



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE AGRONOMIA

PAULA INGRID MAIA MACHADO

Bioprospecção de lectinas em sementes de *Bauhinia divaricata* L.

FORTALEZA

2023

PAULA INGRID MAIA MACHADO

Revisão bibliográfica de lectinas vegetais da família *Leguminosae* com potencial antimicrobiano e antibiofilme bacteriano

Monografia submetida à Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada.

Coorientador: Dr. Messias Vital de Oliveira.

Fortaleza

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M133b Machado, Paula Ingrid Maia.
Bioprospecção de lectinas em sementes de *Bauhinia divaricata* L. / Paula Ingrid Maia Machado. – 2023.
59 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada.

Coorientação: Prof. Dr. Messias Vital de Oliveira.

1. Lectinas. 2. Atividade antibacteriana. 3. Atividade hemaglutinante. 4. *Bauhinia divaricata*. I. Título.
CDD 630

PAULA INGRID MAIA MACHADO

Bioprospecção de lectinas em sementes de *Bauhinia divaricata* L.

Monografia apresentada à coordenação do Curso de Graduação em agronomia - Bacharelado da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Aprovada em 06/ 07/ 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Messias Vital de Oliveira (Coorientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Vanir Reis Pinto Júnior

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Francisco William Viana Martins

Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre acalmar minhas aflições e me dar forças para seguir em frente na minha jornada, nunca permitindo que eu desista dos meus sonhos.

À Universidade Federal do Ceará, que foi imprescindível para minha formação acadêmica.

À Instituição CNPq pela bolsa e apoio financeiro nesses anos fazendo pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada, por me acolher e auxiliar no meu aprendizado nesta área de pesquisa, no qual aprendi muito e me permitiu evoluir como pessoa e profissionalmente.

A estimada Professora Dra. Kyria Santiago do Nascimento, pela co-orientação, apoio e ensinamentos, no qual sem eles estaria completamente perdida.

Aos doutores Messias Vital de Oliveira, Vanir Reis Pinto Júnior e ao doutorando Francisco William Viana Martins que foram extremamente pacientes e compartilharam comigo dos seus valiosos conhecimentos e me ajudaram na realização desse projeto.

De modo geral, aos grandes amigos e colegas do BioMol-Lab, que tive grande alegria de conhecer e fizeram dos meus dias extremamente gratificantes. Especialmente a Valéria, Rebeca e aos IC's Paulo e Vinícius que estiveram trabalhando arduamente comigo na bancada, e foram valiosos para o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos meus grandes amigos da turma de Agronomia 2017.1 que fiz ao longo dessa jornada, no qual tive grande suporte, conselhos e muitas risadas, mesmo aqueles que seguiram uma trajetória diferente.

Aos meus professores, todos tiveram um enorme significado na minha trajetória, com grandes desafios e conhecimentos, no qual ajudou no meu amadurecimento e na expansão da minha visão de mundo.

Em especial agradeço à minha família, sobretudo meus pais, no qual sem o suporte deles nada seria possível.

RESUMO

Lectinas são proteínas ubíquas e singulares caracterizadas por sua capacidade de se ligar seletivamente a resíduos de carboidratos específicos sem alterar a estrutura dos mesmos. As propriedades de ligação ao açúcar das lectinas ilustraram que a atividade destas se estende além da hemaglutinação das células, tendo um grande potencial de aplicações biotecnológicas, incluindo ação antimicrobiana. Entre muitas atividades de interesse científico, a atividade antibacteriana é relatada para as lectinas de leguminosas, apresentando alto potencial como agente antimicrobiano, sendo por isso abordado a ação dessas biomoléculas contra bactérias patogênicas. Nesse trabalho é apresentado um estudo de bioprospecção com uma espécie pertencente ao gênero *Bauhinia*, no qual as lectinas já estudadas possuem diversas aplicabilidades promissoras. *Bauhinia divaricata* L. é uma planta medicinal de uso popular, no qual foi realizada uma triagem para avaliar a presença de lectinas nos extratos protéicos e a melhor condição de extração dessas proteínas. O presente trabalho indicou a presença de atividade hemaglutinante nos extratos proteicos, evidenciando a melhor condição de extração em pH ácido. Novos estudos podem auxiliar na obtenção de uma melhor atividade com outros eritrócitos para as lectinas do extrato de *B. divaricata*, e também auxiliar em trabalhos de caracterização, purificação e em ensaios de atividades biológicas futuros.

Palavras-chave: **Lectinas, Atividade antibacteriana, Atividade hemaglutinante, *Bauhinia divaricata*.**

ABSTRACT

Lectins are unique and ubiquitous proteins characterized by their ability to selectively bind to specific carbohydrate residues without altering their structure. The sugar-binding properties of lectins illustrated that their activity extends beyond the hemagglutination of cells, having great potential for biotechnological applications, including antimicrobial action. Among many activities of scientific interest, the antibacterial activity is reported for legume lectins, presenting high potential as an antimicrobial agent, and therefore the action of these biomolecules against pathogenic bacteria is addressed. This work presents a bioprospecting study with a species belonging to the genus *Bauhinia*, in which the lectins already studied have several promising applications. *Bauhinia divaricata* L. is a popularly used medicinal plant, in which a screening was carried out to evaluate the presence of lectins in protein extracts and the best condition for extracting these proteins. The present work indicated the presence of hemagglutinating activity in the protein extracts, evidencing the best condition of extraction in acidic pH. New studies may help in obtaining a better activity with other erythrocytes for the lectins from the extract of *B. divaricata*, and also help in characterization, purification and future biological activity assays.

Keywords: Lectins, Antibacterial activity, Haemagglutinating activity, *Bauhinia divaricata*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da classificação dos quatro tipos de lectinas vegetais baseado em estrutura.....	15
Figura 2 Estrutura tridimensional da lectina de sementes de <i>Bauhinia forficata</i> (BfL)	17
Figura 3- Diferenças da parede celular de bactérias gram positivas e gram negativas.....	21
Figura 4- Sementes, flor e folhas de <i>Bauhinia divaricata</i>	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Atividade antibacteriana de lectinas de Leguminosas.....	25
Tabela 2- Aplicações promissoras das lectinas extraídas das plantas do gênero <i>Bauhinia</i>	35
Tabela 3- Atividade hemaglutinante específica do screening de extração da farinha de <i>Bauhinia divaricata</i>	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Aglutinina de <i>Agaricus bisporus</i>
BBL	Lectina de <i>Bauhinia bauhinioides</i>
MIC	Concentração inibitória mínima (Do inglês)
ConA	Lectina da Concavalina A
CRD	Domínio de reconhecimento a carboidrato (Do inglês)
GalNAc	N-acetilgalactosamina
Glicnac	N-acetilglicosamina
GNA	Aglutina de <i>Galanthus nivalis</i>
GSL	Lectina de <i>Griffonia simplicifolia</i>
Nictaba	Aglutinina de <i>Nicotiana tabacum</i>
RIPs	Proteínas inativadoras de ribossomos
TxLCI	Superlectina extraída da tulipa

Abreviatura das bactérias

<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>X. campestris</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>
<i>S. saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>S. oralis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>

<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>P. acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>E. carotovora</i>	<i>Erwinia carotovora</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1 Lectinas	7
1.2 Distribuição das Lectinas vegetais	8
1.3 Breve histórico	9
1.4 Classificação das Lectinas vegetais	11
1.5 Lectinas de Leguminosas	16
1.5.1 Associação entre bactérias e leguminosas	18
1.5.2 Bactérias	19
1.5.3 Atividade antibacteriana de lectinas de leguminosas	21
1.6 Lectinas de <i>Cercidoideae</i>	30
1.7 Gênero <i>Bauhinia</i>	32
1.8 <i>Bauhinia divaricata</i>	36
2. OBJETIVOS	38
2.1 Objetivos gerais	38
2.2 Objetivos específicos	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1 Origem do material vegetal	39
3.2 Eritrócito de coelho	39
3.3 Obtenção da farinha e tratamento com hexano	40
3.4 Extração total de proteínas solúveis	40

3.5 Atividade Hemaglutinante	41
3.6 Dosagem de proteínas solúveis	41
3.7 Atividade específica.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5. CONCLUSÃO	44
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	45

1. INTRODUÇÃO

1.1 Lectinas

Inicialmente era difícil diferenciar lectinas de outras moléculas que também possuem capacidade de aglutinar células, como polifenóis, alguns lipídios e substâncias catiônicas. Dessa forma, surgiu a necessidade de ditar requisitos para classificar as lectinas, então foi observado características próprias que permitem diferenciar essas macromoléculas, que são: proteínas ou glicoproteínas, ubíquas, com capacidade de reconhecer carboidratos de modo específico e reversível, além de não se associarem ao sistema imunológico e não alterar a estrutura química dos açúcares (GOLDSTEIN et al, 1980, VAN DAMME et al., 1995, GABIUS et al., 1997). Entretanto, novos estudos relacionam as lectinas no reconhecimento de invasores e envolvimento na autofagia, além de sua importância na sinalização de estresse e outros processos relacionados ao sistema imunológico, assim evidenciando que essas proteínas fazem parte do sistema imune (DE SCHUTTER; VAN DAMME, 2015; TSANEVA; VAN DAMME, 2020).

Em suma, as lectinas reconhecem de modo específico e reversível carboidratos já que possuem pelo menos um domínio de reconhecimento ao carboidrato (PEUMANS; VAN DAMME, 1995). Devido a essa característica, geralmente serem di- ou polivalentes, fundamenta a capacidade destas moléculas hemaglutinarem células como eritrócitos. Portanto, quando interagem com células, elas não somente se ligam aos seus carboidratos de membrana, mas atuam também na aglomeração dessas células (LIS, SHARON, 1998).

Cada lectina se liga de forma específica aos açúcares, no qual são encontrados com frequência nas membranas celulares na forma de glicoconjugados, sendo exemplares de açúcares comumente associados glicose, manose, fucose, galactose, *N*-acetil-D-galactosamina e *N*-acetil-D-glicosamina (SHARON, LIS, 2004). Dito isto, a definição mais atual designa lectinas como (glico) proteínas ubíquas e singulares caracterizadas por sua capacidade de se ligar seletivamente a resíduos de carboidratos específicos sem alterar a estrutura dos mesmos. (CHEN, VAN DAMME, 2021).

1.2 Distribuição das lectinas vegetais

As lectinas são amplamente distribuídas na natureza, sendo relatada sua presença em diversos organismos, desde os mais simples como bactérias e vírus, e complexos como fungos, animais, e principalmente sendo encontrada de forma substancial em plantas (VAN HOLLE; VAN DAMME, 2019). As lectinas vegetais podem ser encontradas em qualquer parte das plantas, em quantidades dessemelhantes. Nas sementes, entretanto, é possível encontrar em uma concentração maior, chegando até 10% do peso total da semente, por isso é bastante utilizado na realização de outros estudos como atividades biológicas e caracterização (LORIS, 2002; SHARON e LIS, 2004). Nessa perspectiva, as lectinas são encontradas em diversos alimentos, sobretudo nas espécies vegetais utilizadas para o consumo, no qual podem ser obtidos diretamente da natureza ou processados, contendo cerca de 30% de lectinas ativas (NACHBAR; OPPENHEIM, 1980).

É adotada a ideia de que as lectinas possuem um papel ativo em processos biológicos fundamentais nas plantas porque são encontradas em muitas espécies diferentes e em muitos órgãos e tecidos. Por causa disso, ocorre a associação das lectinas vegetais com a defesa da planta, principalmente devido a especificidade voltada para carboidratos que geralmente são ausentes em plantas, o que é um forte indício de aplicabilidade em atividades anti-insetos, anti-fúngicas, antivirais e antibacterianas (PEUMANS, VAN DAMME, 1995; JAIN et al., 2022).

Nesse contexto, as lectinas podem ser divididas em clássicas e induzidas, dependendo de variáveis que atuam na sua expressão, o que afeta a quantidade dessas proteínas no material vegetal. Aquelas ditas como clássicas são proteínas expressas que estão presentes em uma ampla variedade de tecidos e estão envolvidas em vários processos fisiológicos. Apesar da presença em todos os órgãos vegetais, os níveis de expressão dessas moléculas podem variar consideravelmente, no geral correspondem de 0,1 a 10% do total de proteínas de acordo com o tecido vegetal analisado (PEUMANS; VAN DAMME, 1995).

Já as lectinas pouco expressas, sendo necessários estímulos específicos, como patógenos, estresse ou lesão, só foram descobertas no final da década de 1990. Essas lectinas são dificilmente detectáveis em condições normais de crescimento da planta, mas sua ação dentro da célula vegetal é de suma importância na sinalização intracelular. Isso ocorre devido ao fato da expressão dessas lectinas ocorrerem normalmente quando a planta é

exposta às condições de estresse, por exemplo, alterações bióticas e abióticas (LANNOO; VAN DAMME, 2010; VAN DAMME, 2014).

1.3 Breve histórico

O primeiro estudo de aglutinação de células sanguíneas data de 1860, um trabalho realizado pelo pesquisador S. Weir Mitchell, no qual avaliou a capacidade do veneno de *Crotalus durissus* de aglutinar eritrócitos de pombo. Seguidamente, ainda no século XIX, foram descobertas moléculas capazes de aglutinar eritrócitos, sendo detectadas inicialmente dentro do reino vegetal e nomeadas de aglutininas ou fitohemaglutininas. Essa evidência estabelece o início da lectinologia (SHARON; LIS, 2004).

Dessa forma, os estudos de Hermann Stillmark, em 1888, trouxe a descoberta de uma molécula presente no extrato protéico da mamona, no qual aglutina os eritrócitos e apresenta uma alta toxicidade, sendo denominada de Ricina. A relação entre a toxicidade da Ricina e a presença de atividade hemaglutinante foi importante para a bioquímica vegetal, pois a Ricina é a primeira proteína de planta que despertou interesse científico devido a sua toxicidade, sendo por isso conjecturado acerca de aplicações biológicas (VAN DAMME et al., 1998; SHARON; LIS, 2004).

Posteriormente, H. Hellin descreveu outra lectina com notável toxicidade, que foi isolada de sementes de jeriquiti (*Abrus precatorius*), denominada de Abrina (SHARON; LIS, 2004). Paul Ehrlich usou a Ricina e a Abrina como modelos de antígenos em estudos imunológicos, sendo estabelecidos vários princípios da imunologia, devido às diferenças dessas toxoalbuminas e a capacidade de ação de imunização. Dessa forma, tais princípios como o da especificidade do anticorpo ao seu antígeno, o fenômeno de memória imunológica e que a imunidade as toxinas são transferidas de uma mãe para sua prole foram mais bem compreendidos a partir desse estudo (SHARON; LIS, 2004).

