 2.....	13
2.2. Plantas usadas no controle da glicemia.....	14
2.3. Lectinas	16
2.4. Gênero <i>Bauhinia</i> e a espécie <i>Bauhinia monandra</i>	18
2.5. Lectina de Folhas de <i>Bauhinia monandra</i> : BmoLL.....	20
3. OBJETIVOS DA PESQUISA	22
3.1. Objetivo geral.....	22
3.2. Objetivos específicos	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1. Autorização do comitê de ética	23
4.2. Obtenção do extrato e da fração proteica.....	23
4.3. Determinação da atividade hemaglutinante	23
4.4. Determinação do teor proteico solúvel	24
4.5. Cromatografia de afinidade.....	24
4.6. Eletroforese em gel de poliacrilamida.....	24
4.7. Ensaio biológicos.....	24
4.8. Análise estatística.....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6. CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

Cerca de 425 milhões de adultos convivem com o diabetes no mundo e a perspectiva é que no ano de 2045 esse número aumente para 629 milhões, o que a torna uma emergência de saúde global já que, além de afetar o bem-estar, o diabetes causa impacto econômico substancial sobre os países e os sistemas nacionais de saúde, devido ao aumento do uso destes serviços e à perda de produtividade no trabalho (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017).

O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico caracterizado pela hiperglicemia, resultado da secreção defeituosa da insulina pelas células β do pâncreas, da ação ineficiente da insulina sobre as células ou de ambas alterações.

O DM pode ser dividido em diabetes tipo 1, causada pela perda total de secreção de insulina desencadeada por processos autoimunes e diabetes tipo 2, mais prevalente na população, causada por uma combinação de resistência à ação da insulina pelas células e uma insuficiente resposta insulínica secretória (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

O tratamento do diabetes envolve, a princípio, mudanças no estilo de vida, controle alimentar, bem como a prática de exercícios físicos. Quando essas mudanças não são efetivas para controlar o diabetes, a administração de medicamentos antidiabéticos se torna necessária (ANDERSON; KENDALL; JENKINS, 2003). Os fármacos são a principal forma de controlar o diabetes tipo 2 atualmente; porém, algumas pessoas sofrem efeitos colaterais (KOSKI, 2006; NATHAN et al., 2009). Por isso, é urgente a descoberta de drogas antidiabéticas de origem natural, que sejam eficientes e capazes de causar mínimos efeitos adversos.

Alternativamente ao uso de fármacos, o diabetes e outras diversas doenças têm sido controladas com o uso de uma diversidade de espécies de plantas (PEPATO, et al., 2002; BUSNARDO et al., 2010; PETROVSKA, 2012); são utilizadas diferentes partes das plantas como raízes, folhas, sementes, entrecascas e frutos, administrados na forma de chás ou mesmo consumidos na alimentação na forma de saladas, geleias e polpas (AYYANAR; SUBASH-BABU; IGNACIMUTHU, 2013).

As propriedades farmacológicas e efeitos terapêuticos de produtos de origem vegetal são resultado da ação de moléculas biologicamente ativas, como muitos metabólitos primários e secundários, entre esses encontram-se as lectinas (BOURGAUD et al., 2001). As lectinas são proteínas de origem não imunológica que se ligam especificamente e de forma reversível a carboidratos (GOLDSTEIN et al., 1980). Essas proteínas têm ampla distribuição na natureza

e têm sido predominantemente isoladas a partir de sementes de leguminosas, embora sejam também encontradas em outros tecidos vegetais (LAM; NG, 2011).

Diversas lectinas já foram bem caracterizadas e estudadas quanto aos seus efeitos biológicos, como atividade antioxidante, antinoceptiva, anti-inflamatória, imunomoduladora, antitumoral, hipoglicemiante, inseticida entre outras atividades (KABIR, 1998; KAVALLALI et al., 2003; MACEDO et al., 2007; GHOSH; MAITI, 2007; GAVROVIC-JANKULOVIC et al., 2008; SILVA et al., 2009; CAMPOS et al., 2016), demonstrando que a ação hipoglicêmica é apenas uma das propriedades biológicas que podem ser promovidas por lectinas (KAVALLALI et al., 2003; LI et al., 2012; ROCHA, et al. 2013).

Uma espécie medicinal usada como hipoglicemiante e rica em lectinas, *Bauhinia monandra*, é uma planta pertencente à família Fabaceae, nativa da Ásia, porém amplamente encontrada em várias regiões do mundo incluindo o Brasil (BALOGUN; FETUGA, 1985; CARIBÉ; CAMPOS, 1991). Essa e várias outras espécies do gênero *Bauhinia* são usadas no tratamento do diabetes; as folhas são consideradas antidiabéticas, diuréticas e hipocolesterolêmicas (MORS et al., 2000).

Uma lectina galactose específica isolada de folhas de *B. monandra*, denominada BmoLL (COELHO; SILVA, 2000), já revelou ação biocida sobre larvas de insetos (MACEDO et al., 2007), ausência de genotoxicidade e citotoxicidade, potencial antioxidante (SISENANDO et al., 2009), ação anti-inflamatória e antinociceptiva (CAMPOS et al., 2016) entre outras aplicações. Porém, seu efeito no tratamento do diabetes mellitus tipo 2 ainda não foi avaliado.

Ainda são escassos os estudos farmacológicos que avaliam a ação hipoglicemiante da BmoLL. Desta forma, é importante avaliar se a BmoLL é o agente biologicamente ativo responsável pela ação hipoglicemiante da espécie *B. monandra*, explorada na medicina popular para tratar diabetes mellitus tipo 2.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Diabetes Mellitus

O diabetes mellitus (DM) não é considerado uma única doença, mas compõe um grupo heterogêneo de distúrbios no metabolismo que apresenta como característica comum à elevação da glicemia sanguínea (hiperglicemia), resultante de defeitos na ação do hormônio insulina, na secreção de insulina pelas células β das ilhotas pancreáticas ou de ambos os defeitos, acarretando diversas complicações no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas do diabético (MARITIM; SANDERS; WATKINS, 2003; OLIVEIRA; MILECH, 2004). A hiperglicemia crônica está associada com danos, disfunção e falência de vários órgãos, tecidos e células, especialmente olhos, rins, nervos, coração, fígado e vasos sanguíneos (ANSTEE; TARGHER; DAY, 2013; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

Cerca de 425 milhões de adultos convivem com o diabetes no mundo e a perspectiva é que até o ano de 2045 esse número atinja a marca de 629 milhões de pessoas com o diabetes (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017). De 1990 a 2015, a prevalência do diabetes no Brasil aumentou de 3,6 para 6,1 %, e a taxa bruta de mortalidade a cada 100.000 habitantes aumentou em mais 90 %, tornando-se a 4ª causa de incapacidade trabalhista no Brasil devido à complicações relacionadas à cronicidade do diabetes (DUNCAN et al., 2017).

Existem duas principais classes clínicas: o diabetes mellitus tipo 1 presente em menor parte da população, e o tipo 2, forma mais comum em adultos e, recentemente, vem crescendo também o número de crianças acometidas por esse distúrbio (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017). Além dessas duas classes clínicas do diabetes, existe ainda o diabetes gestacional que é detectado durante a gestação e está associado principalmente a resistência à insulina, causada pelos hormônios placentários, oferecendo riscos para a gestante e para o bebê e podendo se estender após a gestação, evoluindo para o diabetes tipo 2 (BUCHANAN; XIANG, 2005).

2.1.1. Diabetes mellitus tipo 1

O diabetes tipo 1 é a forma diagnosticada em 5 % a 10 % dos casos, sendo resultado da destruição das células β -pancreáticas, que leva à consequente deficiência na produção e secreção do hormônio insulina. Na maioria dos casos, essa destruição de células β é mediada

por processos autoimunes causados por múltiplas predisposições genéticas. Porém, existem casos em que não há evidências de processo autoimune, sendo, portanto, referidos como forma idiopática do diabetes tipo 1 (KUKKO et al., 2005; ATKINSON; EISENBARTH; MICHELS, 2014; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

O diagnóstico do diabetes tipo 1 está associado a sintomas como polidipsia (excessiva sensação de sede), polifagia (fome excessiva) e poliúria (urinar em excesso) no início da doença, juntamente com hiperglicemia evidente e cetoacidose; esses sintomas são os marcadores do diagnóstico, principalmente em crianças e adolescentes e, em menor grau, em adultos, sendo necessário o uso imediato de insulina exógena como forma de tratamento vitalício (ATKINSON; EISENBARTH; MICHELS, 2014).

2.1.2. Diabetes mellitus tipo 2

O diabetes tipo 2 é a forma mais diagnosticada, correspondendo a 90 % a 95 % dos casos. Caracteriza-se por defeitos na ação e secreção da insulina, bem como pela resistência das células à mesma. Um dos fatores associados ao surgimento do diabetes tipo 2 é a obesidade que, em certo grau, gera resistência à ação da insulina sobre as células (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). A prevalência do diabetes tipo 2 vem aumentando em todo o mundo, particularmente nos países em desenvolvimento, em conjunto com o aumento das taxas de obesidade e ocidentalização do estilo de vida (INZUCCHI et al., 2012).

Diversas complicações estão associadas ao diabetes tipo 2, como doenças cardiovasculares, cegueira, insuficiência renal, aumento do risco de desenvolvimento de câncer, doença psiquiátrica grave, declínio cognitivo, doença hepática crônica, artrite, outras condições de morbidade e até a morte (MARITIM; SANDERS; WATKINS, 2003; INZUCCHI et al., 2012).