Em 1954, Boyd e Shapleigh designaram o termo lectinas para essas macromoléculas, que vem do verbo latino: "*legere*" que significa selecionar ou escolher. Muito tempo depois foi notado que o caráter tóxico dessas macromoléculas não é tão comum no reino vegetal, sendo isoladas outras lectinas que permitiram ampliar o conhecimento dessas biomoléculas, principalmente a partir da década de 70, período no qual novas aplicações biotecnológicas foram desenvolvidas (VAN DAMME et al., 1998, SHARON; LIS, 2004).

A primeira lectina purificada, em 1919, em estudos realizados por James Sumner foi isolada de sementes de feijão de porco, *Canavalia ensiformis*, no qual foi denominada de concanavalina A (ConA). Em 1936, os pesquisadores Sumner e Howell determinaram diversos atributos interessantes para a ConA, como a capacidade de aglutinar eritrócitos e leveduras, além de precipitar glicogênio de soluções. A partir da investigação que comprovou a inibição da atividade de hemaglutinação por sacarose, foi possível constatar a especificidade das lectinas por açúcares (SHARON; LIS, 2004). Entretanto, apenas em 1952 foi feita a ligação entre a atividade hemaglutinante e a questão da especificidade de ligação com o açúcar (WATKINS; MORGAN, 1952).

Em 1900, o médico austríaco Karl Landsteiner descobriu o sistema de grupos sanguíneo ABO, sendo considerado um marco para realização de transfusões de sangue de forma mais segura. Alguns anos depois, ele avaliou que a atividade de hemaglutinação de proteínas vegetais pode diferir significativamente dependendo do tipo de células sanguíneas. Nesse estudo, Landsteiner avaliou os extratos proteicos de *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum* e *Vicia sativa*, que apresentaram diferentes títulos de hemaglutinação quando testados com eritrócitos de diferentes animais (LANDSTEINER, RAUBITSCHKE, 1907).

Em 1960, Nowell descobriu a atividade mitogênica para linfócitos de uma lectina chamada fitohemaglutinina (PHA) isolada de *Phaseolus vulgaris* (MOREIRA et al., 1991), assim como outras lectinas demonstraram ter efeito mitogênico, como a Concanalina A, ou seja, provoca os linfócitos a sofrerem mitose. O que foi entendido apenas posteriormente é que a atividade pode ser inibida com uma pequena quantidade do açúcar que a lectina apresenta especificidade. Essa descoberta mostrou que a causa da atividade mitogênica das lectinas ocorre devido a reação entre a proteína e os carboidratos presentes na superfície dos linfócitos. O que demonstra a evolução nos estudos de imunologia, pois o que se sabia anteriormente era que os linfócitos não tinham capacidade de se diferenciar ou dividir-se (SHARON; LIS, 2004).

Além disso, alguns anos depois, estudos realizados por Joseph C. Aub demonstraram que a aglutinina de germen de trigo (WGA) reconhece e aglutina preferencialmente células malignas (Aub et al., 1963). Essa evidência foi um marco que correlaciona os carboidratos na superfície celular com o desenvolvimento do câncer (REMMELINK et al., 1999), além de que, outras lectinas mostraram a mesma atividade, como a concanavalina A (INBAR; BEN-BASSAT; SACHS, 1973, SHARON; LIS, 2004). Dessa forma, as propriedades de ligação

ao açúcar das lectinas ilustraram que a atividade da lectina vai além da hemaglutinação das células, tendo um grande potencial de aplicações biotecnológicas, tais como reconhecimento célula-célula, modulação do sistema imunológico e defesa contra patógenos (SHARON; LIS, 2007).

Devido a sua importância, na década de 1970, ocorreu uma intensificação dos estudos sobre as propriedades moleculares de lectinas de maneira individual, com isso, é possível conhecer mais dessas proteínas a nível molecular. Esses estudos abrangeram pesquisas que determinaram as principais características físico-químicas das lectinas (pH, temperatura, íons divalentes), sequenciamento de aminoácidos e elucidação da sua estrutura 3D. Até o advento de tecnologias do DNA recombinante, a determinação da estrutura primária das lectinas procedeu bastante lentamente, sendo conhecido pouco do sequenciamento das lectinas vegetais (POVINELI; FINARDI FILHO, 2002). Assim, a inovação tecnológica permitiu determinar a estrutura tridimensional da primeira lectina por cristalografia de raios X, no qual a concanavalina A é a precursora desse estudo (EDELMAN et al., 1972).

1.4 Classificação das Lectinas Vegetais

Um extenso estudo com base em avanços recentes na bioquímica, envolvendo clonagem molecular e análise estrutural de lectinas de plantas acarretaram em uma divisão das lectinas vegetais em 12 famílias de proteínas com estruturas relacionadas evolutivamente: lectinas de leguminosas, aglutinina de *Agaricus bisporus* (ABA), domínio Amarantina, lectinas relacionadas à jacalinas, aglutinina relacionada à quitinase (CRA), domínio Cianovirina, aglutinina de *Galanthus nivalis* (GNAS), domínio da Heveína, domínio Lys-M, domínio da Ricina, *Nicotiana tabacum agglutinin* (Nictaba) e as lectinas de floema de *Curcubitacea* (TSANEVA; VAN DAMME, 2020).

A aglutinina *Agaricus bisporus* (ABA) é um tipo de proteína que pode ser extraída do cogumelo *Agaricus bisporus*, no qual existe como um tetrâmero. Cada monômero ABA possui dois sítios de reconhecimento para GlcNAc e GalNAc (NAKAMURA-TSURUTA et al., 2006). As lectinas desta família são comumente isoladas de outros fungos, existindo poucos representantes desta família relatados em plantas inferiores, em particular a *Marchantia polymorpha* (LANNOO; VAN DAMME, 2010, TSANEVA; VAN DAMME, 2020).

Já as lectinas semelhantes a *Amaranthus caudatus*, possuem o gênero *Amaranthus* como principal representante, sendo reconhecida distintamente de outras famílias de lectinas com base em sua sequência única de aminoácidos e estrutura tridimensional. Essa família ocorre geralmente como hololectinas, mas já foram reportadas quimerolectinas que possuem um domínio de amaranto ligado a uma toxina formadora de poros chamada aerolisina. Uma característica em comum é a especificidade por *N*-acetilgalactosamina (VAN DAMME et al., 1998).

As lectinas relacionadas à jacalina (LRJS) são lectinas estruturalmente semelhantes à Jacalina, uma proteína específica para galactose obtida de sementes de jaca, *Artocarpus integrifolia* (BOURNE et al., 2002). O domínio Jacalina pode ser descrito como um prisma triplo β simétrico arranjado a partir de três folhas β de quatro fios. Sua importância está relacionada principalmente na resistência a doenças, estresse abiótico e desenvolvimento das plantas (VAN HOLLE et al., 2018, ESCH et al., 2017, BOJAR et al., 2022).

As lectinas que se ligam à quitina (CRA) é uma família que é capaz de se ligar a resíduos de *N*-acetilglicosamina, que é a principal unidade monomérica da quitina. Representa uma família de lectinas com homologia a quitinases de classe V. Apesar disso, essas proteínas não possuem atividade de quitinase (TSANEVA et al., 2020). Uma característica notável é o fato desse grupo se ligar a *N*-glicanos com alto teor de manose. No geral, as lectinas de ligação à quitina desempenham papéis importantes em vários processos biológicos, como defesa de plantas, desenvolvimento de insetos e patogênese de fungos (TRINDADE et al., 2016, SUETAKE, TETSUYA, 2000).

A família das lectinas cianovirina é baseada na cianobactéria *Nostoc ellipsosporum*, sendo também representantes algas azuis, bactérias, fungos, samambaias e Lycopsidas, não sendo encontrado em plantas superiores. As lectinas desta família são caracterizadas por uma folha β de forma alongada que exhibe pseudosimetria. Apresenta como característica o reconhecimento de moléculas de açúcar específicas, como a manose (BOTOS et al., 2002, TSANEVA et al., 2020).

A aglutinina *Nicotiana tabacum* (Nictaba) é uma lectina encontrada nas folhas da planta do tabaco, pertencendo à família das lectinas relacionadas à Nictaba (NRLs). É um homodímero, ou seja, possuem duas subunidades idênticas de 19 kDa. Caracteristicamente, se ligam fortemente a *N*-glicanos ricos em manose, *N*-glicanos complexos e em quantidade

inferior para oligômeros de GlcNAc. Ainda faltam dados em relação a estrutura tridimensional, mas estudos de modelagem molecular propõem que as proteínas relacionadas a essa família possuem uma estrutura β -sanduíche composta por duas folhas β conectadas por laços estendidos (SCHOUPE et al., 2010).

Galanthus nivalis aglutinina (GNA) é caracterizada por lectinas que geralmente pertencem ao grupo de monocotiledôneas, apesar de encontradas em gimnospermas, dicotiledôneas, bem como em algumas bactérias, fungos, peixes e até mesmo foi relatada em um vírus e são conhecidas por se ligarem especificamente a resíduos de manose. A Cristalografia de raios X mostrou que cada subunidade se dobra como um prisma β composto por três folhas β antiparalelas de quatro fitas no qual se configuram em três sítios de ligação a manose (VAN DAMME et al., 2008).

As lectinas com domínio heveína são uma família de lectinas vegetais caracterizadas pela presença de uma sequência conservada de aminoácidos conhecida como domínio heveína, sendo uma pequena proteína monomérica que se liga aos oligômeros GlcNAc e quitina, por isso atuando com atividade antifúngica (ASENSIO et al., 2000). Essa proteína foi identificada pela primeira vez no látex da seringueira *Hevea brasiliensis*, que é a fonte da borracha natural, apresentando na sua estrutura tridimensional três fitas de β -folha e duas α -hélices curtas, no qual são relatadas em plantas e fungos (VAN DAMME; LANNOO; PEUMANS, 2008).

As lectinas com domínio LysM são uma família de proteínas caracterizadas pela presença de uma sequência de aminoácidos conservada, no qual seus representantes são principalmente as bactérias, porém são proteínas ubíquas. É caracterizado por duas α -hélices empacotadas no mesmo lado de uma β -folha antiparalela tendo como resultado uma estrutura secundária β - α - α - β (BATEMAN; BYCROFT, 2000, VAN HOLLE et al., 2015). As proteínas contendo LysM tem como característica a presença de receptores de ligação à quitina, interação com peptidoglicanos e lipopolissacarídeos (DESAKI et al., 2018; KAKU et al., 2006).

A família do domínio Ricina-B é um grupo de lectinas que compartilham semelhanças estruturais e de sequência com o domínio de lectina da toxina vegetal ricina (*Ricinus communis*), sendo essas proteínas encontradas abrangentemente na natureza. Esse domínio de ligação a carboidratos reconhece especificamente resíduos terminais de galactose

ou GalNAc contendo estruturas de glicano. As proteínas dessa família são inativadora de ribossomos (RIP), sendo então lectinas quiméricas. Exemplos de lectinas são a Abrina extraída de *Abrus precatorius* e a lectina extraída de *Abrus pulchellus* (Pulchelina) (VAN DAMME, 1998, CASTILHO et al., 2008, OSTERNE, 2016).

As lectinas isoladas do floema das *Cucurbitaceae* ou lectinas do floema homólogas a *Cucurbitaceae* são proteínas bastantes homogêneas formadas por duas subunidades de 24 kDa ligantes à *N*-acetilglicosamina. De forma geral são glicosiladas, possuindo afinidade para quitina. Todas as lectinas dessa família são similares sequencialmente entre si, sendo completamente diferentes quanto a sequência quando comparadas as outras famílias botânicas (VAN DAMME et al., 1998).

Por fim, a família das lectinas de leguminosas no qual é a mais estudada, sendo caracterizada por serem bastante similares em suas características físico-químicas, representando um grupo diversificado de proteínas com uma ampla gama de aplicações potenciais (PINTO et al., 2005). É observado que nem todas as lectinas isoladas desta família pertencem a classificação de lectinas de leguminosas, ou seja, pertencem a outras classes já abordadas anteriormente com base na estrutura da proteína (DAMME et al., 1998). Dessa forma, quando pertencentes a esta classe de lectinas, apresentam homologia em suas estruturas primárias e terciárias, diferindo nas características estruturais quaternárias ((SHARON; LIS, 1990; LORIS et al., 1998). Visto sua importância nesse estudo, esse tópico é abordado mais profundamente adiante.

Nessa perspectiva, com base nos estudos de sequenciamento de lectinas, a especificidade de carboidratos pode estar relacionada a fatores além da estrutura tridimensional do domínio de reconhecimento de carboidratos (CRD). (VAN DAMME, 2014). Como por exemplo, são as lectinas do gênero *Parkia*, com afinidade específica por D-manose/D-glicose, que apesar de ser um gênero pertencente à família das leguminosas, as suas lectinas apresentam motivos e domínios proteicos característicos de lectinas relacionadas à Jacalina (BARI et al., 2016).

As lectinas constituem um grupo de proteínas cuja heterogeneidade se baseia nas suas propriedades bioquímicas e físico-químicas, estrutura molecular, especificidade e atividades biológicas (PEUMANS; VAN DAMME, 1995). Em relação a estrutura geral, com base nos domínios de reconhecimento ao carboidrato (CRDs), as lectinas vegetais podem ser

divididas em quatro classes: Merolectinas, Hololectinas, Quimerolectinas e Superlectinas (Van Damme et al. 1998).