O tratamento do diabetes envolve, a princípio, mudanças no estilo de vida, como aderir a uma dieta saudável e à prática de exercícios físicos. Quando essas mudanças não são efetivas para controlar o diabetes, a administração de medicamentos antidiabéticos se torna necessária (HU et al., 2001; ANDERSON; KENDALL; JENKINS, 2003; LINDSTRÖM et al., 2006; KNOWLER et al., 2009).

Uma ampla variedade de agentes farmacológicos está disponível para o tratamento do diabetes tipo 2 (BOLEN et al., 2007; BLONDE, 2010). Para complementar as terapias mais antigas, como intervenções no estilo de vida e o uso da insulina, o surgimento de diversas

classes de medicamentos hipoglicemiantes aumentou o número de opções de tratamento disponíveis para o diabetes tipo 2 (NATHAN, 2007). Agentes terapêuticos para o diabetes devem ser baseados em sua eficácia na redução da glicose, promover efeitos extraglicêmicos que podem reduzir as complicações a longo prazo, e permitir o uso com segurança, tolerabilidade, facilidade de uso e baixo custo (NATHAN et al., 2009).

O tratamento do diabetes tipo 2 envolve quatro principais classes de agentes hipoglicemiantes orais: as sulfonilureias, que atuam reduzindo o nível da glicose plasmática primariamente, estimulando o aumento da secreção de insulina a partir do estímulo às células β , causando hipoglicemia; as biguanidas, representadas pela metformina, o único fármaco da classe atualmente disponível no mercado, cujo mecanismo primário consiste em uma diminuição dos níveis de glicose no sangue a partir da diminuição da gliconeogênese no fígado, além de promover o aumento da sensibilidade à insulina em tecidos periféricos e a diminuição da absorção de glicose no intestino; inibidores de α -glicosidase, drogas que agem interferindo na absorção dos carboidratos pelas células intestinais, cujo efeito resulta, primariamente, na redução dos níveis de glicose pós-prandial no plasma, e os seus mecanismos de ação consistem em agirem como competidores e inibidores reversíveis da α -glicosidase e α -amilase impedindo, assim, o fornecimento de glicose, por inibirem a quebra enzimática de polissacarídeos complexos como o amido; por fim, as tiazolidinedionas, que aumentam a sensibilidade dos tecidos muscular e adiposo à insulina, diminuem a produção de glicose hepática e são potentes e seletivos agonistas dos receptores γ nucleares, que regulam a transcrição de genes envolvidos no controle da produção, transporte e utilização de glicose (KOSKI, 2006).

Os medicamentos utilizados na prática clínica para tratar o DM não são capazes de restaurar com sucesso os níveis normais de glicose em muitos pacientes, e causam efeitos colaterais como náuseas e episódios de hipoglicemia; além disso, tornam-se falhos no decorrer do tempo e o uso contínuo de drogas sintéticas antidiabéticas pode causar toxicidade (KOSKI, 2006; NATHAN et al., 2009; DAVIDSON et al., 2018). Desse modo, torna-se cada vez mais necessária a procura por drogas antidiabéticas de origens naturais, que causem o mínimo de efeitos adversos nos pacientes e sejam eficazes no tratamento do diabetes, sendo as plantas consideradas uma alternativa nesta busca.

2.2. Plantas usadas no controle da glicemia

Antes mesmo da descoberta e produção da insulina em laboratório e de fármacos antidiabéticos, o tratamento do DM já era realizado com o uso de plantas. Esse tratamento à base de plantas é muito comum em países ou regiões menos desenvolvidas ou, ainda, em regiões isoladas e de difícil acesso, sendo uma alternativa terapêutica para diversas doenças por promover nenhum ou poucos efeitos secundários (LUNA; FEINGLOS, 2001; FABRICANT; FARNSWORTH, 2001).

Alternativamente ao uso de fármacos antidiabéticos, partes de plantas vêm sendo utilizadas no controle do diabetes, como raízes, folhas, flores, sementes, entrecascas e frutos, que são administrados na forma de chá ou mesmo consumidos na alimentação na forma de saladas, geleias e polpas (AYYANAR; SUBASH-BABU; IGNACIMUTHU, 2013).

A atividade hipoglicemiante já foi observada em diversas espécies vegetais. Singh e Marar (2011) verificaram em extrato aquoso e metanólico de sementes de *Syzygium cumini* e de frutos e sementes de *Pisidium guajaya* o efeito inibitório sobre a α -amilase salivar e glicosidases pancreáticas, hepáticas e intestinais de ratos. O extrato etanólico de folhas de *Butea monosperma* demonstrou atividade hipoglicêmica e antioxidante significativa em ratos diabéticos (AKHTAR, et al., 2010). Em outro estudo realizado com extrato aquoso de *Vinca rosea* (flores) e de *Piper nigrum* (sementes), foi observada atividade hipoglicemiante dos extratos em ratos diabéticos, além de aumentarem os níveis de enzimas antioxidantes como catalase e glutathione peroxidase (KALEEM; SHEEMA; BANO, 2005). A planta *Eugenia jambolana* é bastante estudada quanto ao seu efeito hipoglicemiante, gastroprotetivo e antioxidante (CHATURVEDI et al., 2007; SHARMA; HASIR; PRABHU, 2008). Preparações de extrato etanólico de sementes de *E. jambolana* administradas em ratos diabéticos foram capazes de reduzir o estresse oxidativo responsável por danos celulares, o que pode explicar seu efeito hipoglicêmico (RAVI; RAMACHANDRAN; SUBRAMANIAN, 2004). Todos esses efeitos farmacológicos associados ao controle da glicemia são decorrentes de biomoléculas ativas presentes nas plantas.

Diversas biomoléculas originadas do metabolismo primário e secundário das plantas têm sido isoladas para estudos e aplicações, tendo em vista as suas ações fisiológicas no organismo humano, podendo ser usadas para o desenvolvimento de medicamentos mais efetivos (SASIDHARAN et al., 2011). Alguns autores atribuíram os efeitos antidiabéticos das plantas, devido principalmente à presença de derivados de flavonoides como a kaempferitrina (JORGE et al., 2004, SOUSA et al. 2004), quercetina (ALADE et al., 2012), saponinas e outros glicosídeos (RAVI; RAMACHANDRAN; SUBRAMANIAN, 2004). Outra classe de metabólitos são as proteínas, que estão entre as macromoléculas biológicas mais abundantes,

sendo extremamente versáteis em suas funções. Elas participam das atividades celulares tanto como enzimas como inibidores enzimáticos, hormônios, transportadores, reserva, estruturais e regulatórias. Entre essas proteínas com efeitos biológicos e bastante estudadas, encontram-se as lectinas, classe de proteínas que se ligam de forma específica e reversível a carboidratos, e devido a essa característica podem desempenhar diversos efeitos biológicos (KUMAR, et al. 2012; ROCHA, et al., 2013).

2.3. Lectinas

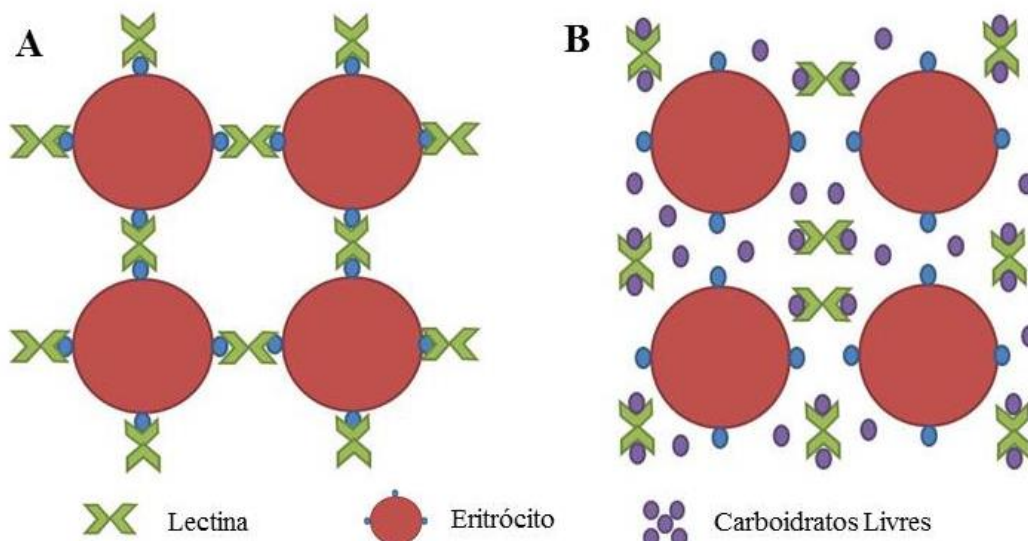
Os primeiros estudos relacionados à atividade das lectinas começaram a ser realizados desde a descoberta da primeira lectina, detectada em extratos da mamona (*Ricinus communis*) por Stillmark, em 1888; ao estudar a toxicidade da planta, o pesquisador notou a capacidade de aglutinação de eritrócitos devido à presença de uma proteína extraída, denominada ricina (SHARON; LIS, 1987).

Lectinas são consideradas uma classe de proteínas de origem não imunológica, que possuem sítios específicos de reconhecimento a carboidratos ou glicoconjugados, através dos quais podem realizar ligações específicas e reversíveis com os mesmos. Seu caráter não imunológico é devido à capacidade básica de promoverem ligação de forma análoga a um anticorpo, porém lectinas não são derivadas do sistema imunológico e, inclusive, são encontradas em organismos como plantas e bactérias que não possuem sistema imune (GOLDSTEIN et al., 1980; PEUMANS; VAN DAMME, 1995; KOMATH; KAVITHA; SWAMY, 2006). A habilidade de reconhecimento de glicoconjugados em superfícies celulares é explorada através dos ensaios de atividade hemaglutinante e de inibição de atividade hemaglutinante (em presença de carboidratos livres), amplamente utilizados para detecção, confirmação e caracterização de lectinas em preparações (Figura 1).

As lectinas encontram-se distribuídas de forma heterogênea entre organismos, como em bactérias (YAMAGUCHI et al., 1999; SATO et al., 2012) e fungos (NAGRE et al., 2010; SINGH et al., 2010; FRANCIS et al., 2011; ERJAVEC et al., 2012). Nos animais, as lectinas podem ser encontradas em diversos filos, podendo ser detectadas em fluidos como hemolinfa e em líquidos celômicos. Dentre as lectinas isoladas de invertebrados, encontram-se as de moluscos (BULGAKOV et al., 2004), crustáceos (COMINETTI et al., 2002; YANG et al., 2007; SUN et al., 2008), insetos (CHEN; RATCLIFFE; ROWLEY, 1993) entre outros. Em vertebrados, já foram isoladas de peixes (PAN; TANG; GU, 2010), bovinos (ASHRAF et al.,

2010), caprino (ASHRAF et al., 2011) entre outros animais. Porém, as lectinas vegetais são as mais amplamente isoladas e estudadas até o momento.

Figura 1: Representação esquemática (A) da rede de aglutinação de eritrócitos promovida pela ligação cruzada de uma lectina a carboidratos de superfície e (B) da inibição da atividade hemaglutinante promovida pela presença de carboidratos livres.



Fonte: Autoria própria (2018)

Lectinas vegetais são consideradas todas as proteínas que possuem pelo menos um domínio não catalítico, que se liga reversivelmente a um mono ou oligossacarídeo específico (PEUMANS; VAN DAMME, 1995). Considerando essa definição de lectinas vegetais, foi estabelecida a seguinte classificação de acordo com seus domínios de ligação a carboidratos: Merolectinas possuem apenas um domínio de reconhecimento a carboidratos; Hololectinas possuem pelo menos dois domínios de reconhecimento a carboidratos, podendo ser idênticos ou apresentar alto grau de homologia (classe mais comum de lectinas); Superlectinas apresentam ao menos dois domínios distintos de reconhecimento a carboidratos; Quimerolectinas possuem, além de ao menos um domínio ligante a carboidrato, outro domínio com outra atividade biológica (PEUMANS; VAN DAMME, 1998).

Diversas lectinas vegetais já foram bem caracterizadas e estudadas quanto aos seus efeitos biológicos, como atividade antioxidante (CUNHA et al., 2010), anti-inflamatória e antinociceptiva (CAMPOS et al., 2016), imunomoduladora (KABIR, 1998; GAVROVIC-JANKULOVIC et al., 2008), antitumoral (GHOSH; MAITI, 2007), inseticida (MACEDO et al., 2007; SILVA et al., 2009) entre outras atividades.

Atividades hipoglicemiantes já foram relatadas para lectinas extraídas de frutos de *Trichosanthes kirilowi* (LI et al., 2012), cascas de *Crataeva tapia* (ROCHA et al., 2013), sementes de *Urtica pilulifera* (KAVALALI et al., 2003). Seus mecanismos de ação correspondem ao aumento da secreção de insulina por meio das células β das ilhotas pancreáticas, ou ao mimetismo da ação da insulina pela interação com os resíduos de carboidratos de glicoproteínas dos receptores de insulina, ou ainda, à interferência na absorção da glicose através da inibição de amilases no intestino (KAVALALI et al., 2003; LI et al., 2012).

Um gênero de plantas bastante estudadas no mundo quanto ao seu efeito hipoglicemiante é o gênero *Bauhinia*, cujas espécies já são utilizadas na medicina popular para o tratamento do diabetes (NOGUEIRA; SABINO, 2013).

2.4. Gênero *Bauhinia* e a espécie *Bauhinia monandra*

Plantas são utilizadas desde a antiguidade para tratar as mais variadas doenças devido à presença de biomoléculas ativas e suas propriedades farmacológicas variadas, como antiinflamatórias, antitumorais, antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas, hipoglicemiantes, entre outras (COWAN, 1999; ARGOLO et al., 2004; LIGRESTI et al., 2006; BUSNARDO et al., 2010; KUMAR et al., 2012; GREENWELL; RAHMAN, 2015; CAMPOS et al., 2016).

O gênero *Bauhinia* é um dos gêneros de plantas mais representativos em estudos que avaliam as atividades biológicas de vegetais. *Bauhinia* é um gênero da família Fabaceae, composto por aproximadamente 300 espécies. São plantas arbustivas, apresentando folhas bilobadas e arredondadas, o que é considerada uma característica marcante das espécies desse gênero (SINOUE et al., 2009).

Entre as espécies do gênero *Bauhinia* com propriedades farmacológicas variadas já relatadas, podem ser citadas a *B. purpurea* com atividade antifúngica (BOONPHONG et al., 2007), *B. purpurea* e *B. variegata* com ação antiinflamatória (YADAVA; REDDY, 2003; BOONPHONG et al., 2007; ZAKARIA et al., 2007), *B. holophylla* e *B. purpurea* com ação antiulcerogênica (ZAKARIA et al., 2011; ROZZA et al., 2015), *B. racemosa* e *B. variegata* com ação antitumoral (RAJKAPOOR; JAYAKAR; MURUGESH, 2003; GUPTA et al., 2004), *B. racemosa*, *B. purpurea*, *B. microstachya* e *B. splendens* com ação analgésica (WILLAIN FILHO et al., 1997; GADOTTI et al., 2005; GUPTA et al., 2005; SHREEDHARA et al., 2009) e *B. purpurea* com habilidade de estimular a função tireoidiana

(PANDA; KAR, 1999). Extratos aquosos e etanólico, obtidos a partir de folhas secas de *Bauhinia monandra*, quando administrados em ratas grávidas não causaram toxicidade materna ou fetal e o extrato aquoso promoveu aumento da implantação e diminuição da perda pós-implantação nas ratas grávidas (MENDES et al., 2010).

A ação hipoglicemiante das espécies do gênero *Bauhinia* foi observada em estudos realizados com extratos de *B. monandra*, *B. holophylla*, *B. forficata*, *B. cheilandra*, *B. candicans*, *B. thoningii*, *B. retusa*, *B. megalandra* e *B. variegata* (FUENTES; ARANCIBIA-AVILA; ALARCON, 2004; ESTRADA et al., 2005; ALMEIDA et al., 2006; MENEZES et al., 2007; CUNHA et al., 2010; OJEZELE; ABATAN, 2011; KULKARNI; GARUD, 2016; PINHEIRO et al., 2017). Menezes et al. (2007) observaram que extratos aquosos de folhas da *B. monandra*, quando administrados em ratos diabéticos, apresentaram capacidade hipoglicemiante, e atribuíram esse efeito à presença de flavonoides. Porém, a ação de outras biomoléculas, como as lectinas, não é descartada.

A espécie *B. monandra* (Figura 2) está incluída no Reino Plantae, Divisão Magnoliophyta, Classe Magnoliopsida, Ordem Fabales, Família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae, Tribo Cercideae, Gênero *Bauhinia*. *B. monandra* é conhecida popularmente por “Pata-de-vaca, Unha-de-vaca e Orquídea-dos-pobres”. Infusões feitas principalmente com suas folhas são bastante utilizadas na medicina popular para o tratamento do diabetes, como antioxidantes e como diuréticas (ARGOLO et al., 2004). Talvez o conhecimento empírico tenha instigado pesquisadores a avaliar seu efeito hipoglicêmico (MENEZES et al., 2007).

Figura 2: *Bauhinia monandra* (folhas, flores e vagens).



Fonte: Silva (2008).

2.5. Lectina de Folhas de *Bauhinia monandra*: BmoLL

A lectina da folha de *Bauhinia monandra*, denominada BmoLL, foi isolada por Coelho e Silva (2000) em quantidade de miligramas (400 mg/Kg) e caracterizada como uma lectina galactose específica, constituída de duas bandas polipeptídicas reveladas por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo sulfato sódico de dodecila (SDS-PAGE), uma banda principal de 33 kDa, glicosilada, e uma outra banda de 26 kDa, não glicosilada. A BmoLL apresenta afinidade por eritrócitos de coelho tratados com glutaraldeído e eritrócitos humanos do sistema ABO, apresentando atividade hemaglutinante apenas com os tipos B e AB. Tais características de especificidade a carboidratos e de habilidade para reconhecimento de superfícies celulares fazem da BmoLL e de outras lectinas ferramentas moleculares com grande potencial biotecnológico (CAGLIARI; KREMER; PINTO, 2018).

Rodrigues et al. (2003) observaram que a BmoLL conseguiu ser incorporada e também adsorvida na superfície de nanopartículas, mostrando ser ferramenta potencial em medicamentos de administração oral, com liberação controlada. O comportamento interfacial de BmoLL e sua habilidade de interagir com monocamadas de lipídios foi estudado por medidas de tensão superficial (ROSILIO et al., 2004). Outros estudos com a BmoLL demonstraram ação inseticida (MACEDO et al., 2007), que a mesma não possui efeito genotóxico e citotóxico e, além disso, possui atividade antioxidante (SISENANDO et al., 2009). Um biossensor sensível e seletivo para a serotipagem do vírus da dengue foi desenvolvido com sucesso, utilizando a BmoLL (ANDRADE et al., 2011). A BmoLL foi capaz de aglutinar uma estirpe ativa de *P. aeruginosa* isolada de folhas de *B. monandra*, podendo exercer uma defesa em plantas contra o ataque de fitopatógenos (RAMOS et al., 2016). Araújo (2015) e Campos et al. (2016) verificaram ainda efeito anti-inflamatório e antinociceptivo da BmoLL em ratos. Portanto, BmoLL é uma lectina promissora do ponto de vista médico/farmacológico.