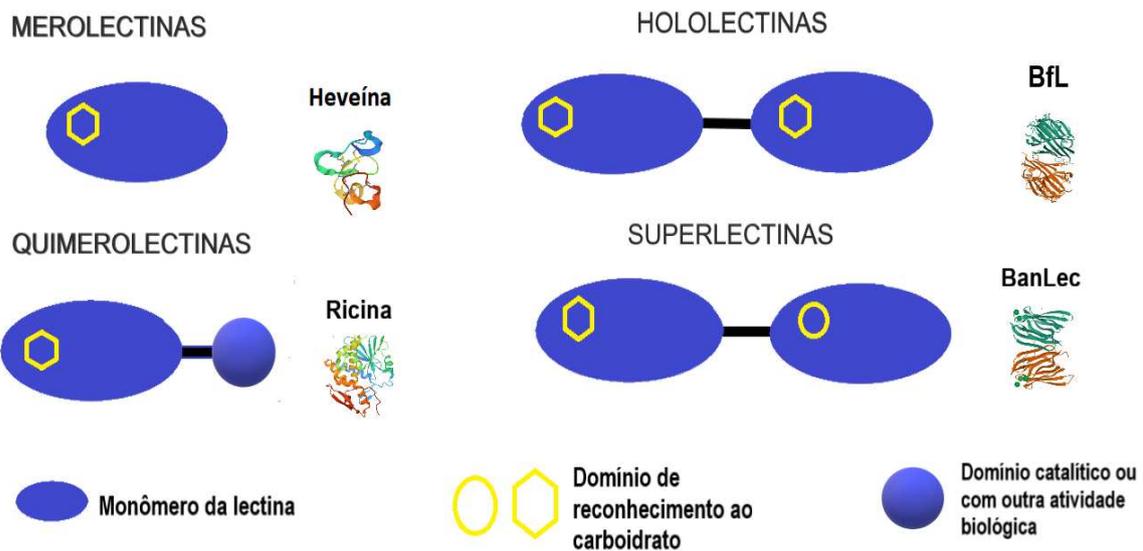
As merolectinas são uma classe muito comum que contêm exclusivamente um único domínio de ligação a carboidratos, por isso não são capazes de precipitar glicoconjugados ou aglutinar células devido ao seu caráter monovalente. A heveína é uma proteína que se liga à quitina e é extraída do látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*), sendo a principal representante dessa classe. Proteínas do tipo heveína como a *Selaginella moellendoffii* compartilham uma relação evolutiva, no qual já foram realizados estudos em modelos de ligação, por exemplo, com os receptores de ligação da proteína viral Spike (VAN PARIJS et al., 1991, ALSOLAMI et al., 2023).

A classe com a maior representação de lectinas vegetais são as de hololectinas. Essas proteínas possuem pelo menos dois ou mais domínios de ligação semelhantes ou idênticos, sendo assim, di ou polivalentes com habilidade de aglutinar células e precipitar glicoconjugados. As lectinas de leguminosas geralmente estão dentro dessa classificação, a lectina de *Bauhinia forficata* (BfL) é um exemplo dessa classe (LUBKOWSKI et al., 2017).

As quimerolectinas consistem de um domínio de ligação a carboidrato e um domínio não relacionado que apresenta função catalítica bem definida ou outra atividade biológica, atuando de forma independente do domínio de ligação a carboidratos. Além das Proteínas inativadoras de ribossomos (RIPs), principais representante desta classe (Ricina e Abrina) (PEUMANS; VAN DAMME, 1998), a lectina PPL-2 também está incluída, sendo obtida a partir de sementes de *Parkia platycephala*, possuindo um sítio catalítico com atividade endoquitinásica, além do domínio de ligação a carboidratos (CAVADA et al., 2006).

A classe de lectinas compostas por múltiplos domínios de ligação distintos capazes de interagir com açúcares diferentes corresponde às superlectinas, podendo ter múltiplas especificidades e funções biológicas. A lectina isolada do bulbo de tulipa (TxLCI) é um exemplo dessa classe, pois é composta de um domínio de ligação a carboidrato que reconhece manose e outro domínio que reconhece *N*-acetil-galactosamina (VAN DAMME et al., 1996) (ŠULÁK et al., 2011).

Figura 1 - Representação da classificação dos quatro tipos de lectinas vegetais baseado nas suas estruturas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

1.5 Lectinas de leguminosas

As leguminosas constituem a maior e a mais estudada família de lectinas vegetais, devido sua abundância em muitas culturas e na relação ecológica de simbiose que ocorre entre leguminosas e *Rhizobium* (bactérias fixadoras de nitrogênio) (PEUMANS, VAN DAMME, 1998), sendo a maioria das lectinas isoladas desta família e também caracterizadas de forma físico-química, biológica e estrutural (SHARON; LIS, 1990).

A família *Leguminosae* constitui um dos grupos vegetais que apresenta ampla distribuição geográfica. Dentro desta família são estimados cerca de 727 gêneros e 19.325 espécies, classificados tradicionalmente em três subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae* (LEWIS et al., 2005). Entretanto, novos estudos baseados em análises filogenéticas trazem uma classificação atualizada, proposta pelo *Legume Phylogeny Working Group* no qual divide a família *Leguminosae* em 6 subfamílias: *Duparquetioideae*, *Cercidoideae*, *Detarioideae*, *Dialioideae*, *Faboideae* e *Caesalpinioideae* (LPWG, 2017).

Lectinas de leguminosas costumam ocorrer como dímeros ou tetrâmeros, compostos por monômeros iguais ou diferentes com massa molecular próxima de 25 a 30 kDa, e cada uma dessas subunidades apresenta um único sítio de ligação a carboidrato. Caracteristicamente, as subunidades são compostas por uma única cadeia polipeptídica, que é unida por forças não covalentes como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e

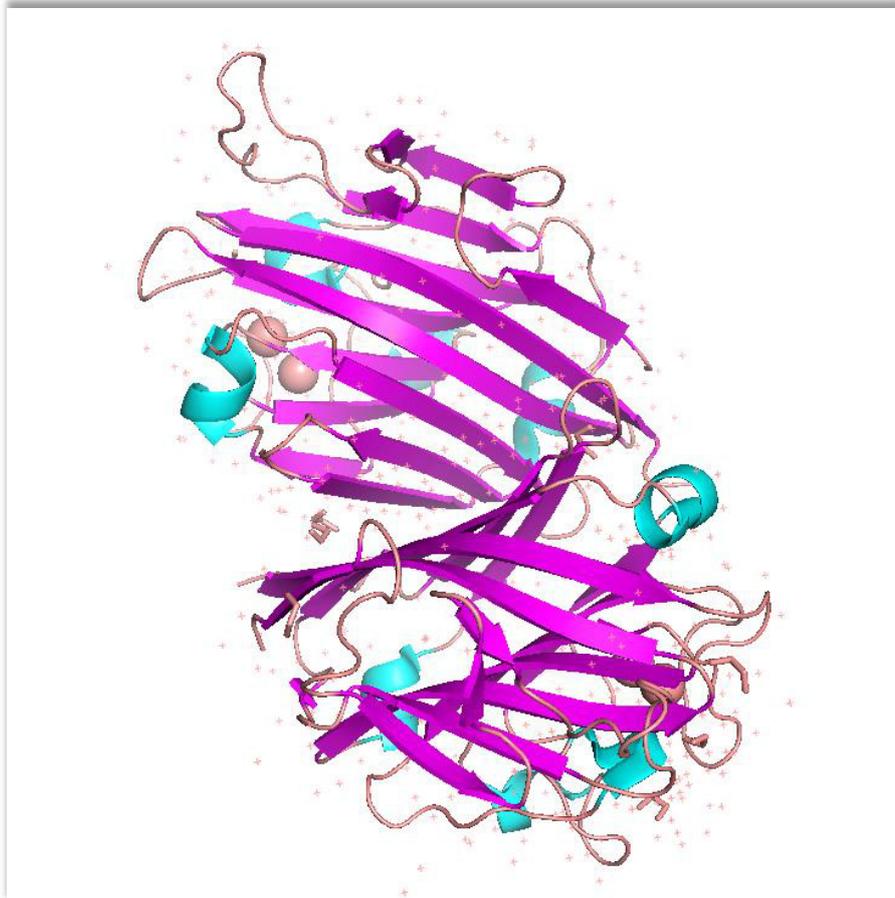
eletrostáticas que levam a formação de dímeros canônicos, e para a formação e estabilidade dos tetrâmeros ocorre a união dos dímeros (SHARON; LIS, 1989).

Além disso, essas lectinas podem ser metaloproteínas, ou seja, necessitam de íons Ca^{2+} e Mn^{2+} para manter a estrutura adequada, de maneira que o domínio é mantido devido ao sítio de ligação à metal (MBS), sendo favorável na interação dos carboidratos e atividades biológicas. Apesar da grande semelhança estrutural entre as lectinas de leguminosas, a presença de modificações como as glicosilações podem tornar as estruturas quaternárias bem distintas, embora ocorram semelhanças nas estruturas primárias e secundárias dos monômeros, além da sequência e o arranjo quaternário que sofrem mínimas modificações são responsáveis pela diversidade de atividades biológicas de lectinas de leguminosas (CAVADA et al., 2001; LARGADA-DIAZ, 2017).

O domínio das lectinas de leguminosas tem um motivo conhecido como *jellyroll* ou dobramento β -sanduíche, não sendo específico para esta família, pois são associados também a proteínas virais. (ROSSMANN & ARGOS, 1981; LORYS, 1998). Esse motivo é conservado em todas as lectinas desta família, apresentando na sua estrutura uma folha- β estendida de seis filamentos e uma folha- β curvada de sete filamentos antiparalelos, unidas por uma terceira folha- β de cinco fitas que fica localizada na porção superior do motivo. Essas folhas são conectadas por alças, sendo visualizado semelhante a um sanduíche. Para manter a estabilidade, as interações não covalentes entre as folhas- β e a presença de dois núcleos hidrofóbicos são essenciais, sendo o núcleo principal localizado entre a folha traseira e a folha frontal e o outro núcleo localizado entre a folha frontal e uma região de loops (BANERJEE et al., 1996, LORYS, 1998).

No contexto acima, demonstra-se a estrutura de uma lectina do gênero *Bauhinia*, no qual a *Bauhinia forficata* (BfL) é a única com estrutura cristalográfica resolvida até o momento para este gênero, mostrando os domínios conservados dessa classe de leguminosas, além dos dois sítios de ligação a metal representados por esferas (figura 1) (LUBKOWSKI et al., 2017).

Figura 1: Estrutura tridimensional da lectina de sementes de *Bauhinia forficata* (BfL).



Fonte: Elaborado pelo autor.

1.5.1 Associação entre leguminosas e bactérias

Existe uma relação simbiótica mutualista entre as plantas de leguminosas e bactérias do gênero *Rhizobium* que colonizam as raízes e formam estruturas especializadas denominadas nódulos. Dentro desses nódulos, as bactérias convertem o nitrogênio atmosférico em uma forma que pode ser utilizada pela planta, um processo chamado de fixação de nitrogênio. A planta fornece à bactéria carboidratos e outros nutrientes, enquanto a bactéria fornece à planta compostos de nitrogênio (CAGE et al., 2004). Nesse processo, a capacidade dos rizóbios de formar diferentes tipos de biofilmes em uma variedade de superfícies pode contribuir para sua capacidade de colonização, além do que, pode ser

facilitada por interações moleculares específicas, como por exemplo, fixação mediada pelas ricadesinas e/ou lectinas (SMIT et al., 1989; RODRÍGUEZ-NAVARRO et al., 2007 DOWNIE et al., 2010; WANG et al., 2020).

A fixação de bactérias do solo às células vegetais é supostamente o passo inicial necessário nas interações planta-micróbio, no qual as lectinas vegetais podem desempenhar um papel importante, uma vez que estas proteínas poderiam servir como receptores para superfície que possui polissacarídeos na parede celular bacteriana. As interações específicas entre lectinas e bactérias podem variar dependendo dos tipos de lectinas e espécies bacterianas envolvidas. A falta de um sistema imunológico bem desenvolvido tornam as plantas mais propensas a infecções microbianas, bem como devido à incapacidade de locomoção. Assim, para garantir a perpetuação da espécie, órgãos reprodutivos são acumuladores de moléculas que atuam na defesa contra microorganismos invasores (HASAN et al., 2014).

A partir da purificação das lectinas em diversos organismos ou através de técnicas recombinantes é possível utiliza-las para fins biotecnológicos, dependendo de suas propriedades. As atividades antimicrobianas e anti-insetos das lectinas podem ser utilizadas no controle de patógenos, provavelmente devido à sua semelhança com glicanos encontrados na superfície celular de patógenos (DA SILVA et al., 2005; GEMEINER et al., 2009, FONSECA et al., 2022). Análises identificaram que existem diversos mecanismos pelos quais as lectinas combatem agentes infecciosos, a partir da sinalização realizada pelas lectinas pode ocorrer imobilização celular, além de mecanismos citotóxicos associados à inibição do crescimento e morte celular (FONSECA et al., 2022).

1.6.2 Bactérias

Van Leeuwenhoek, por volta dos anos 1670, foi o responsável pela criação do microscópio rudimentar, o que propiciou na observação de uma bactéria pela primeira vez, estas sendo contribuições valiosas para a microbiologia e medicina. Herbert Copeland, em 1956, definiu o Reino Monera como aquele que inclui os seres vivos procariontes, com células sem núcleo individualizado, no qual seus representantes são bactérias, cianobactérias e arqueobactérias. As bactérias são organismos unicelulares microscópicos que pertencem ao domínio Bacteria (PATRICK et al., 2005).

A biomassa total das bactérias, junto do domínio Archaea, foi estimada igual ao das plantas terrestres e marinhas, tornando-os os maiores representantes de biodiversidade da

Terra. Esses estudos indicaram que a maioria dos procariontes reside em três grandes habitats: água do mar, solo e subsuperfície do solo sedimentoso. Embora muitos outros habitats contenham populações densas, sua contribuição numérica para o número total de procariotos é pequena (WHITMAN et al., 1998).

Muitas vezes as bactérias podem adquirir resistência como uma resposta da bactéria frente ao amplo uso de antibióticos e sua presença no meio ambiente. Dessa forma, é importante compreender dos mecanismos bioquímicos e genéticos envolvidos na resistência bacteriana para contornar ao máximo as consequências desse fenômeno. Essa resistência é mais comum em ambientes hospitalares, mas também associada a diversos ambientes, podendo até atingir indivíduos saudáveis. Dito isto, é comum a resiliência desses microorganismos quando expostos a agentes químicos potentes. Os Antibióticos são substâncias naturais ou sintéticas que podem atuar inibindo a multiplicação de bactérias ou causar a morte dos microorganismos. A classificação quanto ao método de ação é dividida em bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostática, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALSH, 2003; PATRICK, 2005; GUIMARÃES, 2010).

No geral, 40-80% das células na Terra residem em biofilmes, sendo responsáveis por conduzirem todos os processos biogeoquímicos e representam a principal forma de vida bacteriana e arqueológica ativa. Os biofilmes são a estratégia de vida comum para as bactérias em ambientes naturais, tornando-as mais resistentes a qualquer tipo de estresse. Essas estruturas são compostas por populações ou comunidades de microorganismos incrustado em matriz polimérica autoproduzida (principalmente polissacarídeos extracelulares) que aderiram a superfícies ambientais que tenham adequada umidade (COSTERON et al., 1995).

A identificação precisa da espécie bacteriana é essencial, pois os padrões de suscetibilidade podem variar entre as diferentes espécies ou variantes (cepas). Espécies bacterianas e cepas de bactérias podem ser diferenciadas com base em mais de um critério, no qual a técnica Hibridização DNA-DNA ou DDH é a principal para classificação procariótica, com base em diferenças no DNA, tendo pelo menos 70% de hibridização cruzada, além de alterar pelo menos uma característica fenotípica para ser diferenciado de uma coleção de cepas, ou seja, uma espécie diferente (VANDAMME et al. 1996; STACKEBRANDT et al. 2002, KONSTANTINIDIS et al., 2006; WAYNE et al. 1987).

Muitas bactérias abordadas nesta revisão são árduamente estudadas, devido a sua patogenicidade e multirresistência, no qual podem se tornar um problema mais amplo no controle das doenças. Muitas delas causam severas infecções, como a *Listeria monocytogenes* que possui alta taxa de mortalidade por ser o agente causador da listeriose, doença de origem alimentar (BARANCELLI et al., 2011). Particularmente, bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*, do gênero *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. aureus*) e a família *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia marcescens*) são exemplos de microrganismos que podem causar sérias infecções e apresentam alta resistência (TENOVER et al., 2006). Além destas, as que residem nos biofilmes orais, como *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus mutans*, são capazes de ocasionar patogenicidade oportunista (THURNHEER et al., 2018). E também bactérias da pele, como a *Propionibacterium acnes*, que causa a patogênese da acne, no qual pode interagir com outras bactérias presentes no microbioma da pele, tais como o *Streptococcus pyogenes*, espécies de *Pseudomonas* e *S. epidermidis* que podem ser infecciosas (PLATSIDAKI et al., 2018).

Além disso, outras bactérias são pragas agrícolas de difícil controle, como a *Erwinia carotovora* que secreta exoenzimas que contribuem para a patogênese de infecções em diversos hospedeiros (JONES et al., 1993). O gênero *Xanthomonas* afeta diversas culturas de grande importância econômica. Exemplificando, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* é o agente causador da podridão negra, produzindo enzimas extracelulares que promovem a degradação da parede celular das brássicas, o que contribui para sua patogenicidade (DOW et al., 1990). Já a praga quarentenária *X. campestris* pv. *viticola* é o agente causal do cancro bacteriano da videira, causando manchas necróticas nas inflorescências e lesões escuras e grosseiramente arredondadas na raque e nas bagas (NAUE et al., 2014). A bacteriose *X. campestris* pv. *malvacearum* ataca as lavouras de algodão causando lesões angulares nas folhas que são inicialmente verdes e oleosas, e posteriormente marrons e necróticas (DELANNOY et al., 2005).

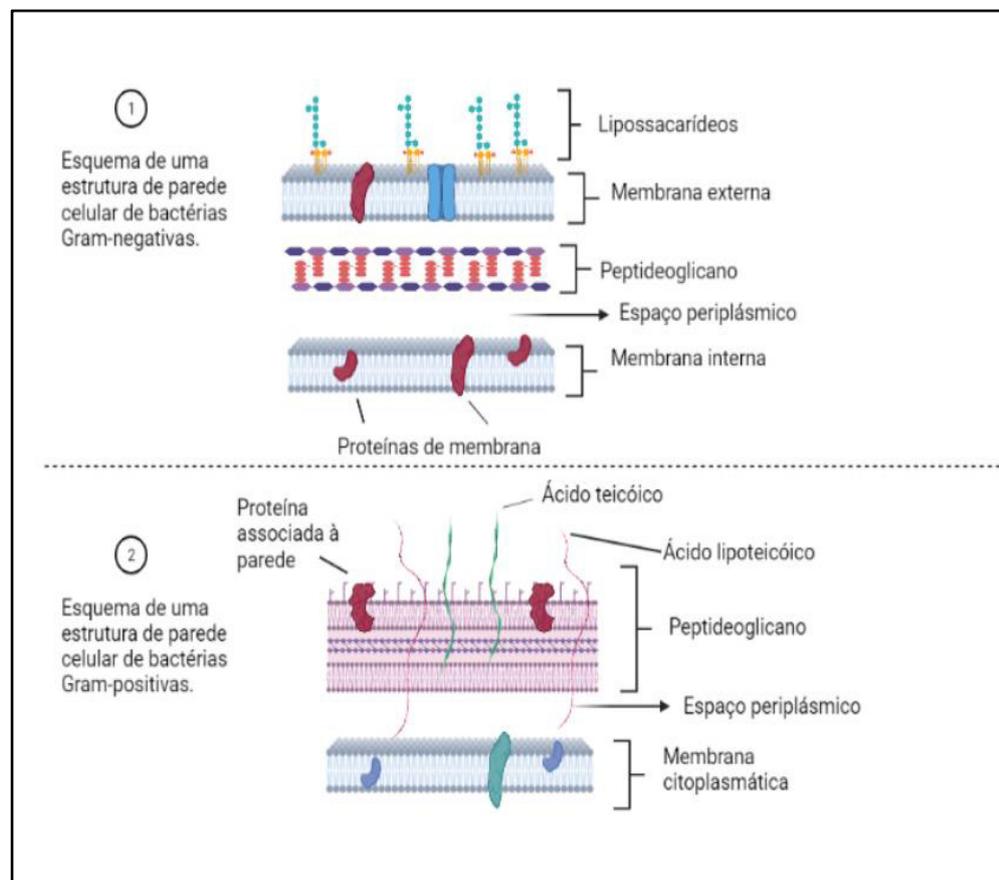
1.6.3 Atividade antibacteriana de lectinas de leguminosas

Diferentes lectinas têm diferentes especificidades de ligação a carboidratos, assim como as superfícies bacterianas podem exibir uma variedade de estruturas de carboidratos. Essas interações podem ter implicações para vários aspectos da fisiologia bacteriana, ecologia e interações patógeno-hospedeiro. Desse modo, devido a distribuição elevada de

peptidoglicano como um componente importante da superfície celular de bactérias, tal interação lectina-peptidoglicano pode ser responsável para o reconhecimento adequado, por exemplo, de bactérias do solo por suas plantas hospedeiras, para desencadear subsequentes relações saprofitas, simbióticas ou patogênicas entre os organismos (AYOUBA et al., 1994).

A atividade antibacteriana das lectinas resulta de sua interação com uma ampla variedade de carboidratos complexos da parede celular bacteriana. À vista disso, bactérias gram-negativas possuem lipopolissacarídeos em sua superfície e bactérias Gram-positivas possuem peptidoglicano, ácidos teicóico e teicurônico. Dessa forma, é mais complexo para a lectina atravessar a membrana externa e a parede celular de uma bactéria Gram-negativa para finalmente atingir o espaço periplasmático, diferentemente do alto nível de peptidoglicano que é expresso pelas bactérias Gram-positivas que fornece mais locais de interação com a lectina (GOMES et al., 2013).

Figura 2: Comparativo da parede celular de bactérias gram-negativas e gram-positivas.



Fonte: Elaborado pelo autor. Adaptado de SILVA, ARAÚJO et al., 2021.

Frequentemente, a atividade antimicrobiana das lectinas está relacionada ao seu domínio de reconhecimento de carboidratos (CRD). No entanto, o reconhecimento específico de ligação a glicanos de superfície presentes nos microrganismos nem sempre é indicativo desta biológica atividade. Além disso, o estado oligomérico dessas proteínas pode interferir em sua ação contra microrganismos (PROCÓPIO et al., 2017).

Devido ao fato de interagir com receptores de membrana bacteriana, a lectina leva a uma alteração no metabolismo celular de bactérias induzindo mudanças conformacionais. Por exemplo, *N*-acetilglicosamina está presente na parede celular de diferentes bactérias, assim as lectinas com afinidade por este açúcar podem ser associadas ao efeito antibacteriano, como no caso da lectina isolada da espécie *Apuleia leiocarpa* (ApulSL), que possui especificidade aos resíduos de *N*-acetilglucosamina (DE SOUZA CARVALHO et al., 2015).

Embora as lectinas possam exibir atividade antimicrobiana, sua toxicidade pode variar dependendo da lectina e do organismo alvo. Dito isso, os glicanos da superfície celular estão intrinsecamente relacionados com a patogenicidade de muitos microrganismos. Uma variedade de glicanos compõe a parede celular das bactérias, com o intuito de proteger os microrganismos de lise osmótica. Além disso, existem açúcares específicos expressos apenas em células procarióticas que podem ser consideradas alvos importantes para diagnóstico e ação de drogas (TRA; DUB et al., 2014). A primeira indicação de atividade antibacteriana é mostrada pela medição da zona de inibição no meio de ágar, sendo um método físico muito utilizado em testes de atividade antibacteriana. A difusão em disco de ágar fornece resultados qualitativos, tendo vantagens, como simplicidade, baixo custo, capacidade de testar um grande número de microrganismos e agentes antimicrobianos (VELAYUTHAM et al. 2017).

Experimentos de inibição de hapteno mostram que a maioria das lectinas que reagiram fortemente com componentes do peptidoglicano da parede celular pertencem à família *Leguminosae*, principalmente da tribo *Viciae*, no qual interagem com os componentes da parede celular bacteriana, ácido murâmico, ácido *N*-acetilmurâmico e dipeptídeos muramil (AYOUBA et al., 1994). Por exemplo, as lectinas de *Pisum sativum*, *Vicia faba* e *Lens culinaris*, específicas para manose e glicose, mostraram atividade antibacteriana contra *S. aureus*, *S. mutans*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*, cujos mecanismos possivelmente envolvem aglutinação (EL-ARABY et al., 2020).

No caso das lectinas com especificidade a Gal/GalNAc, *Bauhinia bauhinioides* (BBL) e *Vatairea macrocarpa* (VML), apresentaram diferentes respostas com atividade antibacteriana, atuando na redução do crescimento planctônico de microorganismos, como no caso da bactéria *S. epidermidis*, redução da biomassa e de biofilme de *S. aureus* e redução de biofilme de *P. aeruginosa* (VASCONCELOS et al., 2014). Já a lectina de *B. variegata* (BVL), também com especificidade para galactosídeos, demonstrou uma notável atividade antibacteriana contra as bactérias *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* e *B. subtilis* com diferentes concentrações da lectina. Foi proposto nesse estudo que as proteínas com ação antibacteriana formam um canal na membrana celular e a célula morre como um resultado do escoamento de conteúdos celulares (MISHRA et al., 2016).

Assim como a lectina recombinante de *B. variegata* (BVL-I), expressa em *Pichia pastoris*, inibiu bactérias orais como *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguinis*, possivelmente pela ligação com o carboidrato que seria utilizado para adesão bacteriana na superfície do dente ou em conexão direta com os componentes da cápsula, cobrindo a superfície bacteriana, devido ao fato de algumas bactérias patogênicas da região bucal possuírem um mecanismo de adesão na superfície do dente através da secreção de vários polissacarídeos extracelulares (KLAFKE et al., 2016). Além disso, outro estudo comparativo de atividade antibacteriana contra bactérias orais, no qual BVL e BVL-I (expressa em *E. coli*) apresentaram resultados semelhantes para aglutinação de eritrócitos e efeito de inibição de adesão em *S. sanguis*, *P. mutans* e *Streptococcus sobrinus* (KLAFKE et al., 2013).

Foi observada uma potente atividade antimicrobiana para a lectina de *Erythrina Senegalensis* (ESL) contra *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, no qual as concentrações inibitórias mínimas de ESL variaram entre 50 e 400 µg/ml. De acordo com Enoma (2023), foi observado, comparativamente, uma bioatividade parecida com *Chondrilla caribensis* (CCL) (MARQUES et al., 2018) e *Bufo arenarum* (LBP1) (SÁNCHEZ RIEIRA et al., 2003), lectinas específicas a lactose isoladas de esponja marinha e da pele do anfíbio, respectivamente.

A formação de biofilme ocorre com uma maior frequência de mutações e resistência a antibióticos associada a infecções bacterianas mais persistentes. O efeito antibiofilme apresentado pelas lectinas pode ser relacionado à capacidade dessas proteínas de se ligarem aos polissacarídeos das paredes celulares bacterianas, inibindo a adesão em superfícies e entre células bacterianas, também reduzindo a viabilidade celular bacteriana, pois interfere na

expressão de genes relacionados à formação do biofilme, que podem afetar a estrutura deste (MOURA et al., 2017). Nesse contexto, o uso indevido ou excessivo de antibióticos em ambientes médicos e agrícolas contribuiu para o rápido desenvolvimento e disseminação da resistência aos antibióticos (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. 2015) como no caso da gentamicina, que é relatado um aumento da resistência bacteriana e nefrotoxicidade em alguns casos (OLIVEIRA et al., 2006).

Estudos com a lectina de *Dioclea violacea* (DVL), específica para glicose e manose, mostraram a capacidade de modular a atividade antimicrobiana da gentamicina e reduzir a nefrotoxicidade induzida por esta droga. Quando DVL foi combinado com gentamicina, um aumento significativo na ação antibiótica foi observado contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A DVL também reduziu a tolerância a antibióticos em *S. aureus* durante 10 dias de tratamento contínuo. Investigações sugerem que os resultados obtidos podem estar diretamente relacionados à interação DVL-gentamicina e com a capacidade da lectina interagir com os glicanos presentes nas células do peritônio (LABBY et al., 2013, CAO et al., 2019, SANTOS et al., 2020).

Similarmente, a lectina de *Canavalia ensiformis* (Con A), específica para glicose e manose, não teve efeito antibacteriano significativo, mas potencializou a atividade da gentamicina contra *S. aureus* e *E. coli*. Já no caso da lectina de *Cratylia floribunda* (CFL), de mesma especificidade, demonstrou atividade na redução do crescimento de bactérias *S. epidermidis*, *S. aureus* e redução de biomassa em biofilmes, porém não foi capaz de reduzir o crescimento das bactérias gram-negativas. As diferenças nas atividades biológicas entre as lectinas da subtribo *Diocleinae* podem resultar de pequenas mudanças nas orientações relativas de seus sítios de ligação a carboidratos, sua especificidade de ligação para carboidratos complexos ou seu estado de oligomerização dependente de pH (CAVADA et al., 2001).