Diante de toda a importância e problemática do diabetes afetando a população mundial, é urgente a descoberta de novos fármacos de origem natural que consigam reverter o índice glicêmico a níveis normais, sem causar efeitos adversos. Desse modo, as lectinas – tal como a BmoLL – por apresentarem tantas propriedades biológicas, são moléculas com grande potencial para uso no tratamento dessa e de outras desordens metabólicas. O gênero *Bauhinia*, bastante explorado quanto seu efeito hipoglicemiante pela medicina popular e também pela pesquisa científica, é uma importante fonte de exploração de bioativos, como as lectinas, visando o desenvolvimento de novos fármacos naturais para tratar o diabetes. Nesse sentido, a

espécie *B. monandra* já demonstrou efeito hipoglicemiante através de extratos; porém, ainda não se tem estudos avaliando a lectina isolada de suas folhas (BmoLL) quanto ao potencial hipoglicêmico em diabetes mellitus tipo 2. Considerando que a BmoLL é purificada em quantidade de miligramas e que outras lectinas já estudadas apresentam atividade hipoglicemiante, a BmoLL pode ser o agente ou um dos agentes ativos nas folhas da *B. monandra*, responsáveis por esse efeito.

3. OBJETIVOS DA PESQUISA

3.1. Objetivo geral

Avaliar a atividade hipoglicemiante da lectina da folha de *Bauhinia monandra* (BmoLL) em ratos Wistas machos com diabetes tipo 2.

3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar as preparações proteicas obtidas a partir das folhas de *B. monandra*;
- Caracterizar as preparações proteicas quanto ao teor proteico;
- Caracterizar o perfil eletroforético da BmoLL para confirmar o isolamento;
- Avaliar a atividade hipoglicemiante da BmoLL em ratos com diabetes mellitus tipo 2.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Autorização do comitê de ética

O estudo foi conduzido a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN) sobre o número (CEUA, Nº ref. 005/17).

4.2. Obtenção do extrato e da fração proteica

Foi realizada a coleta da *B. monandra* para identificação botânica e arquivada com o número de prova 57462, IPA, no Herbário Dárdano de Andrade Lima (Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, Recife, Brasil). Em seguida, as folhas foram coletadas no campus central da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, limpas, desidratadas em temperatura ambiente e trituradas para a produção de uma farinha. A farinha foi submetida à extração (10 %, p/v) em tampão citrato-fosfato 0,01 M, pH 6,5, preparado em NaCl 0,15 M, por 16h a 4 °C; em seguida, o material foi filtrado em gaze e centrifugado a 12000 g, por 15 min a 4 °C. O extrato bruto obtido (EB) foi submetido ao fracionamento proteico com sulfato de amônio a 60 % de saturação, por 4h em temperatura ambiente, seguido de centrifugação (8000 rpm, 4 °C, 20 min). O precipitado foi ressuspensionado em tampão e dialisado contra água destilada durante 2 horas com troca a cada hora, em seguida contra o tampão de extração por mais 2 horas e troca a cada hora (COELHO; SILVA, 2000), sendo denominado fração proteica F60.

4.3. Determinação da atividade hemaglutinante

A atividade hemaglutinante (AH) das amostras proteicas foi determinada em placas de microtitulação, por meio de diluições seriadas em NaCl 0,15 M. A cada diluição, foi adicionado igual volume de uma suspensão a 2,5 % em NaCl 0,15 M de eritrócitos glutarizados de coelho ou do sistema ABO (CORREIA; COELHO, 1995). As placas foram deixadas em repouso a 25 °C, por 45 minutos; após repouso, os títulos de AH foram determinados macroscopicamente, verificando a maior diluição apresentando total hemaglutinação.

4.4. Determinação do teor proteico solúvel

O teor de proteínas solúveis presentes nas amostras obtidas foi determinado segundo o método descrito por Lowry et al. (1951), utilizando uma curva padrão de albumina sérica bovina.

4.5. Cromatografia de afinidade

F60 foi submetida a cromatografia de afinidade utilizando gel de guar, de acordo com o protocolo de isolamento pré-estabelecido (COELHO; SILVA, 2000), em que a lectina, BmoLL, foi adsorvida ao gel e, em seguida, recuperada por eluição com tampão citrato-fosfato contendo 0,05 M de galactose. O *pool* cromatográfico foi dialisado para a retirada da galactose e obtenção da BmoLL pura.

4.6. Eletroforese em gel de poliacrilamida

O gel de concentração foi preparado na concentração de 3,5 % de poliacrilamida em tampão Tris-HCl 0,5 M, pH 6,8, contendo SDS a 1 %. O gel de corrida foi preparado a uma concentração de 12 % de poliacrilamida em tampão Tris-HCl 3 M, pH 8,8, contendo SDS a 1 %. As amostras proteicas previamente quantificadas e liofilizadas foram solubilizadas em tampão Tris-HCl 0,625 M, pH 6,7, contendo SDS a 2 %, glicerol a 10 % e β - mercaptoetanol a 5 %. Foi adicionado 10 μ L de azul de bromofenol a 0,02 % para aplicação das amostras no gel de concentração. A corrida eletroforética foi realizada sob amperagem constante (25 mA). Após corrida eletroforética em temperatura ambiente, as bandas proteicas formadas foram detectadas com coloração utilizando solução de Azul de Coomassie, seguida de descoloração por lavagens sucessivas com ácido acético a 10 % (v/v).

4.7. Ensaios biológicos

Ratos Wistar machos com aproximadamente dois dias de vida, obtidos do biotério Central da UERN, permaneceram sob condições controladas de foto-período de 12 h e temperatura (22 ± 2 °C), com ração e água *ad libitum*. No quinto dia após o nascimento dos animais, o diabetes tipo 2 foi induzido pela administração intraperitoneal (IP) de

estreptozotocina (STZ) (100 mg/kg de massa corporal) diluída em tampão citrato (10 mmol/L, pH 4,5) (ASHOKKUMAR; PARI, 2005). Após 10 semanas, a instalação do diabetes tipo 2 foi confirmada, através do teste de tolerância à glicose intraperitoneal (IGTT), utilizando-se 2 g/kg de glicose IP, seguida de medida da glicemia - por punção da cauda do rato e retirada de sangue suficiente para exame com fita em aparelho de glicemia capilar MediSense Optium (Abbott Diabetes Care Inc Alameda – CA) - nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos. Animais com elevação da glicemia após glicose IP, e manutenção de níveis maiores ou iguais a 200 mg/dL após 120 minutos foram considerados diabéticos (DM). Em outros animais (para estabelecimento do grupo controle) no lugar da STZ foi administrado apenas tampão citrato, pH 4,5, por via IP, e os animais também foram submetidos ao IGTT, após 10 semanas. Após o IGTT descrito acima, os animais diabéticos foram divididos em 3 grupos, aleatoriamente, contendo seis ratos cada (n=6). Os animais que receberam apenas tampão citrato, sem STZ, formaram o grupo controle. Os 4 grupos de animais foram submetidos, por 20 dias, à ingestão por via oral (gavagem) de diferentes soluções: grupo I – controle, animais normoglicêmicos (ingestão diária de tampão citrato-fosfato 0,01 M, em NaCl 0,15 M, pH 6,5), grupo II - DM sem tratamento (ingestão diária de tampão), grupo III – DM tratados com BmoLL (ingestão de 2 mg/Kg/dia), grupo IV – DM tratados com Glibenclamida (ingestão de 0,071 mg/Kg/dia). A cada 5 dias durante o experimento, foi avaliado o nível glicêmico de cada animal, por punção da cauda dos ratos e retirada de sangue suficiente para exame com fita em aparelho de glicemia capilar MediSense Optium (Abbott Diabetes Care Inc, Alameda – CA. Após 20 dias de ingestão das soluções (tratamentos) e acompanhamento, os animais foram eutanasiados, de acordo com o código de ética de utilização de animais para pesquisa, por sedação com cetamina (95 mg/Kg) + xilazina (10 mg/Kg) IP seguida de deslocamento cervical.

4.8. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por análise de variância tow-way (ANOVA) com *post hoc* de comparação múltipla de Tukey. Os resultados foram expressos, considerando o nível de significância de 5 %.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A F60 obtida a partir do EB apresentou títulos de AH com eritrócitos glutarizados humano tipo AB (AH: 32^{-1}) e com eritrócitos glutarizados de coelho (AH: 2.048^{-1}), sendo detectada a presença lectínica na preparação. A F60 revelou também uma elevada concentração proteica de 137,78 mg/mL. A cromatografia da F60 em gel de Guar resultou na obtenção de um *pool* proteico que, após diálise, exibiu título de AH com eritrócitos glutarizados de coelho (AH: 2.048^{-1}), bem como concentração proteica de 0,52 mg/mL, confirmando a obtenção de BmoLL biologicamente ativa.

A eletroforese (SDS-PAGE) resolveu o *pool* cromatográfico dialisado, revelando duas bandas proteicas, equivalentes as duas subunidades da BmoLL, as quais são descritas na literatura como uma banda principal de 33 kDa e outra banda de 26 kDa (COELHO; SILVA, 2000). Assim, o perfil eletroforético confirmou o isolamento cromatográfico da BmoLL, uma lectina com afinidade à galactose.