Tabela 1: Atividade antibacteriana de lectinas da família *Leguminosae*.

Espécie/ Lectina	Especificidade	Microorganismos afetados e MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Ação	Método	Referência
<i>Archidendron jiringa</i> (AJL)	N-acetilglicosamina, arabinose, azocaseína Manose/ glicose	<i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> (56.7) <i>B. subtilis</i> (227),	Bactericida	Método de diluição em ágar	CHARUNGCHITRA K et al., 2011
<i>Canavalia ensiformis</i> (Con A), <i>Lens culinaris</i> (LCA) e <i>Pisum sativum</i> (PSL/PSA)	D-manose e D-glicose	<i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> . (1000)	Bacteriostático	Método de difusão em poço de ágar.	NAIR et al., 2013
<i>Indigofera heterantha</i> (IHL)	D-galactose, D-manose e D-arabinose.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>B.subtilis</i> (500)	Bactericida	Método de difusão em disco	QADIR et al., 2013

<i>Cratylia floribunda</i> (CFL)	glicose/manose	<i>S. aureus</i> (31,25) e <i>S. epidermidis</i> (125)	Bacteriostático e bactericida	Método de microdiluição	VASCONCELOS et al., 2014
<i>Vatairea macrocarpa</i> (VML); <i>Bauhinia bauhinioides</i> (BBL)	Galactose e derivados	<i>S. aureus</i> (31,25; 125), <i>P. aeruginosa</i> (31,25; 31,25) e <i>S. epidermidis</i> (250; ausente)	Bactericida e Antibiofilme	Método de microdiluição	VASCONCELOS et al., 2014
<i>Apuleia leiocarpa</i> (ApulSL)	N-acetilglicosamina, d(-)-arabinose e azocaseína.	<i>X. campestris</i> (11.2 – 22.5)	Bactericida	Método de difusão em disco	DE SOUZA CARVALHO et al., 2015
<i>Bauhinia variegata</i> (BVL)	Galactose e N-acetilgalactosamina (GalNAc)	<i>B. subtilis</i> (5 – 12), <i>S. aureus</i> (5 – 11), <i>E. coli</i> , (7 – 13) e <i>P. aeruginosa</i> (5 – 11)	Bactericida	Método de difusão em ágar	MISHRA et al., 2016

<i>Calliandra surinamensis</i> (CasuL)	D-Manose, D-Glicose glicoproteínas e ovalbumina, fetuína e albumina de soro bovino.	<i>S. saprophyticus</i> (100) e <i>S. aureus</i> (400)	Antibiofilme	Método de aderência em placa de poliestireno	PROCÓPIO et al., 2017
<i>Phaseolus vulgaris</i> (PHA)	Complexos oligossacarídeos	<i>K. pneumoniae</i> (3.9 – 15.63) <i>P. aeruginosa</i> (31.25 – 125), <i>S. aureus</i> (7.81 – 31.25)	Bactericida	Método de difusão em poços de ágar	HAMED et al., 2017
<i>Cicer arietinum</i> L. (CAL)	Galactose e N-acetil-d-galactosamina	<i>S. marcescens</i> (80), <i>P. aeruginosa</i> (120), <i>B. subtilis</i> (140) e <i>E.coli</i> (180)	Bactericida	Método de difusão em disco de ágar.	FERREIRA et al., 2018
<i>Canavalia ensiformis</i> (Con A)	D-manose e D-glicose	<i>Escherichia coli</i> e <i>Listeria monocytogenes</i> (100)	Antibiofilme	Método de aderência em placa de poliestireno	JIN et al., 2019
<i>Parkia platycephala</i> (PPL)	Glicose/ manose	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> (>1024)	Bactericida	Método de microdiluição	SILVA et al., 2019

<i>Lens culinaris</i> (LCA), <i>Pisum sativum</i> (PSA) e <i>Vicia faba</i> (VFA)	D-manose e D-glicose	<i>K. pneumonia</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. aureus</i> (1.95 µg/ml)	Bacteriostático e Bactericida	Método de difusão em poços de ágar	EL-ARABY et al., 2020
<i>Dioclea violacea</i> (DVL)	gentamicina, glicose e manose	<i>S. aureus</i> ; <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> (≥1024)	Modulação + gentamicina	Método de microdiluição	SANTOS et al., 2020
<i>Cicerarietinum black</i> (CiarBL) e <i>Prunus dulcis</i> (PruDuNRL)	Glicose, maltose/ Glicose, sacarose, maltose, xilose.	<i>S. oralis</i> (5,16; 18,63) <i>S. pyogenes</i> (7,41; 3,34), <i>P. acnes</i> (5,61; 16,42), <i>S. aureus</i> (13,33;9;38).	Bactericida	Método de difusão em poço de ágar	KRISHNAVENI et al., 2022
<i>Erythrina senegalensis</i> (ESL)	Lactose específica	<i>E. carotovora</i> (50), <i>P. aeruginosa</i> (200), <i>K. pneumonia</i> (100), <i>S. aureus</i> (200)	Bactericida	Método de difusão em ágar	ENOMA et al., 2023

Apesar disso, o desenvolvimento de antibióticos a partir de lectinas apresenta muitas complicações, principalmente devido a dificuldade de síntese química e os custos de produção. Dessa forma, para contornar esses problemas, táticas como a produção recombinante dessas lectinas possuem vantagens de diminuir os custos e o tempo necessários para sua produção. Outra opção consiste em produzir essas lectinas usando plantas geneticamente modificadas, sendo esta uma das estratégias para diminuir os danos causados por patógenos em áreas agrícolas. Muitas lectinas de leguminosas apresentam potencial como ferramentas biotecnológicas, sendo que, *Bauhinia*, em particular, é um gênero de planta promissor, portanto, é abordado mais dessas lectinas nos próximos tópicos (DIAS et al., 2015; BEBBER et al., 2013; CAGLIARI et al., 2018)

1.7 Lectinas de *Cercidoideae*

A subfamília *Cercidoideae* é composta por 12 gêneros divididos em 335 espécies. Os gêneros são *Adenolobus*, *Barklya*, *Bauhinia*, *Brenierea*, *Cercis*, *Gigasiphon*, *Griffonia*, *Lysiphyllum*, *Phanera*, *Piliostigma*, *Schnella* e *Tylosema*. (LPWG, 2017). Nesse contexto, três gêneros da subfamília *Cercidoideae* apresentaram lectinas já purificadas: *Bauhinia* (SILVA et al 2012), *Griffonia* (LAMB et al., 1983, SHIBATA et al., 1982) e *Piliostigma* (NWOSU et al 2016), com o gênero *Bauhinia* apresentando o maior número de espécies com lectinas purificadas e caracterizadas (CAVADA et al., 2020).

O gênero mais conhecido e estudado em relação às lectinas dentro desta subfamília se destaca o de *Bauhinia* com 10 lectinas purificadas até 2018. Entre lectinas de *Bauhinia*, os procedimentos de purificação são muito semelhantes, sendo o principal deles o fracionamento de proteínas, seguido por cromatografia de afinidade (CAVADA et al., 2020).

As lectinas do gênero *Bauhinia* apresentam altas semelhanças entre si, que podem ser estendidas, mesmo entre lectinas de gêneros diferentes, como *Bauhinia* e *Griffonia*, que podem apresentar mais de 70% de semelhança. A estrutura terciária da BFL foi determinada por cristalografia de raios-X, sendo uma das mais bem caracterizada lectinas de *Bauhinia*. Nesse contexto, foi observado que as lectinas estruturalmente mais próximas da BFL são as duas hemaglutininas de *Griffonia simplicifolia* (CAGLIARI, 2018).

O gênero *Griffonia*, no qual a primeira, GSL-I, foi purificada em dois passos: a partir do extrato bruto foi realizado o fracionamento com sulfato de amônio seguido de uma cromatografia de afinidade em matriz de melibionato usando D-galactose como eluente

(HAYES; GOLDSTEIN, 1974). As isoformas da GSL-I foram obtidas usando cromatografias de afinidade em matrizes diferentes (MURPHY; GOLDSTEIN, 1977). A segunda lectina foi isolada de sementes da mesma planta e denominada GSL-II, sendo purificada em uma única etapa em uma coluna de afinidade de quitina, mostrando especificidade para N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc). Assim como as folhas de plantas maduras de *Griffonia simplicifolia* foram analisadas quanto à presença de lectinas, no qual possui especificidades de ligação ao açúcar semelhantes às quatro lectinas de sementes conhecidas (GS-I, GS-II, GS-III, GS-IV), no qual Três (GS-I, GS-II, GS-IV) das quatro lectinas de sementes de *G. simplicifolia* conhecidas estavam presentes nas folhas (LAMB et al., 1983, SHIBATA et al., 1982).

A maioria das lectinas de *Cercidoideae* parece ser glicosiladas, com a porcentagem de glicosilação variando de 3,1% para a lectina de *Griffonia simplicifolia* (HAYES; GOLDSTEIN, 1974) até 8,4% para a lectina de *Bauhinia forficata*. (SILVA et al., 2012). Entretanto, de acordo com as lectinas que foram avaliadas quanto a presença de glicosilação foi visto que a lectina de *Bauhinia bauhinoides* (SILVA et al., 2011) e a lectina de *Bauhinia pentandra* (SILVA et al., 2001) não são glicosiladas.

Comparativamente, os extratos brutos são fortemente aglutinados por sangue de coelho nativo e tratados com enzimas proteolíticas, assim como glóbulos vermelhos humanos nativos e tratados com enzimas. Como por exemplo, a lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) que é fortemente aglutinada por eritrócitos de coelho e humano mostrando preferência por sangue de coelho tratado com papaína e tripsina, assim como a *Bauhinia variegata* var. *variegata* (BvvL) também aglutina sangue de coelho, mas não sangue humano e também diferindo da lectina de *B. variegata* var. *candida* que não apresentou atividade hemaglutinante quando testada com eritrócitos de coelho e mostrou atividade quando testado com eritrócitos humanos. Esses resultados demonstram que diferenças entre lectinas de plantas da mesma espécie podem ser observadas a nível de variedades (PINTO et al, 2008; SILVA et al, 2007; CHAN et al., 2015; CAGLIARI, 2018).

Como também a BfL apresentou aglutinação contra eritrócitos de coelhos e humanos de todos os tipos sanguíneos com uma concentração mínima de 1 µg. (SILVA et al., 2012). Já para os extratos brutos de *B. purpurea* e *B. vahlii* apresentaram baixa atividade hemaglutinante quando testados com sangue do sistema ABO (Rajaram; Janardhanan, 1991). Além disso, também ocorre das lectinas desta subfamília aglutinar outros tipos de eritrócitos, como no caso da lectina de *Piliostigma thonningii* no qual a aglutinação foi vista contra

eritrócitos de galinha (NWOSU et al., 2016), já para a lectina de *B. pentandra* teve atividade para eritrócitos de coelho e fracamente para sangue humano, mas para eritrócitos de galinha e pombo não foram aglutinados (SILVA; HORTA; MOREIRA, 2001).

1.8 Gênero *Bauhinia*

O gênero *Bauhinia* é de suma importância na medicina popular visto que são usadas em tratamentos contra inflamação e diabetes, devido a compostos bioativos presentes no extrato que podem ajudar a diminuir os níveis de glicose no sangue e melhorar a sensibilidade à insulina, sendo fatores essenciais no controle do diabetes. Além disso, esses compostos podem ajudar a reduzir a inflamação no corpo, pois é uma associação com uma série de problemas crônicos de saúde. O potencial terapêutico das *Bauhinias* foi confirmado pela primeira vez em 1929, no qual estudos mostraram a capacidade de *B. forficata* em diminuir o nível de açúcar no sangue. Posteriormente, a capacidade antidiabética da planta foi comprovada em cães, humanos e coelhos (FILHO, 2009; JULIANI, 1931, 1941).

Nessa perspectiva, se tratando de lectinas extraídas das sementes do gênero *Bauhinia* muitas foram purificadas e avaliadas quanto às suas atividades biológicas. Similarmente, muitas delas apresentam especificidade por D-galactose e derivados, além de apresentar um perfil eletroforético composto por uma banda única de aproximadamente 30 kDa (SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2001).

Em relação ao processo de extração de proteínas a melhor condição variou em solução tamponada com pH entre 6,5 a 7,6 para a maioria das lectinas de *Bauhinia*, possuindo exceções como a BPL e a BvcL, que foram extraídas usando solução de NaCl 0,15 M (YAMAMOTO et al., 1991, SILVA et al., 2011). O extrato é então centrifugado e então é feita a precipitação por sulfato de amônio promovendo o efeito salting-out, seguido de diálise (WINGFIELD, 1998). As etapas seguintes incluem diferentes etapas cromatográficas, principalmente a cromatografia de afinidade, usando carboidratos específicos ligados a uma matriz, ou a própria matriz como adsorvente. As lectinas ligadas são então eluídas por competição, usando uma solução com o açúcar específico, ou através de mudança de conformação usando um tampão ácido (POHLEVEN et al., 2012).

Entretanto, outros métodos cromatográficos também foram utilizados, como a cromatografia de troca iônica pode ser usada antes da cromatografia de afinidade, com o intuito de melhorar a eficácia da purificação. Como também podem ser realizadas apenas

cromatografias de troca iônica, como no caso do processo de purificação para a lectina de *Bauhinia bauhinioides* que foram utilizados exclusivamente de matrizes de troca catiônica e aniônica. Além do mais, a cromatografia líquida de alta eficiência é também empregada frequentemente após a eluição de proteínas para obter rendimentos com maior pureza (CAGLIARI, 2018).

Nessa perspectiva, a lectina de *Bauhinia bauhinioides* possui especificidade aos açúcares α -metil-D-galactopiranosídeo e D-galactose e foi purificada em 2 passos cromatográficos, em matriz de DEAE-Sephacel seguida de uma cromatografia de troca catiônica em coluna HiTrap SP XL acoplada a um sistema de cromatografia líquida de alta Eficiência. A BbL é formada por 4 subunidades com pesos aparentes de 28 kDa. A BbL apresenta atividade pré e pró inflamatória, tendo um potencial como ferramenta para entender melhor os mecanismos envolvidos nas respostas inflamatórias (BOUGHTON-SMITH, 1993, SILVA et al., 2011, CAGLIARI, 2018).

Outra lectina já purificada é a isolada de sementes de *Bauhinia variegata* por cromatografia de afinidade em lactose-agarose, devido ao fato De a lectina ter sido melhor inibida pela D-galactose e seus derivados, principalmente a lactose. O SDS-PAGE mostrou que a BVL possui um padrão semelhante a outras lectinas isoladas do mesmo gênero, com massa molecular de 32 kDa (PINTO et al., 2008). Em um segundo estudo, foi descoberto a presença de isoformas (BVL-I e BLV-II), sendo a BVL-I altamente glicosilada (MOREIRA et al., 2013).

Comparativamente, a lectina isolada de sementes de *Bauhinia variegata* var. candida (BvcL) é específica a derivados de galactosídeos. A BvcL foi isolada por cromatografia de filtração em gel em Sephadex G-75 e cromatografia de afinidade em coluna de D-lactose imobilizada. O peso molecular aparente na condição não redutora apresenta duas bandas de 68 e 32 kDa e uma única banda de 32 kDa na condição redutora (SILVA et al., 2007).

Já a lectina de *Bauhinia variegata* var. variegata é uma proteína de ligação a glicosídeo e a galactosídeo, diferindo um pouco da BvL e da BvcL. A BvvL foi purificada através dos passos cromatográficos de cromatografia de afinidade em gel azul Affi-gel, cromatografia de troca iônica em Q-Sepharose e Mono Q, e também cromatografia de exclusão de tamanho em Superdex 75, sendo uma proteína de 64 kDa com duas subunidades de 32 kDa (CHAN et al., 2015).

A lectina de *Bauhinia purpurea* é uma lectina de ligação a galactose e lactose, no qual foi isolada em apenas 1 passo cromatográfico em cromatografia de afinidade em coluna de Sepharose-Lactose. A BPL possui 4 subunidades com pesos aparentes de 32 kDa. (YAMAMOTO et al., 1991). Além disso, a BPL tem sido avaliada quanto a estudos citotóxicos e imunológicos de células e tecidos sob condições patológicas ou malignas (WU et al., 2004).

Já as hemaglutininas de *Bauhinia monandra* possuem especificidade por D-galactose e foram isoladas de folhas e de raízes secundárias (COELHO et al., 2000). A BmOLL demonstrou exibir atividade hipoglicemiante (ROSILIO et al., 2004) e ação inseticida ao diminuir as taxas de sobrevivência em mais de 50% de *Zabrotes subfasciatus* e *Callosobruchus maculatus*, espécies conhecidas por danificarem sementes armazenadas (MACEDO et al., 2007).

A lectina de *Bauhinia pentandra* possui especificidade a α -D-Melibiose, D-Galactose, D-Rafinose e D-Lactose e foi purificada em apenas 1 passo cromatográfico em cromatografia de afinidade em coluna de Sepharose 4B e a lectina pura apresenta apenas uma subunidade com peso aparente de 30 kDa (SILVA et al., 2001).

No caso da *Bauhinia forficata*, a purificação ocorreu das sementes no qual foi realizado um fracionamento com sulfato de amônio, cromatografia de troca iônica DEAE-Sephadex, cromatografia de afinidade de Sepharose-4B e quitina, seguida de cromatografia de exclusão de tamanho Superdex 75. A homogeneidade molecular e a pureza de BfL foram avaliadas por HPLC de fase reversa. A BfL apresenta uma banda de aproximadamente 27,0 kDa em SDS-PAGE (SILVA et al., 2012).

A lectina de *Bauhinia unguolata* possui especificidade a N-D-acetilgalactosamina, D-Lactose e D-galactose e foi purificada em apenas um passo cromatográfico em cromatografia de afinidade em coluna de Agarose-Lactose, possuindo uma subunidade com peso aparente de 30 kDa. (SILVA et al., 2014). Além disso, a BUL é uma glicoproteína composta por 4,6% de carboidratos em peso. Da mesma forma, outras lectinas do mesmo gênero, como *B. purpurea* (IRIMURA, 1972), *Bauhinia monandra* (COELHO; SILVA, 2020), *Bauhinia variegata* var. *Candida* (LIS; SHARON, 1931) e *Bauhinia forficata* (SILVA et al., 2012), também são glicoproteínas.

As lectinas que pertencem a este gênero podem tolerar uma ampla faixa de pH sem nenhuma perda notável em sua atividade (CAGLIARI, 2018). Tal como a BvVL, que mantém sua atividade de hemaglutinação em uma faixa de pH de 3,0 a 10,0 (CHAN, 2014). Outras lectinas deste gênero têm valores de pH exatos para que sua funcionalidade seja maximizada. Como por exemplo, a BPL atinge seu pico de atividade em pH 7,6 (WU et al., 2004). Já outras possuem estabilidade em valores mais altos de pH, como a BbL que mantém sua atividade ótima com valores entre 8,0 e 9,0 e perdendo sua atividade completamente em pH 4,0 (SILVA et al., 2011).

Além disso, a atividade hemaglutinante da proteína é analisada em relação ao efeito de temperatura de acordo com as mudanças de conformação a ponto de causar a perda da atividade da proteína. (CAGLIARI, 2018). Podendo ocorrer uma estabilidade da proteína em determinadas temperaturas, como a BbL que é termoestável após a incubação a 60 °C durante 1 hora. Dentro do gênero *Bauhinia*, é observada uma variação de 40 °C para a lectina de *B. unguolata* (SILVA et al., 2014) a mais de 100 °C para a lectina de *B. forficata*. (SILVA et al., 2012),

As lectinas de leguminosas podem necessitar da presença de íons metálicos, apesar de não interagirem diretamente com os carboidratos, a presença destes faz com que a lectina consiga se dobrar em sua conformação funcional e estabilizar a estrutura quaternária. A presença de íons metálicos não parece ser um requisito para que a maioria das lectinas de *Bauhinia* mantenha sua atividade. É possível citar as lectinas BPL (WU et al., 2004), BPA (YAMAMOTO et al., 1991), BUL (SILVA et al., 2014) que exibem hemaglutinação dependente de íons metálicos.

Algumas lectinas de plantas apresentem efeitos tóxicos, estudos indicaram que as lectinas de *Bauhinia* geralmente exibem baixa toxicidade, como no caso da lectina de folhas de *Bauhinia monandra* foi avaliada quanto a sua toxicidade aguda em testes biológicos com camundongos fêmeas e com larvas de *Artemia salina*, no qual em ambos os casos foi observado a baixa toxicidade da BmoLL (ARAÚJO et al., 2019). Além do que, estas lectinas foram extensivamente estudadas e demonstraram possuir várias atividades biológicas já reportadas, tais como propriedades anti-inflamatória e antinociceptiva (CAMPOS, 2016), efeitos imunomoduladores (IMAI; OSAWA, 1983), atividade antifúngica (SOUZA, 2011), entre outras.

Tabela 2: Aplicações promissoras das lectinas extraídas das plantas do gênero *Bauhinia*.

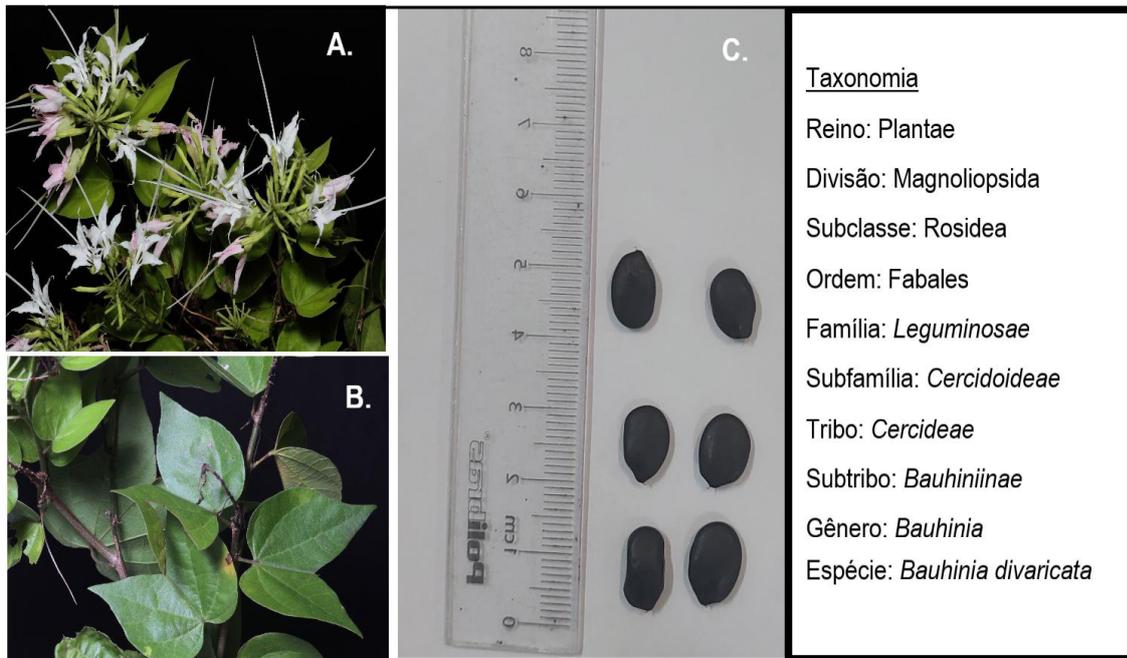
Lectinas	Atividades de interesse conhecidas
BBL	Anti-inflamatório, pró-inflamatório;
BFL	Anticoagulante, anticâncer (mama);
BmoLL	Antiinflamatório, inseticida, antinociceptivo;
BmoRoL	Antifúngico;
BPA	Imunomodulação, purificação de promastigotas metacíclicas de
BUL	<i>Leishmania braziliensis</i> , reconhecimento celular;
BVL	Anti-HIV, cicatrização de feridas, inibição da adesão celular
BvvL	bacteriana;
	Inibição da adesão de células bacterianas.

Fonte: Adaptado de CAGLIARI et al., 2018.

1.9 *Bauhinia divaricata*

Bauhinia divaricata L. é endêmica do sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina, com ocorrência nos bordos das matas, podendo ser encontrada na forma de arbusto ou árvore com até seis metros de altura. É uma espécie arbórea, amplamente distribuída no Brasil, de alto valor ornamental e econômico. Sua propagação ocorre por meio de sementes, no qual experimentos demonstraram que a temperatura de 25°C é ideal para expressar o maior potencial de germinação e vigor das sementes (ALVES et al., 2008). Estudos com a planta identificaram atividade antioxidante muito potente nas folhas e caule da *B. divaricata* devido a presença de polifenóis (CHAIRES-MARTINEZ, L. et al.2009). Além disso, suas folhas são utilizadas em casos de inflamações renais, como diuréticas, hipoglicemiantes e hipocolesteremiantes, sendo considerada uma planta medicinal de uso popular (LORENZI, 2002).

Figura 3: flor (A) Folhas (B), e sementes (C) de *Bauhinia divaricata*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve por objetivo detectar a presença de lectinas nos extratos protéicos de sementes de *Bauhinia divaricata* L e descobrir a melhor condição de extração.

2.2 Objetivos específicos

- Descascar as sementes e preparar a farinha utilizando dos protocolos convencionais de Química de Proteínas;
- Realizar o tratamento da farinha com n- hexano;
- Detectar a atividade hemaglutinante das lectinas a partir dos extratos de sementes de *Bauhinia divaricata* L em diferentes condições de extração;
- Realizar quantificação proteica pelo método de Bradford;
- Determinar atividade específica dos extratos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Origem do material vegetal

As sementes de *Bauhinia divaricata* L. foram adquiridas a partir da faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Paraíba, no município de Areia. As sementes foram conduzidas para o laboratório de moléculas biologicamente ativas (BioMol-Lab) já armazenadas em um recipiente fechado.

3.2 Eritrócitos de coelho

Para realização dos testes de atividade hemaglutinante foram utilizados eritrócitos provenientes de coelhos adultos e sadios da raça Nova Zelândia, mantidos no Biotério do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os eritrócitos de coelho foram submetidos à lavagem com solução refrigerada de NaCl 0,15M, e então centrifugado (3.500 xg, por 8 minutos a 4°C), com o intuito de separação total das hemácias dos glóbulos brancos. Este processo foi realizado até a obtenção de hemácias livres de outras células sanguíneas, necessitando de algumas lavagens consecutivas para esse propósito. Parte dessas hemácias foram ressuspensas em NaCl 0,15M numa concentração final de 2%, suspensão esta denominada de eritrócitos nativos e o restante foi submetido a tratamento enzimático com tripsina e papaína, sendo denominados de eritrócitos tratados.

3.3 Obtenção da farinha e tratamento em Hexano

As sementes de *B. divaricata* foram descascadas e os cotilédones obtidos foram submetidos ao processo de trituração em moinho elétrico até a obtenção de uma farinha fina. Foi constatada a presença de lipídios no material vegetal, por conta disso, a farinha fina foi delipidada com n-hexano, sendo necessárias duas extrações com o solvente durante uma hora. A farinha tratada (após evaporação do hexano) foi então armazenada em recipiente fechado para ser utilizada na extração proteica.

3.4 Extração total de proteínas solúveis

As proteínas solúveis contidas na farinha de sementes de *Bauhinia divaricata* foram extraídas em quatro condições: acetato de sódio 0,1 M pH 4,0, Tris-HCl 0,1 M pH 7,6, glicina-NaOH 0,1 M pH 9,0, todos contendo NaCl 0,15 M e também extração apenas em

NaCl 0,15M, todos na proporção 1:10 (p/v), sob agitação constante durante 4 horas. A suspensão obtida foi centrifugada a 10414 xg a uma temperatura de 4 °C por 20 minutos, que gerou um sobrenadante que foi filtrado e chamado de extrato total. O extrato total de cada extração foi utilizado para execução de ensaios de atividade hemaglutinante e de dosagem de proteínas solúveis.

3.5 Atividade hemaglutinante

A presença de lectina no extrato e nas diferentes frações protéicas foi determinada a partir de ensaios de aglutinação celular de acordo com o protocolo descrito por Moreira e Perrone (1977), quando foi observada a formação de precipitado visível macroscopicamente em placas de microtitulação. Dessa forma, o extrato total em cada condição foi submetido ao teste de atividade hemaglutinante usando hemácias de coelho ao longo das etapas de isolamento da lectina. As amostras foram diluídas em série e em duplicata, em tampão Tris-HCl 0,1 M pH 7,6 contendo NaCl 0,15 M, CaCl₂ e MnCl₂ 5mM contida na placa. Em 50µL de cada diluição adicionou-se 50µL da suspensão de hemácias nativas ou previamente tratadas com enzimas proteolíticas (papaína e tripsina) a 2% em NaCl 0,15 M. O ensaio foi incubado à 37 °C por 30 minutos, logo após foi deixado em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos. Os títulos de hemaglutinação foram determinados como sendo o inverso da maior diluição ainda capaz de apresentar aglutinação visível a olho nu, sendo medidos em Unidades de Hemaglutinação por mL (U.H./mL).