O desenvolvimento do diabetes tipo 2 em ratos, induzido por STZ, foi confirmado pelo IGTT; ratos não tratados com STZ foram confirmados, pelo IGTT, como normoglicêmicos.

BmoLL, a 2 mg/Kg/dia, apresentou atividade hipoglicemiante significativa em ratos com diabetes tipo 2 (Tabela 1), reduzindo os níveis séricos de glicose nos ratos em 63,5 % enquanto a Glibenclamida reduziu em 40,25 % quando comparada a diferença entre os níveis glicêmicos no início do experimento em relação ao ultimo dia. O grupo DM tratado com BmoLL apresentou nível glicêmico próximo ao apresentado pelo grupo DM tratado com a Glibenclamida no 20º dia ($106,7 \text{ mg/dL} \pm 4,7$ e $95 \text{ mg/dL} \pm 5,6$, respectivamente). O grupo DM sem tratamento apresentou nível glicêmico superior a 400 mg/dL no 20º dia, confirmando o agravamento do DM devido ausência de tratamento farmacológico (Tabela 1).

Quando comparado o efeito tempo-resposta promovido nos grupos experimentais, notou-se que os níveis glicêmicos do grupo DM tratado com Glibenclamida foram estabilizados a partir do 5º dia, enquanto o grupo DM tratado com BmoLL estabilizou seus níveis de glicemia a partir do 10º dia (Tabela 1).

Tabela 1: Glicemia de ratos com diabetes mellitus tipo 2 (induzido por estreptozotocina), submetidos a diferentes tratamentos durante 20 dias.

Dias	Tratamentos			
	Controle	DM + BmoLL	DM + GLB	DM + Tampão
0	127,5±4,6Db	291,8±6,7Bc	159±4,7Cb	332,8±5,8Ac
5	84,83±5,6Da	139,2±4,6Bb	103±5,1Ca	351,2±3,8Ab
10	84,5±5,0Da	115,7±4,6Ba	104,5±4,9Ca	409,3±4,2Aa
15	83,5±5,2Da	111,5±5,2Ba	95±5,6Ca	409,7±5,2Aa
20	84,67±4,0Ca	106,7±4,7Ba	95±5,6Ca	411,8±4,4Aa

Controle: animais normoglicêmicos, submetidos à ingestão diária de tampão citrato-fosfato 0,01 M; DM + BmoLL; DM + GLB; DM + tampão. O dia zero indica a glicemia de jejum (média de cada grupo) no início do experimento. Os valores foram expressos como média ± desvio padrão. As variáveis foram analisadas sob two-way ANOVA com *post hoc* de Tukey. As letras maiúsculas indicam diferenças entre os tratamentos no mesmo dia (linha) e as letras minúsculas indicam diferenças no mesmo tratamento em dias diferentes (coluna), considerando nível de significância de 5 %.

O grupo DM tratado com a Glibenclamida teve os níveis glicêmicos controlados, devido à ação deste fármaco de sulfonilureia que atua estimulando o aumento da secreção de insulina, a partir do estímulo às células β das ilhotas pancreáticas (KOSKI, 2006). A Glibenclamida estimula a secreção do hormônio insulina através do fechamento direto dos canais K_{ATP} , criando um influxo de Ca^{+} e secreção de insulina. Este fármaco é utilizado há quase 60 anos para tratar o diabetes tipo 2 (ASHCROFT; RORSMAN, 2012).

Os níveis elevados de glicose sanguínea no grupo DM sem tratamento foram devido à ação da STZ, considerado um glicosídeo nitrosoureia natural, isolado da bactéria *Streptomyces achromogenes*. A STZ atua estimulando a produção de radicais livres, que leva à destruição parcial ou permanente das células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas. Este xenobiótico tem sido usado para induzir o diabetes; porém, também é considerado um agente quimioterápico, utilizado no tratamento de tumores carcinoides e endócrinos do pâncreas. Uma única dose administrada em ratos pode produzir um modelo experimental do diabetes tipo I ou tipo II (MARLES, FARNSWORTH, 1995; LENZEN, 2008).

Alguns estudos já apontaram efeitos hipoglicemiantes associados a proteínas de origem vegetal (KHANNA et al. 1981; VENANCIO et al. 2003) e lectinas vegetais têm demonstrado efeito hipoglicemiante *in vivo*. Li et al. (2012) verificaram o efeito de uma lectina extraída de *Trichosanthes kirilowi* na redução da glicemia em camundongos diabéticos induzidos por aloxana. Kavalali et al. (2003) administraram em animais, por 30 dias, uma

lectina isolada de sementes de *Urtica pilulifera*, causando redução de 28 % da glicemia. Paula et al. (2017) relataram que uma lectina extraída das folhas de *Moringa oleifera* (denominada de Mo-LPI) foi avaliada em dose única de 500 mg/kg, por via IP, em ratos com diabetes induzido por aloxana, promovendo redução da glicemia de 34,3 %, 60,9 % e 66,4 %, após 1, 3 e 5 horas, respectivamente.

Em um estudo recente avaliando as atividades biológicas da BmoLL, Araujo (2015) observou o efeito hipoglicemiante desta lectina em uma linhagem de camundongos NOD (*non-obese diabetic*) como modelo do diabetes tipo 1, por administração IP de BmoLL durante 21 dias (60 mg/Kg/dia). BmoLL reduziu em 55,3% a glicemia, além de reduzir os níveis de triglicerídeos e VLDL-colesterol e não apresentar toxicidade para os camundongos, uma vez que não induziu a morte nem a perda de peso na dose de 2000 mg/kg.

Devido à capacidade das lectinas reconhecerem e ligarem especificamente e de forma reversível a carboidratos e a moléculas glicoconjugadas (GOLDSTEIN et al., 1980), essas biomoléculas podem desenvolver diversos efeitos biológicos. Em um outro estudo com BmoLL, Rosilio et al. (2004), levando em consideração o potencial hipoglicemiante desta lectina, estudou a interação da mesma com monocamadas lipídicas a fim de desenvolver sistemas de lipossomas para proteção e entrega da lectina no organismo.

Os mecanismos de ação de moléculas vegetais, entre essas as lectinas, no controle da glicemia podem envolver o efeito inibitório de enzimas, como α -amilase salivar e glicosidases pancreáticas, hepáticas e intestinais, reduzindo a disponibilidade de glicose no organismo pela dificuldade de absorção de carboidratos complexos (SINGH; MARAR, 2011). Shirwaikar et al. (2004), ao estudar o efeito do extrato aquoso de folhas de *Annona squamosa*, levantou a hipótese de que o efeito hipoglicemiante está associado a potencialização do efeito da insulina no plasma, aumentando a secreção pancreática da mesma pelas células β existentes, ou ainda por sua liberação da forma ligada. O mesmo também foi relatado por Kavalali et al. (2003) ao analisar a lectina extraída de sementes de *U. pilulifera*, denominada UPSL (*U. pilulifera* seed lectin), e por Stanely et al. (2000) ao avaliar o extrato aquoso de raízes de *Tinospora cordifolia*. Ojezele e Abatan (2011) apontaram que o efeito hipoglicêmico de um extrato de folhas de *Bauhinia thoningii* pode estar relacionado à inibição da absorção de glicose no nível do trato digestivo, à estimulação da glicólise e à inibição da gliconeogênese. Foi sugerido também que as lectinas vegetais, além de seus efeitos variáveis, podem atuar no controle da glicemia mimetizando a insulina no organismo, através de interações com os resíduos glicoproteicos do receptor da insulina (PURELLO et al., 1983).

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, BmoLL promove a regulação *in vivo* dos níveis de glicose no sangue, sendo mais efetiva que o fármaco comercial em termos de percentual de redução, na dose avaliada. Por isso, é uma biomolécula bastante promissora quanto ao futuro desenvolvimento de fármaco natural para o controle do diabetes tipo 2. Considerando os mecanismos já propostos em literatura para biomoléculas vegetais, o efeito hipoglicemiante da BmoLL pode estar associado a sua habilidade de se ligar a carboidratos ou glicoconjugados de superfícies celulares, a enzimas, de potencialmente mimetizar a ação da insulina ou estimular a sua produção e liberação. Buscando esclarecer seu mecanismo de ação hipoglicêmica bem como seu potencial protetivo contra danos associados ao diabetes, outras investigações estão andamento.

6. CONCLUSÕES

O protocolo de isolamento pré-estabelecido permitiu a obtenção com sucesso da BmoLL purificada.

BmoLL revelou atividade hemaglutinante frente a eritrócitos glutarizados humanos, e eritrócitos glutarizados de coelho, bem como teor proteico, confirmando a manutenção da sua atividade biológica, após o processo de isolamento.

O perfil eletroforético revelado foi equivalente ao já descrito em literatura para BmoLL, confirmando que o isolamento lectínico proposto foi alcançado.

BmoLL a 2 mg/kg/dia foi capaz de reduzir os níveis séricos de glicose em ratos com diabetes tipo 2 em 63,5 % e à Glibenclamida em 40,25%, estudos complementares estão em desenvolvimento para avaliar se BmoLL atua sobre outros parâmetros bioquímicos e fisiológicos.