3.6 Dosagem de proteínas solúveis

A concentração de proteínas solúveis no extrato da farinha de *Bauhinia divaricata* obtidas durante o isolamento da lectina foi determinada pelo método apresentado por BRADFORD (1976), no qual em cada 100 µL de amostra, preparadas em diferentes concentrações, foram adicionados 2,5 ml do reagente de Bradford. A mistura foi deixada em repouso por 10 minutos no escuro e teve sua absorbância determinada a 595 nm em um espectrofotômetro de luz visível, e sua concentração foi determinada por uma curva padrão obtida com o uso de soluções de concentrações conhecidas de albumina sérica bovina (BSA).

3.7 Atividade Específica

A partir dos resultados de atividade Hemaglutinante, no qual foram obtidos os títulos de hemaglutinação e também dos resultados de quantificação de proteínas solúveis pelo método de Bradford, foi possível obter a atividade específica, no qual é feita a divisão do valor do título de hemaglutinação (U.H./mL) pelo valor da dosagem de proteínas solúveis (mg/mL), resultando num quociente expresso em U.H/mg (Unidade de hemaglutinação por miligrama de proteína). Dessa forma, a atividade específica é calculada para a monitoração da concentração/purificação da lectina investigada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desse modo, para cada condição foi feita a atividade hemaglutinante com eritrócitos de coelho, tratados e não tratados com enzimas proteolíticas. Foram obtidos títulos de 4 U.H/mL até 32 U.H/mL. Também foram mensurados os valores de quantificação de proteínas pelo método de Bradford, obtendo valores de 0,38 mg/mL até 2,15 mg/mL de proteínas totais extraídas. A partir disso, foi feita a relação de título de hemaglutinação por massa de proteínas totais, obtendo o cálculo de atividade específica em U.H/mg. Foram obtidos valores de atividade específica de 1,86 U.H/mg até 69,56 U.H/mg, conforme a tabela 01.

Tabela 3. Atividade hemaglutinante específica do screening de extração da farinha de *B. divaricata*.

Condição de extração	de Eritrócitos de coelho	Título de atividade hemaglutinante ¹ (U.H/mL)	Quantidade de proteínas solúveis ² (mg/mL)	Atividade específica ³ (U.H/mg)
Acetato 0,1M pH 4,0	Nativo	8	0,46	17,39
	Papaína	32	0,46	69,56
	Tripsina	32	0,46	69,56
Glicina 0,1M pH 9,0	Nativo	4	2,15	1,86
	Papaína	4	2,15	1,86
	Tripsina	8	2,15	3,72
Tris-HCl 0,1M pH 7,6	Nativo	4	0,38	10,52
	Papaína	4	0,38	10,52
	Tripsina	8	0,38	21,05

	Nativo	8	1,3	6,15
NaCl 0,15 M	Papaína	8	1,3	6,15
	Tripsina	8	1,3	6,15

Fonte: Elaborado pelo autor. ¹ hemaglutinação contra eritrócitos expressa em unidades de hemaglutinação. (U.H x mL). ² Concentração de proteínas solúveis. ³Atividade Hemaglutinante Específica calculada pela divisão entre a atividade hemaglutinante e concentração de proteínas.

Muitos são os fatores que influenciam a atividade das lectinas, tais como íons, pH e tratamentos térmicos (POVINELI et al., 2002). Por causa disso, é realizado um *screening* de extração para identificar a melhor condição para as lectinas presentes no material vegetal. Primeiramente, a farinha rica em gordura é submetida a um solvente orgânico para delipidar a amostra (CAGLIARI et al., 2018). A extração de lectinas de sementes de plantas do gênero *Bauhinia* normalmente é feita em solução tampão com pH próximo do neutro (6,5 a 7,6), com exceção da BPL extraída em NaCl 0,15 M (SILVA et al. 2001). A extração tamponada é preferida, pois mesmo as menores alterações no pH podem alterar a solubilidade da proteína. Todas as lectinas obtidas do gênero *Bauhinia* também apresentaram atividade hemaglutinante contra eritrócitos de coelhos, o que também foi confirmado para as lectinas de *B. divaricata* (CAGLIARI et al., 2018)

O resultado do *screening* mostrou que a melhor condição de extração foi obtida em pH ácido (acetato de sódio pH 4,0 com NaCl 0,15 M), no qual foi observado a melhor atividade específica (69,56 U.H/mg). A melhor atividade específica dos extratos em pH ácido (pH 2,6) também é vista para as lectinas de *B. variegata* (PINTO et al., 2008) e *B. pentandra* (SILVA et al 2001). Além disso, é possível observar que a atividade é potencializada quando utilizado os eritrócitos tratados com enzimas proteolíticas, devido ao fato destas enzimas permitirem que as lectinas tenham um maior acesso aos carboidratos que compõem o glicocálice, aumentando assim os títulos de hemaglutinação (NAGANO et al., 2002).

5. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que foi possível detectar a presença de lectinas no extrato protéico das sementes de *B. divaricata*. Além do que, foi observado que a melhor condição de extração ocorre em pH preferencialmente ácido, utilizando de eritrócitos tratados com enzimas proteolíticas, (papaína e tripsina). Mais testes de atividade hemaglutinante precisam ser realizados com outros tipos de eritrócitos, por exemplo, com eritrócitos humanos, para tentar obter um melhor título de hemaglutinação. A partir disso, outros testes podem ser realizados, de forma a isolar, purificar, caracterizar e realizar testes biológicos com as lectinas de *B. divaricata*.

6. REFERÊNCIAS.

ALVES, Edna Ursulino et al. Germinação e vigor de sementes de *Bauhinia divaricata* L. **Ciência Rural**, v. 38, p. 960-966, 2008.

Ayouba, A., Causse, H., Van Damme, E. J. M., Peumans, W. J., Bourne, Y., Cambillau, C., & Rougé, P. (1994). *Interactions of plant lectins with the components of the bacterial cell wall peptidoglycan*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 22(2), 153–159. doi:10.1016/0305-1978(94)90005-1

AZANI, N. et al. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: **The Legume Phylogeny Working Group (LPWG)**. *taxon*, v. 66, n. 1, p. 44-77, 2017.

BANERJEE, R. et al. Conformation, protein-carbohydrate interactions and a novel subunit association in the refined structure of peanut lectin-lactose complex. **Journal of molecular biology**, v. 259, n. 2, p. 281-296, 1996.

BARI, Alfa Umara et al. Lectins from *Parkia biglobosa* and *Parkia platycephala*: A comparative study of structure and biological effects. **International journal of biological macromolecules**, v. 92, p. 194-201, 2016.

Bebber, D.P.; Ramotowski, M.A.T.; Gurr, S.J. Crop pests and pathogens move polewards in a warming world. **Nat. Clim. Chang.** 2013, 3, 985–988

BELITZ, H.-D.; WEDER, J. K. P. Protein inhibitors of hydrolases in plant foodstuffs. **Food Reviews International**, v. 6, n. 2, p. 151-211, 1990.

BARANCELLI, Giovana Verginia et al. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p. 155-168, 2020.

BOTOS, I.; WLODAWER, A. Cyanovirin-N: a sugar-binding antiviral protein with a new twist. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 60, p. 277-287, 2003.

BOUGHTON-SMITH, N. K. et al. Nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease. **The Lancet**, v. 342, n. 8867, p. 338-e2, 1993.

BOURNE, Yves et al. Interaction of a legume lectin with two components of the bacterial cell wall. A crystallographic study. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 13, p. 9429-9435, 1994.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. C SILVA, H. et al. Purification and partial characterization of a new pro-inflammatory lectin from *Bauhinia bauhinioides* Mart (Caesalpinoideae) seeds. **Protein and Peptide Letters**, v. 18, n. 4, p. 396-402, 2011.

BREITENBACH BARROSO COELHO, L. C. et al. Lectins as antimicrobial agents. **Journal of applied microbiology**, v. 125, n. 5, p. 1238-1252, 2018.

CAGLIARI, Rafael; KREMER, Frederico Schmitt; DA SILVA PINTO, Luciano. Bauhinia lectins: Biochemical properties and biotechnological applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 811-820, 2018.

CAO, Liying et al. Combinational effect of curcumin and metformin against gentamicin-induced nephrotoxicity: Involvement of antioxidative, anti-inflammatory and antiapoptotic pathway. **Journal of food biochemistry**, v. 43, n. 7, p. e12836, 2019.

CHAIRES-MARTINEZ, L. et al. Determination of radical scavenging activity of hydroalcoholic and aqueous extracts from *Bauhinia divaricata* and *Bougainvillea spectabilis* using the DPPH assay. **Pharmacognosy Research**, v. 1, n. 5, 2009.

CHARUNGCHITRAK, Sarinya et al. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendron jiringa* Nielsen. **Food chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1025-1032, 2011.

CHEN, Pengyu et al. Can plant lectins help to elucidate insect lectin-mediated immune response?. **Insects**, v. 12, n. 6, p. 497, 2021.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. C SILVA, H. et al. Purification and partial characterization of a new pro-inflammatory lectin from *Bauhinia bauhinioides* Mart (Caesalpinoideae) seeds. **Protein and Peptide Letters**, v. 18, n. 4, p. 396-402, 2011.

BOURNE, Yves et al. Interaction of a legume lectin with two components of the bacterial cell wall. A crystallographic study. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 13, p. 9429-9435, 1994.

BOURNE, Yves et al. Structural basis for the unusual carbohydrate-binding specificity of jacalin towards galactose and mannose. **Biochemical Journal**, v. 364, n. 1, p. 173-180, 2002.

BREITENBACH BARROSO COELHO, L. C. et al. Lectins as antimicrobial agents. **Journal of applied microbiology**, v. 125, n. 5, p. 1238-1252, 2018.

CAGLIARI, Rafael; KREMER, Frederico Schmitt; DA SILVA PINTO, Luciano. Bauhinia lectins: Biochemical properties and biotechnological applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 811-820, 2018.

CAVADA, Benildo Sousa et al. 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 and Peptide Science**, v. 2, n. 2, p. 123-135, 2001.

CAVADA, B. S. et al. Purification and characterization of a lectin from seeds of *Vatairea macrocarpa* Duke. **Phytochemistry**, v. 49, n. 3, p. 675-680, 1998.

CAVADA, B. S. et al. Comprehensive review on Caesalpinioideae lectins: From purification to biological activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 333-348, 2020.

CAVADA, B. S. et al. 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 and Peptide Science**, v. 2, n. 2, p. 123- 135, 2001.

CHAN, Yau Sang; NG, Tzi Bun. Bauhinia variegata var. variegata lectin: isolation, characterization, and comparison. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 175, p. 75-84, 2015.

CHARUNGCHITRAK, Sarinya et al. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of Archidendron jiringa Nielsen. **Food chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1025-1032, 2011.

CHATTERJEE, Tanaya et al. Antibacterial effect of silver nanoparticles and the modeling of bacterial growth kinetics using a modified Gompertz model. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1850, n. 2, p. 299-306, 2015.

COELHO, L. C. B. B; DA SILVA, M. B. R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of Bauhinia monandra. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 11, n. 5, p. 295-300, 2000.

CORREIA, S. E. G. Purificação e caracterização físico-química de lectina isolada de sementes de Dalbergia ecastophyllum (L.) Taub. 2019. FILHO, V. C. Chemical composition and biological potential of plants from the genus Bauhinia. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 23, n. 10, p. 1347-1354, 2009.

DAMME, Els JM Van et al. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 17, n. 6, p. 575-692, 1998.

DE HOFF, Peter L.; BRILL, Laurence M.; HIRSCH, Ann M. Plant lectins: the ties that bind in root symbiosis and plant defense. **Molecular genetics and genomics**, v. 282, p. 1-15, 2009.

DESAKI, Yoshitake et al. Plant immunity and symbiosis signaling mediated by LysM receptors. **Innate Immunity**, v. 24, n. 2, p. 92-100, 2018.

DE SOUZA CARVALHO, Aline et al. Purification, characterization and antibacterial potential of a lectin isolated from Apuleia leiocarpa seeds. **International journal of biological macromolecules**, v. 75, p. 402-408, 2015.

DE SCHUTTER, Kristof; VAN DAMME, Els JM. Protein-carbohydrate interactions as part of plant defense and animal immunity. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 9029-9053, 2015.

DEVI, Sruchi; KUMAR, Arvind. Plant Lectins Classes: A Review. 2019.

DIAS, Renata de Oliveira et al. Insights into animal and plant lectins with antimicrobial activities. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 519-541, 2015.

DOW, J. MAXWELL et al. Extracellular proteases from *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, the black rot pathogen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 10, p. 2994-2998, 1990.

DOWNIE, J. Allan. The roles of extracellular proteins, polysaccharides and signals in the interactions of rhizobia with legume roots. **FEMS microbiology reviews**, v. 34, n. 2, p. 150-170, 2010.

EL-ARABY, Magda M. et al. Characterization and antimicrobial activity of lectins purified from three Egyptian leguminous seeds. **AMB Express**, v. 10, p. 1-14, 2020.

ENOMA, Samuel et al. Antimicrobial activities and phylogenetic study of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) seed lectin. **BioTechnologia**, v. 104, n. 1, p. 21, 2023.

FERREIRA, Gustavo Ramos Salles et al. Antimicrobial potential of *Alpinia purpurata* lectin (ApuL): Growth inhibitory action, synergistic effects in combination with antibiotics, and antibiofilm activity. **Microbial pathogenesis**, v. 124, p. 152-162, 2018.

ESCH, Lara; SCHAFFRATH, Ulrich. An update on jacalin-like lectins and their role in plant defense. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 7, p. 1592, 2017.

FILHO, V. C. Chemical composition and biological potential of plants from the genus *Bauhinia*. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 23, n. 10, p. 1347-1354, 2009.

FOLLMER, C.; WASSERMANN, G. E.; CARLINI, C. R. Separation of Jack (*Canavalia ensiformis*) urease isoforms by immobilized metal affinity chromatography and characterization of insecticidal properties unrelated to ureolytic activity. **Plant Science**. v.167, p.241-246, 2004.