REFERÊNCIAS

- AKHTAR, M.; NAEEM, F.; MUHAMMAD, F.; BHATTY, N. Effect of *Butea monosperma* (Lamk.)Taub. (Palas papra) fruit on blood glucose and lipid profiles of normal and diabetic human volunteer. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 4, p. 539-544, 2010.
- ALADE, G. O.; ADEBAJO, A. C.; OMOBUWAJO, O. R.; PROKSCH, P.; VERSPOHL, E. J. Quercetin, a minor constituent of the antihyperglycemic fraction of *Bauhinia monandra* leaf. **Journal of Diabetes**, v. 4, n. 4, p. 439-441, 2012.
- ALMEIDA, E. R.; GUEDES, M. C.; ALBUQUERQUE, J. F.; XAVIER, H. Hypoglycemic effect of *Bauhinia cheilandra* in rats. **Fitoterapia**, v. 77, n. 4, p. 276-278, 2006.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 37, n. Supplement 1, p. 81-90, 2014.
- ANDERSON, J. W.; KENDALL, C. W. C.; JENKINS, D. J. A. Importance of Weight Management in Type 2 Diabetes: Review with Meta-analysis of Clinical Studies. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 22, n. 5, p. 331-339, 2003.
- ANDRADE, C. A.; OLIVEIRA, M. D.; DE MELO, C. P.; COELHO, L. C.; CORREIA, M. T.; NOGUEIRA, M. L.; SINGH, P. R.; ZENG, X. Diagnosis of dengue infection using a modified gold electrode with hybrid organic–inorganic nanocomposite and *Bauhinia monandra* lectin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 362, n. 2, p. 517-523, 2011.
- ANSTEE, Q. M.; TARGHER, G.; DAY, C. P. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 10, n. 6, p. 330-344, 2013.
- ARAUJO, C. S. F. **Avaliação de atividades biológicas de lectina de folhas de *Bauhinia monandra* (BmoLL)**. 2015. 114 p. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/18050>>. Acesso em 12 jul. 2018.
- ARGOLO, A. C.; SANT'ANA, A. E.; PLETSCHE, M.; COELHO, L. C. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 2, p. 229-233, 2004.
- ASHCROFT, F. M.; RORSMAN, P. Diabetes Mellitus and the β Cell: The Last Ten Years. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1160-1171, 2012.
- ASHOKKUMAR, N.; PARI, L. Effect of N-benzoyl-d-phenylalanine and metformin on carbohydrate metabolic enzymes in neonatal streptozotocin diabetic rats. **Clinica Chimica Acta**, v. 351, n. 1-2, p. 105-113, 2005.
- ASHRAF, G. M.; BANU, N.; AHMAD, A.; SINGH, L. P.; KUMAR, R. Purification, Characterization, Sequencing and Biological Chemistry of Galectin-1 Purified from *Capra hircus* (goat) Heart. **The Protein Journal**, v. 30, n. 1, p. 39-51, 2011.

ASHRAF, G. M.; RIZVI, S.; NAQVI, S.; SUHAIL, N.; BILAL, N.; HASAN, S.; TABISH, M.; BANU, N. Purification, characterization, structural analysis and protein chemistry of a buffalo heart galectin-1. **Amino Acids**, v. 39, n. 5, p. 1321-1332, 2010.

ATKINSON, M. A.; EISENBARTH, G. S.; MICHELS, A. W. Type 1 diabetes. **The Lancet**, v. 383, n. 9911, p. 69-82, 2014.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P.; IGNACIMUTHU, S. *Syzygium cumini* (L.) Skeels., a novel therapeutic agent for diabetes: Folk medicinal and pharmacological evidences. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 21, n. 3, p. 232-243, 2013.

BALOGUN, A. M.; FETUGA, B. L. Fatty acid composition of seed oils of some members of the leguminosae family. **Food Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 175-182, 1985.

BLONDE, L. Current Antihyperglycemic Treatment Guidelines and Algorithms for Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. **The American Journal of Medicine**, v. 123, n. 3, p. 12-18, 2010.

BOLEN, S.; FELDMAN, L.; VASSY, J.; WILSON, L.; YEH, H. C.; MARINOPOULOS, S.; WILEY, C.; SELVIN, E.; WILSON, R.; BASS, E. B.; BRANCATI, F. L. Systematic review: Comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. **Annals of Internal Medicine**, v. 147, n. 6, p. 386-399, 2007.

BOONPHONG, S.; PUANGSOMBAT, P.; BARAMEE, A.; MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S.; KITTA KOOP, P. Bioactive compounds from *Bauhinia purpurea* possessing antimalarial, antimycobacterial, antifungal, anti-inflammatory, and cytotoxic activities. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 5, p. 795-801, 2007.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v. 161, n. 5, p. 839-851, 2001.
BUCHANAN, T. A.; XIANG, A. H. Gestational diabetes mellitus. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 3, p. 485-491, 2005.

BULGAKOV, A. A.; PARK, K. I.; CHOI, K. S.; LIM, H. K.; CHO, M. Purification and characterisation of a lectin isolated from the *Manila clam* *Ruditapes philippinarum* in Korea. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 16, n. 4, p. 487-499, 2004.

BUSNARDO, T. C.; PADOANI, C.; MORA, T. C.; BIAVATTI, M. W.; FRÖDE, T. S.; BÜRGER, C.; CLAUDINO, V. D.; DALMARCO, E. M.; DE SOUZA, M. M. Antiinflammatory evaluation of *Coronopus didymus* in the pleurisy and paw oedema models in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 2, p. 519-525, 2010.

CAGLIARI, R.; KREMER, F. S.; PINTO, L. D. S. *Bauhinia* lectins: Biochemical properties and biotechnological applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 811-820, 2018.

CAMPOSA, J. K. L.; ARAÚJO, C. S. F.; ARAÚJO, T. F. S.; SANTOS, A. F. S.; TEIXEIRAB, J. A.; LIMA, V. L. M.; COELHO, L. C. B. B. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Bauhinia monandra* leaf lectin. **Biochimie Open**, v. 2, p. 62-68, 2016.

CARIBÉ, J; CAMPOS, J. M. **Plantas que ajudam o homem: guia prático para a época atual**. Cultrix, ed. 7, p. 321, 1991.

CHATURVEDI, A.; KUMAR, M. M.; BHAWANI, G.; CHATURVEDI, H.; KUMAR, M. GOEL, R. K. Effect of ethanolic extract of *Eugenia jambolana* seeds on gastric ulceration and secretion in rats. **Indian of Journal Physiology Pharmacology**, v. 51, n. 2, p. 131-140, 2007.

CHEN, C.; RATCLIFFE, N. A.; ROWLEY, A. F. Detection, isolation and characterization of multiple lectins from the haemolymph of the cockroach *Blaberus discoidalis*. **Biochemical Journal**, v. 294, n. 1, p. 181-190, 1993.

COELHO, L. C. B. B.; SILVA, M. B. R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemical Analysis**, v. 11, n. 5, p. 295-300, 2000.

COMINETTI, M. R.; MARQUES, M. R. F.; LORENZINI, D. M. LÖFGREN, S. E.; DAFFRE, S; BARRACCO, M. A. Characterization and partial purification of a lectin from the hemolymph of the white shrimp *Litopenaeus schmitti*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 26, n. 8, p. 715-721, 2002.

CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* mart. (Camaratu Bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 55, n. 3, p. 261-273, 1995.

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CUNHA, A. M.; MENON, S.; MENON, R.; COUTO, A. G.; BÜRGER, C.; BIAVATTI, M. W. Hypoglycemic activity of dried extracts of *Bauhinia forficata* Link. **Phytomedicine**, v. 17, n. 1, p. 37-41, 2010.

DAVIDSON, M. A.; MATTISON, D. R.; AZOULAY, L.; KREWSKI, D. Thiazolidinedione drugs in the treatment of type 2 diabetes mellitus: past, present and future. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 52-108, 2018.

DUNCAN, B. B.; SCHMIDT, M. I.; EWERTON, C.; MORADI-LAKEH, M.; PASSOS, V. M. A.; FRANÇA, E. B.; MARINHO, F. MOKDAD, A. H. The burden of diabetes and hyperglycemia in Brazil-past and present: findings from the Global Burden of Disease Study 2015. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 9, n. 18, p. 1-12, 2017.

ERJAVEC, J.; KOS, J.; RAVNIKAR, M.; DREO, T.; SABOTIČ, J. Proteins of higher fungi from forest to application. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 259-273, 2012.

ESTRADA, O.; HASEGAWA, M.; GONZALEZ-MUJÍCA, F.; MOTTA, N.; PERDOMO, E; SOLORZANO, A.; MÉNDEZ, J.; MÉNDEZ, B.; ZEA, E. G. Evaluation of flavonoids from *Bauhinia megalandra* leaves as inhibitors of glucose-6-phosphatase system. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 10, p. 859-863, 2005.

FABRICANT, D. S.; FARNSWORTH, N. R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environmental health perspectives**, v. 109, n. 1, p. 69-75, 2001.

FRANCIS F.; JABER, K.; COLINET, F.; PORTETELLE, D.; HAUBRUGE, E. Purification of a new fungal mannose-specific lectin from *Penicillium chrysogenum* and its aphicidal properties. **Fungal Biology**, v. 115, n. 11, p. 1093-1099, 2011.

FUENTES, O.; ARANCIBIA-AVILA, P.; ALARCON, J. Hypoglycemic activity of *Bauhinia candicans* in diabetic induced rabbits. **Fitoterapia**, v. 75, n. 6, p. 527-532, 2004.

GADOTTI, V. M.; SCHMELING, L.O.; MACHADO, C.; LIZ, F. H.; FILHO, V. C.; MEYRESILVA, C.; SANTOS, A. R. Antinociceptive action of the extract and the flavonoid quercitrin isolated from *Bauhinia microstachya* leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, n. 10, p. 1345-1351, 2005.

GAVROVIC-JANKULOVIC, M.; POULSEN, K.; BRCKALO, T.; BOBIC, S.; LINDNER, B.; PETERSEN, A. A novel recombinantly produced banana lectin isoform is a valuable tool for glycoproteomics and a potent modulator of the proliferation response in CD3+, CD4+, and CD8+ populations of human PBMCs. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 40, n. 5, p. 929-941, 2008.

GHOSH, D.; MAITI, T. K. Immunomodulatory and anti-tumor activities of native and heat denatured *Abrus* agglutinin. **Immunobiology**, v. 212, n. 7, p. 589-599, 2007.

GOLDSTEIN, I. J.; HUGHES, R. C.; MONSIGNY, M.; OSAWA, T.; SHARON, N. What should be called a lectin? **Nature**, v. 285, n. 5760, p. 66-66, 1980.

GREENWELL, M.; RAHMAN, P. Medicinal Plants: Their Use in Anticancer Treatment. **International journal of pharmaceutical sciences and research**, v. 6, n. 10, p. 4103-4112, 2015.

GUPTA M.; MAZUMDER, U. K.; KUMAR, R. S.; GOMATHI, P.; RAJESHWAR, Y.; KAKOTI, B. B.; SELVEN, V.T. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of methanol extract from *Bauhinia racemosa* stem bark in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, n. 3, p. 267-273, 2005.

GUPTA M.; MAZUMDER, U. K.; KUMAR, R. S.; KUMAR, T. S. Antitumor activity and antioxidant role of *Bauhinia racemosa* against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice [corrected]. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 25, n. 8, p. 1070-1076, 2004.

HU, F. B.; MANSON, J. E.; STAMPFER, M. J.; COLDITZ, G.; LIU, S.; SOLOMON, C. G.; WILLETT, W.C. Diet, Lifestyle, and the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in Women. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 11, p. 790-797, 2001.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, IDF Diabetes Atlas. 8, 2017. Disponível em: <<http://diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html> />. Acesso em: 06/09/2018.

INZUCCHI, S. E.; BERGENSTAL, R. M.; BUSE, J. B.; DIAMANT, M.; FERRANNINI, E.; NAUCK, M.; PETERS, A. L.; TSAPAS, A.; WENDER, R.; MATTHEWS, D. R. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Patient-Centered Approach. **Position**

Statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD), v. 35, n. 6, p. 1364-1379, 2012.

JORGE, A. P.; HORST, H.; SOUSA, E.; PIZZOLATTI, M. G.; SILVA, F. R. M. B. Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia and on ¹⁴C-glucose uptake in rat soleus muscle. **Chemico-Biological Interactions**, v.149, n. 2-3, p. 89-96, 2004.

KABIR, S. Jacalin: a jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed-derived lectin of versatile applications in immunobiological research. **Journal of immunological methods**, v. 212, n. 2, p. 193-211, 1998.

KALEEM, M.; SHEEMA, S.; BANO, B. Protective effects of *Piper nigrum* and *Vinca rosea* in alloxan induced diabetic rats. **Indian of Journal Physiology Pharmacology**, v. 49, n. 1, p. 65-71. 2005.

KAVALALI, G.; TUNCEL, H.; GÖKSEL, S.; HATEMI, H. H. Hypoglycemic activity of *Urtica pilulifera* in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, n. 2–3, p. 241-245, 2003.

KHANNA, P.; JAIN, S.C.; PANAGARIYA, A.; DIXIT, V.P. Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plant source. **Journal Natural Products**, v. 44, p. 648–655, 1981.

KNOWLER, W. C.; FOWLER, S. E.; HAMMAN, R. F.; CHRISTOPHI, C. A.; HOFFMAN, H. J.; BRENNEMAN, A. T.; BROWN-FRIDAY, J. O. GOLDBERG, R.; VENDITTI, E.; NATHAN, D. M. Diabetes Prevention Program Research Group. 10-year follow-up of diabetes incidence and weight loss in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. **The Lancet**, v. 374, n. 9702, p. 1677-1686, 2009.

KOMATH, S. S.; KAVITHA, M.; SWAMY, M. J. Beyond carbohydrate binding: new directions in plant lectin research. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 4, n. 6, p. 973-988, 2006.

KOSKI, R. R. Practical Review of Oral Antihyperglycemic Agents for Type 2 Diabetes Mellitus. **The Diabetes Educator**, v. 32, n. 6, p. 869-876, 2006.

KUKKO, M.; KIMPIMÄKI, T.; KORHONEN, S.; KUPILA, A.; SIMELL, S.; VEIJOLA, R.; SIMELL, T.; ILONEN, J.; SIMELL, O.; KNIP, M. Dynamics of diabetes-associated autoantibodies in young children with human leukocyte antigen-conferred risk of type 1 diabetes recruited from the general population. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 5, p. 2712-2717, 2005.

KULKARNI, Y. A.; GARUD, M. S. *Bauhinia variegata* (Caesalpiniaceae) leaf extract: An effective treatment option in type I and type II diabetes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 83, p. 122-129, 2016.

KUMAR, K. K.; CHANDRA, K. L.; SUMANTHI, J.; REDDY, G. S.; SHEKAR, P. C.; REDDY, B. Biological role of lectins: a review. **Journal of Orofacial Sciences**, v. 4, n. 1, p. 20-25, 2012.

KUMAR, P.; BARAIYA, S.; GAIDHANI, S. N.; GUPTA, M. D.; WANJARI, M. M. Antidiabetic activity of stem bark of *Bauhinia variegata* in alloxan-induced hyperglycemic rats. **Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics**, v. 3, n. 1, p. 64-66, 2012.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970.

LAM, S. K.; NG, T. B. Lectins: production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 1, p. 45-55, 2011.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v. 51, n. 2, p. 216-226, 2008.

LI, Q.; YE, X. L.; ZENG, H.; CHEN, X.; LI, X. G. Study on the extraction technology and hypoglycemic activity of lectin from *Trichosanthes kirilowi*. **Journal of Chinese medicinal materials**, v. 35, n. 3, p. 475-479, 2012.

LIGRESTI, A.; MORIELLO, A. S.; STAROWICZ, K.; MATIAS, I.; PISANTI, S.; PETROCELLIS, L.; LAEZZA, C.; PORTELLA, G.; BIFULCO, M.; DI MARZO, V. Antitumor Activity of Plant Cannabinoids with Emphasis on the Effect of Cannabidiol on Human Breast Carcinoma. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 318, n. 3, p. 1375-1387, 2006.

LINDSTRÖM, J.; ILANNE-PARIKKA, P.; PELTONEN, M.; AUNOLA, S.; ERIKSSON, J. G.; HEMIÖ, K.; HÄMÄLÄINEN, H.; HÄRKÖNEN, P.; KEINÄNEN-KIUKAANNIEMI, S.; LAAKSO, M.; LOUHERANTA, A.; MANNELIN, M.; PATURI, M.; SUNDVALL, J.; VALLE, T. T.; UUSITUPA, M.; TUOMILEHTO, J. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. **The Lancet**, v. 368, n. 9548, p. 1673-1679, 2006.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

LUNA, B.; FEINGLOS, M. N. Oral Agents in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus. **American Family Physician**. v. 63, n. 9 p. 1747-1757, 2001.

MACEDO, M. L.; DAS GRAÇAS, M. F. M.; SILVA, M. B.; COELHO, L. C. Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 146, n. 4, p. 486-498, 2007.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, J. B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 17, n. 1, p. 24-38, 2003.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. Review. **Phytomedicine**, v.2, n. 2, p. 137-189, 1995.

MENDES, C. C.; MARINHO, C. M.; MOREIRA-JUNIOR, V. F.; QUEIROZ, F. M.; DANTAS, G. L.; MACEDO, M. F.; OLIVEIRA, C. N.; SCHWARZ, A. Evaluation of *Bauhinia monandra* aqueous and ethanol extracts in pregnant rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 7, p. 780-785, 2010.

MENEZES, F. S.; MINTO, A. B. M.; RUELA, H. S.; KUSTER, R. M.; SHERIDAN, H.; FRANKISH, N. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 8-13, 2007.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A.; DEFILIPPS, R. A. **Medicinal plants of Brazil**. Michigan: Reference Publications Incorporation. 2000. p.501.

NAGRE, N. N.; CHACHADI, V. B.; SUNDARAM, P. M.; NAIK, R. S.; PUJARI, R.; SHASTRY, P.; SWAMY, B. M.; INAMDAR, S. R. A potent mitogenic lectin from the mycelia of a phytopathogenic fungus, *Rhizoctonia bataticola*, with complex sugar specificity and cytotoxic effect on human ovarian cancer cells. **Glycoconjugate Journal**, v. 27, n. 3, p. 375-386, 2010.

NATHAN, D. M. Finding New Treatments for Diabetes — How Many, How Fast . . . How Good? **New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 5, p. 437-440, 2007.

NATHAN, D. M.; BUSE, J. B.; DAVIDSON, M. B.; FERRANNINI, E.; HOLMAN, R. R.; SHERWIN, R. ZINMAN, B. Medical Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for the Initiation and Adjustment of Therapy: A consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. **Diabetes Care**, v. 32, n. 1, p. 193-203, 2009.

NOGUEIRA, A. C. O; SABINO, C. V. S. Revisão do Gênero *Bauhinia* Abordando Aspectos Científicos das Espécies *Bauhinia forficata* Link e *Bauhinia variegata* L. de Interesse para a Indústria Farmacêutica. **Revista Fitos Eletrônica**, v.7, n. 02, p. 77-84, 2013.

OJEZELE, M. O.; ABATAN, O. M. Hypoglycaemic and coronary risk index lowering effects of *Bauhinia thonningii* in alloxan induced diabetic rats. **African Health Sciences**, v. 11, n. 1, p. 85-89, 2011.

OLIVEIRA, J. E. P.; MILECH, A. **Diabetes Mellitus: clínica, diagnóstico, tratamento multidisciplinar**. São Paulo: Atheneu, 2006.