FONSECA, Victor Juno Alencar et al. A review on the antimicrobial properties of lectins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 195, p. 163-178, 2022.

GABIUS, Hans-Joachim. Concepts of tumor lectinology. **Cancer investigation**, v. 15, n. 5, p. 454-464, 1997.

GABIUS, Hans-Joachim. Concepts of tumor lectinology. **Cancer investigation**, v. 15, n. 5, p. 454-464, 1997.

GOLDSTEIN IJ, HUGHES RC, MONSIGNY M, OSAWA T, SHARON N. What should be called a lectin?. **Nature**; 285:66, 1980. INBAR, Michael; BEN-BASSAT, Hannah; SACHS, Leo. Difference in the mobility of lectin sites on the surface membrane of normal lymphocytes and malignant lymphoma cells. **International Journal of Cancer**, v. 12, n. 1, p. 93-99, 1973.

HAWES, M. C. et al. Function of root border cells in plant health: Pioneers in the rhizosphere. **Annual review of phytopathology**, v. 36, n. 1, p. 311-327, 1998.

HOPPER, Jonathan TS et al. The tetrameric plant lectin BanLec neutralizes HIV through bidentate binding to specific viral glycans. **Structure**, v. 25, n. 5, p. 773-782. e5, 2017.

INBAR, Michael; BEN-BASSAT, Hannah; SACHS, Leo. Difference in the mobility of lectin sites on the surface membrane of normal lymphocytes and malignant lymphoma cells. **International Journal of Cancer**, v. 12, n. 1, p. 93-99, 1973.

IRIMURA, Tatsuuro; OSAWA, Toshiaki. Studies on a hemagglutinin from Bauhinia purpurea alba seeds. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 151, n. 2, p. 475-482, 1972.

ISLAM, Barira; KHAN, Asad U. Lectins: To combat infections. **Protein purification**, v. 1, p. 167-188, 2012.

GOLDSTEIN IJ, HUGHES RC, MONSIGNY M, OSAWA T, SHARON N. What should be called a lectin?. **Nature**; 285:66, 1980.

GOLDSTEIN, Irwin J. Purification and characterization of Griffonia simplicifolia leaf lectins. **Plant physiology**, v. 71, n. 4, p. 879-887, 1983.

GUIMARÃES, Denise Oliveira; MOMESSO, Luciano da Silva; PUPO, Mônica Tallarico. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

JAIN, Monika et al. Insights into biological role of plant defense proteins: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 40, p. 102293, 2022.

JIN, X.; LEE, Y. J.; HONG, SeokHoon. Canavalia ensiformis-derived lectin inhibits biofilm formation of enterohemorrhagic Escherichia coli and Listeria monocytogenes. **Journal of applied microbiology**, v. 126, n. 1, p. 300-310, 2019

JULIANI, C. Ação hipoglicemiante da "Unha de vacca. Bauhinia forficatà). **Jornal dos Clínicos**, v. 12, n. 12, p. 165-169, 1931.

JULIANI, C. Ação hipoglicemiante da Bauhinia forficata Link. Novos estudos clínicos e experimentais. **Jornal dos Clínicos**, v. 3, p. 93-112, 1941.

LANNOO, Nausicaä; VAN DAMME, Els JM. Nucleocytoplasmic plant lectins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1800, n. 2, p. 190-201, 2010.

KLAFKE, Gabriel Baracy et al. Inhibition of initial adhesion of oral bacteria through a lectin from *Bauhinia variegata* L. var. *variegata* expressed in *Escherichia coli*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 5, p. 1222-1230, 2013.

KLAFKE, Gabriel Baracy et al. Lectin I from *Bauhinia variegata* (BVL-I) expressed by *Pichia pastoris* inhibits initial adhesion of oral bacteria in vitro. **International journal of biological macromolecules**, v. 93, p. 913-918, 2016.

KONSTANTINIDIS, Konstantinos T.; RAMETTE, Alban; TIEDJE, James M. The bacterial species definition in the genomic era. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 361, n. 1475, p. 1929-1940, 2006.

KRISHNAVENI, M.; KAVIPRIYA, M.; JAYASUDHA, J. B. Extraction and characterization of lectin from *Cicerarietinum* black and *Prunusdulcis* nut raw, its anti-inflammatory, antibacterial activity against oral pathogens. **Materials Today: Proceedings**, v. 51, p. 1706-1713, 2022.

LABBY, Kristin J.; GARNEAU-TSODIKOVA, Sylvie. Strategies to overcome the action of aminoglycoside-modifying enzymes for treating resistant bacterial infections. **Future medicinal chemistry**, v. 5, n. 11, p. 1285-1309, 2013.

LAMB, Jamie E.; SHIBATA, Satoaki; GOLDSTEIN, Irwin J. Purification and characterization of *Griffonia simplicifolia* leaf lectins. **Plant physiology**, v. 71, n. 4, p. 879-887, 1983.

LANNOO, Nausicaä; VAN DAMME, Els JM. Lectin domains at the frontiers of plant defense. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 397, 2014.

LORIS, Remy et al. Legume lectin structure. **Biochimica et biophysica acta (BBA)-Protein structure and molecular enzymology**, v. 1383, n. 1, p. 9-36, 1998.

LORIS, Remy. Principles of structures of animal and plant lectins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1572, n. 2-3, p. 198-208, 2002. Lagarda-Diaz I, Guzman-Partida AM, Vazquez-Moreno L. Legume Lectins: Proteins with Diverse Applications. **International Journal of Molecular Sciences**. 2017; 18(6):1242. <https://doi.org/10.3390/ijms18061242>

LUBKOWSKI, Jacek et al. Structural analysis and unique molecular recognition properties of a *Bauhinia forficata* lectin that inhibits cancer cell growth. **The FEBS journal**, v. 284, n. 3, p. 429-450, 2017.

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

MISHRA, Ravi Prakash; GANAIE, Aijaz Ahmad; ALLAIE, Aashiq Hussain. Isolation and purification of a Galactose specific lectin from seeds of Bauhinia variegata and evaluation of its antimicrobial potential. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 7, n. 2, p. 804, 2016.

MARQUES, Dayara Normando et al. Antibacterial activity of a new lectin isolated from the marine sponge Chondrilla caribensis. **International journal of biological macromolecules**, v. 109, p. 1292-1301, 2018.

MOURA, M. C. et al. Multi-effect of the water-soluble Moringa oleifera lectin against Serratia marcescens and Bacillus sp.: antibacterial, antibiofilm and anti-adhesive properties. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 4, p. 861-874, 2017.

MOREIRA, Gustavo MSG et al. Structure predictions of two Bauhinia variegata lectins reveal patterns of C-terminal properties in single chain legume lectins. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e81338, 2013.

NAGANO, C. S. et al. Purification and characterization of a new lectin from the red marine alga Hypnea musciformis. **Protein and Peptide Letters**, v. 9, n. 2, p. 159-165, 2002.

NAIR, Sindhu Syama et al. Comparative analysis of the antibacterial activity of some phytolectins. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 2, n. 2, p. 18-22, 2013.

NAKAMURA-TSURUTA, Sachiko et al. Evidence that Agaricus bisporus agglutinin (ABA) has dual sugar-binding specificity. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 347, n. 1, p. 215-220, 2006.

NAUE, Carine Rosa et al. Effect of treatment of Red Globe'vine cuttings on the control of bacterial canker caused by Xanthomonas campestris pv. viticola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 853-861, 2014.

NWOSU, Oluchi Ekwutosi et al. Detection and isolation of novel lectin gene from Piliostigma thonningii seeds. **Am J Biochem**, v. 6, p. 72-81, 2016.

OLIVEIRA, Rinalda A. et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 77-82, 2006.

PATRICK, Graham L. **An introduction to medicinal chemistry**. Oxford university press, 2023.

PEUMANS, Willy J.; VAN DAMME, E. J. Lectins as plant defense proteins. **Plant physiology**, v. 109, n. 2, p. 347, 1995.

POVINELI, Karen Lentini; FINARDI FILHO, Flavio. As multiplas funções das lectinas vegetais. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr.** p. 135-156, 2002.

QADIR, Sakeena et al. Evaluation of antimicrobial activity of a lectin isolated and purified from *Indigofera heterantha*. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 4, n. 11, p. 999-1006, 2013.

RAMOS, Dalila de Brito Marques et al. Antimicrobial activity of *Cladonia verticillaris* lichen preparations on bacteria and fungi of medical importance. **Chinese Journal of Biology**, v. 2014, 2014.

REMMELINK, Myriam et al. In vitro influence of lectins and neoglycoconjugates on the growth of three human sarcoma cell lines. **Journal of cancer research and clinical oncology**, v. 125, p. 275-285, 1999

ROSSMANN, Michael G.; ARGOS, Patrick. Protein folding. **Annual review of biochemistry**, v. 50, n. 1, p. 497-532, 1981.

SÁNCHEZ RIERA, Alicia et al. Antibacterial activity of lactose-binding lectins from *Bufo arenarum* skin. **Biocell**, v. 27, n. 1, p. 37-46, 2003.

SHARON, Nathan; LIS, Halina. Lectins as cell recognition molecules. **Science**, v. 246, n. 4927, p. 227-234, 1989.

SHARON, Nathan; LIS, Halina. Legume lectins—a large family of homologous proteins. **The FASEB journal**, v. 4, n. 14, p. 3198-3208, 1990.

SHARON, N.; LIS, H. 110 years of lectin research. **Carbohydr. Eur**, v. 23, p. 12-17, 1998.

SHIBATA, Satoaki; GOLDSTEIN, Irwin J.; BAKER, Donald A. Isolation and characterization of a Lewis b-active lectin from *Griffonia simplicifolia* seeds. **Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 16, p. 9324-9329, 1982.

SANTOS, Andréa FS et al. Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications. 2014.

SILVA, Andre Luis Coelho da; HORTA, Ana Cecilia Goes; MOREIRA, Renato de Azevedo. Isolation and partial characterization of a lectin from *Bauhinia pentandra* (bong) vog. Ex. Steua. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 262-269, 2001.

SILVA, Nathália Regina Galvão; ARAÚJO, Francielly Negreiros de. Antibacterial activity of plant lectins: a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, 2021.

ŠULÁK, Ondřej et al. *Burkholderia cenocepacia* BC2L-C is a super lectin with dual specificity and proinflammatory activity. **PLoS pathogens**, v. 7, n. 9, p. e1002238, 2011.

TRINDADE, Alexandre et al. Endothelial Dll4 overexpression reduces vascular response and inhibits tumor growth and metastasization in vivo. **BMC cancer**, v. 17, n. 1, p. 1-13, 2017.

QADIR, Sakeena et al. Evaluation of antimicrobial activity of a lectin isolated and purified from *Indigofera heterantha*. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 4, n. 11, p. 999-1006, 2013.

PLATSIDAKI, Eftychia; DESSINIOTI, Clio. Recent advances in understanding *Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*) in acne. **F1000Research**, v. 7, 2018

PROCÓPIO, Tamara Figueiredo et al. CasuL: a new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. **International journal of biological macromolecules**, v. 98, p. 419-429, 2017.

PLATSIDAKI, Eftychia; DESSINIOTI, Clio. Recent advances in understanding *Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*) in acne. **F1000Research**, v. 7, 2018.

PROCÓPIO, Tamara F. et al. Antibacterial lectins: action mechanisms, defensive roles and biotechnological potential. **Antibacterials: synthesis, properties and biological activities**, p. 69-89, 2017.

SANTOS, Valdenice F. et al. *Dioclea violacea* lectin modulates the gentamicin activity against multi-resistant strains and induces nephroprotection during antibiotic exposure. **International journal of biological macromolecules**, v. 146, p. 841-852, 2020.

SILVA, Nathália Regina Galvão; ARAÚJO, Francielly Negreiros de. Antibacterial activity of plant lectins: a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, 2021.

SILVA, Romerio RS et al. *Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of *Haemonchus contortus*. **Microbial pathogenesis**, v. 135, p. 103629, 2019.

TENOVER, Fred C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **The American journal of medicine**, v. 119, n. 6, p. S3-S10, 2006.

TSANEVA, M; VAN DAMME, E. J. M. 130 years of plant lectin research. **Glycoconjugate journal**, v. 37, n. 5, p. 533-551, 2020.

VANDAMME, Peter et al. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. **Microbiological reviews**, v. 60, n. 2, p. 407-438, 1996.

VAN DAMME, E. J. M. et al. Plant Lectins: A Composite of Several Distinct Families of Structurally and Evolutionary Related Proteins with Diverse Biological Roles. **Critical Reviews In Plant Sciences**, [s.l.], v. 17, n. 6, p.575-692, nov. 1998.

VAN DAMME, E. J. M. et al. Molecular cloning of two different mannose-binding lectins from tulip bulbs. **European journal of biochemistry**, v. 236, n. 2, p. 419-427, 1996.

VAN DAMME, E. J. M; LANNOO, N; PEUMANS, Willy J. Plant lectins. In: Advances in botanical research. Academic Press, 2008. p. 107-209. VAN HOLLE, S; VAN DAMME, E. J. M. Messages from the past: New insights in plant lectin evolution. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 36, 2019.

VAN HOLLE, Sofie; VAN DAMME, Els JM. Messages from the past: New insights in plant lectin evolution. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 36, 2019.

VAN HOLLE, Sofie; VAN DAMME, Els JM. Signaling through plant lectins: modulation of plant immunity and beyond. **Biochemical Society Transactions**, v. 46, n. 2, p. 217-233, 2018.

VAN PARIJS, Jan et al. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. **Planta**, v. 183, n. 2, p. 258-264, 1991.

VASCONCELOS, Mayron Alves et al. Effect of algae and plant lectins on planktonic growth and biofilm formation in clinically relevant bacteria and yeasts. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

WALSH, Christopher et al. Antibiotics: actions, origins, resistance. **American Society for Microbiology (ASM)**, 2003.

WAYNE, P. Clinical and Laboratory Standards Institute: methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A7, CLSI, USA, 2006.

WU, Albert M. et al. Recognition profile of Bauhinia purpurea agglutinin (BPA). **Life sciences**, v. 74, n. 14, p. 1763-1779, 2004.

YU, Lugang et al. Reversible inhibition of proliferation of epithelial cell lines by *Agaricus bisporus* (edible mushroom) lectin. **Cancer research**, v. 53, n. 19, p. 4627-4632, 1993.