PAN, S.; TANG, J.; GU, X. Isolation and characterization of a novel fucose-binding lectin from the gill of bighead carp (*Aristichthys nobilis*). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 133, n. 2-4, p. 154 -164, 2010.

PANDA, S; KAR, A. *Withania somnifera* and *Bauhinia purpurea* in the regulation of circulating thyroid hormone concentrations in female mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 233-239, 1999.

- PAULA, P. et al. A Protein Isolate from *Moringa oleifera* Leaves Has Hypoglycemic and Antioxidant Effects in Alloxan-Induced Diabetic Mice. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 271, 2017.
- PETROVSKA, B. B. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, n. 11, p. 1-5, 2012.
- PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiology**, v. 109, n. 2, p. 347-352, 1995.
- PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M. Plant Lectins: versatile proteins with important perspectives in biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, Hants, v. 15, n.1, p. 199-227, 1998.
- PINHEIRO, M. S.; RODRIGUES, L. S.; NETO, L. S.; MORAES-SOUZA, R. Q.; SOARES, T. S.; AMÉRICO, M. F.; CAMPOS, K. E.; DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T. Effect of *Bauhinia holophylla* treatment in Streptozotocin-induced diabetic rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 1, p. 263-272, 2017.
- PURELLO, F; BURNHAM, D. B; GOLDFINE, I. D. Insulin reseptor antiserum and plant lectins mimic the direct effects of insulin on nuclear envelope phosphorylation. **Science**. v. 221, n. 4609, p. 462-464, 1983.
- RAJKAPOOR, B.; JAYAKAR, B.; MURUGESH, N. Antitumour activity of *Bauhinia variegata* on Dalton's ascitic lymphoma. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, n. 1, p. 107-109, 2003.
- RAMOS, S. A. F.; SILVA, L. C. N.; CORREIA, M. T. S.; ARAÚJO, J. M.; COELHO, L. C. B. B. Endophytic microorganisms from *Bauhinia monandra* leaves: Isolation, antimicrobial activities and interaction with galactose-specific lectin BmoLL. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 17, p. 600-607, 2016.
- RAVI, K.; RAMACHANDRAN, B.; SUBRAMANIAN, S. Protective Effect of *Eugenia jambolana* Seed Kernel on Tissue Antioxidants in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 8, p. 1212-1217, 2004.
- ROCHA, A. A.; ARAÚJO, T. F. S.; FONSECA, C. S. M.; MOTA, D. L.; MEDEIROS, P. L.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B.; CORREIA, M. T. S.; LIMA, V. L. M. Lectin from *Crataeva tapia* Bark Improves Tissue Damages and Plasma Hyperglycemia in Alloxan-Induced Diabetic Mice. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, v. 2013, p. 1-9, 2013.
- RODRIGUES, J. S.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; COELHO, L. C. B. B.; COUVREUR, P.; PONCHEL, G.; GREF, R. Novel core(polyester)-shell(polysaccharide) nanoparticles: protein loading and surface modification with lectins. **Journal of Controlled Release**, v. 92, n. 1-2, p. 103-112, 2003.
- ROSILIO, V.; BOISSONNADE, M. M.; COELHO, L. C. B. B.; SANTOS-MAGALHAES, N. S.; ANDRADE, C. A. S.; BASZKIN, A. Interaction of *Bauhinia monandra* lectin (BmoLL) with lipid monolayers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 250, n. 1-3, p. 491-497, 2004.

ROZZA, A. L.; CESAR, D. A.; PIERONI, L. G.; SALDANHA, L.L.; DOKKEDAL, A. L.; DEFARIA, F. M.; SOUZA-BRITO, A. R.; VILEGAS, W.; TAKAHIRA, R. K.; PELLIZZON, C.H. Antiulcerogenic Activity and Toxicity of *Bauhinia holophylla* Hydroalcoholic Extract. **EvidenceBased Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-10, 2015.

SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K. M.; YOGA LATHA, L. Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2011.

SATO, Y.; MORIMOTO, K.; KUBO, T.; YANAGIHARA, K.; SEYAMA, T. High MannoseBinding Antiviral Lectin PFL from *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 Promotes Cell Death of Gastric Cancer Cell MKN28 via Interaction with α 2-Integrin. **PLOS ONE**, v. 7, n. 9, p. 1-13, 2012.

SHARMA, S.; HASIR, A.; PRABHU, K. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of ethanolic extracts of seeds of *Eugenia Jambolona* in alloxan induced diabetic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, n. 2-3, 201-206, 2003.

SHARON, N.; LIS, H. A century of lectin research (1888–1988). **Trends in Biochemical Sciences**, v. 12, p. 488-491, 1987.

SHIRWAIKAR, A. et al. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 1, p. 171-175, 2004.

SHREEDHARA, C. S.; VAIDYA, V. P.; VAGDEVI, H. M.; LATHA, K. P.; MURALIKRISHNA, K. S.; KRUPANIDHI, A. M. Screening of *Bauhinia purpurea* Linn. for analgesic and anti-inflammatory activities. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 41, n. 2, p. 75-79, 2009.

SILVA, M. D. C. **Aplicações Biotecnológicas das lectinas ClaveLL (*Cladonia verticillaris* Lichen Lectin) e BmoLL (*Bauhinia monandra* Leaf Lectin)**. 2008. 211 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/1424>>. Acesso em 16 jun. 2018.

SILVA, M. D. C.; SÁ, R. A.; NAPOLEÃO, T. H.; GOMES, F. S.; SANTOS, N. D. L.; ALBUQUERQUE, A. C.; XAVIER, H. S.; PAIVA, P. M. G.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Purified *Cladonia verticillaris* lichen lectin: Insecticidal activity on *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 3, p. 334-340, 2009.

SINGH, A.; MARAR, T. Inhibitory Effect of Extracts of *Syzygium cumini* and *Psidium guajava* on Glycosidases, **Journal of Cell and Tissue Research**, v. 11, n. 1, p. 2535-2539, 2011.

- SINGH, R. S.; BHARI, R.; KAUR, H. P.; VIG, M. Purification and Characterization of a Novel Thermostable Mycelial Lectin from *Aspergillus terricola*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 5, p. 1339-1349, 2010.
- SINOUE, C.; FOREST, F.; LEWIS, G. P.; BRUNEAU, A. The genus *Bauhinia* s.l. (Leguminosae): a phylogeny based on the plastid trnL–trnF region. **Botany**, v. 87, n. 10, p. 947-960, 2009.
- SISENANDO, H. A.; MACEDO, M. F.; SATURNINO, A. C.; COELHO, L. C. B. B.; MEDEIROS, S. R. Evaluation of the genotoxic potential of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL). **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 2, p. 303-308, 2009.
- SOUSA, E.; ZANATTA, L.; SEIFRIZ, I.; CRECZYNSKI-PASA, T. B.; PIZZOLATTI, M. G.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, F. R. M. B. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(a)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 5, p. 829-832, 2004.
- STANELY, P., PRINCE, M., MENON, V.P. Hypoglycaemic and other related actions of *Tinospora cordifolia* roots in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 70, n. 1, p. 9-15, 2000.
- SUN, J.; WANG, L.; WANG, B.; GUO, Z.; LIU, M.; JIANG, K.; TAO, R.; ZHANG, G. Purification and characterization of a natural lectin from the plasma of the shrimp *Penaeus chinensis*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 25, n. 3, p. 290-297, 2008.
- VENANCIO, T.M.; OLIVEIRA, A.E.A.; SILVA, L.B.; MACHADO, O.L.T.; FERNANDES, K.V.S.; XAVIER-FILHO, J. A protein with amino acid sequence homology to bovine insulin is present in the legume *Vigna unguiculata* (cowpea). **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 36, p.1167–1173, 2003.
- WILLAIN FILHO A.; BREVIGLIERI, E.; CECHINEL FILHO, V.; SANTOS, A. R. Antinociceptive effect of the hydroalcoholic extract of *Bauhinia splendens* stems in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 49, n. 8, p. 823-827, 1997.
- YADAVA, R. N.; REDDY, V. M. Anti-inflammatory activity of a novel flavonol glycoside from the *Bauhinia variegata* Linn. **Natural Product Research**, v. 17, n. 3, p. 165-169, 2003.
- YAMAGUCHI, M.; OGAWA, T.; MURAMOTO, K.; KAMIO, Y.; JIMBO, M.; KAMIYA, H. Isolation and Characterization of a Mannan-Binding Lectin from the Freshwater Cyanobacterium (Blue-Green Algae) *Microcystis viridis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 265, n. 3, p. 703-708, 1999.
- YANG, H.; LUO, T.; LI, F.; LI, S.; XU, X. Purification and characterisation of a calciumindependent lectin (PjLec) from the haemolymph of the shrimp *Penaeus japonicus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 22, n. 1–2, p. 88-97, 2007.
- ZAKARIA, Z. A.; ABDUL HISAM, E. E.; ROFIEE, M. S.; NORHAFIZAH, M.; SOMCHIT, M. N.; THE, L.K.; SALLEH, M.Z. *In vivo* antiulcer activity of the aqueous extract of *Bauhinia purpurea* leaf. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 2, p. 1047-1054, 2011.

ZAKARIA, Z. A.; WEN, L. Y.; ABDUL RAHMAN, N. I.; ABDUL AYUB, A. H.; SULAIMAN, M. R.; GOPALAN, H. K. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic properties of the aqueous extract of *Bauhinia purpurea* leaves in experimental animals. **Medical Principles and Practice**, v. 16, n. 6, p. 443-449, 2007.