

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

Amanda Alves da Rocha

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HIPOGLICEMIANTE DE LECTINA
DE *Crataeva tapia* E SEUS EFEITOS FISIOLÓGICOS EM
CAMUNDONGOS

Recife 2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HIPOGLICEMIANTE DE *Crataeva
tapia* E SEUS EFEITOS FISIOLÓGICOS EM CAMUNDONGOS**

Pesquisa apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Mestranda: Amanda Alves da Rocha
Orientadora Vera Lúcia de Menezes Lima

Recife 2013

Catálogo na Fonte:
Elaine Cristina Barroso
CRB 1728

Rocha, Amanda Alves da

Avaliação da atividade hipoglicemiante de lectina de *Crataevatapia* seus efeitos fisiológicos em camundongos/ Amanda Alves da Rocha. – Recife: O Autor, 2013.

44f.: il., fig., tab.

Orientadora: Vera Lúcia Menezes Lima

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Ciências Biológicas. Bioquímica, 2013.

Inclui bibliografia

1. Lectinas I. Lima, Vera Lúcia Menezes (orientadora) II. Título

572.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2014-298

Amanda Alves da Rocha

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HIPOGLICEMIANTE DE *Crataeva*
tapia E SEUS EFEITOS FISIOLÓGICOS EM CAMUNDONGOS**

Pesquisa apresentada ao curso de
pós-graduação em Ciências
Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco-UFPE,
como requisito para obtenção do
título de Mestre.

Aprovada em: 18/03/2013.

Prof. Dra. VERA LÚCIA DE MENEZES LIMA

Prof. Dra. MARIA TEREZA DOS SANTOS CORREIA

Prof. Dra. FLÁVIA FABIANNY BARBOSA ARAÚJO

Prof. Dra. PATRÍCIA MARIA GUEDES PAIVA

Prof. Dra MÁRCIA VANUSA DA SILVA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela minha existência, aos coordenadores da pós-graduação em Ciências Biológicas da UFPE em especial a Prof. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia e Vera Lúcia de Menezes Lima, não só grandes pesquisadoras, mas também, pessoas de grande caráter que devo agradecimento e reconhecimento por minha inserção na pesquisa.

Agradeço a CAPES, FACEPE E CNPQ pelo financiamento do trabalho desenvolvido na Universidade Federal de Pernambuco.

Agradeço a minha orientadora Vera Menezes, pela calma e paciência na elaboração da pesquisa. Agradeço aos meus familiares pelo apoio, de um modo especial a minha mãe Maria Alves por sua paciência, incentivo e por acreditar em mim.

Agradeço aos meus amigos Tiago Araújo, Meiriane Nova, José Roberto, Albérico Real, Chris, Raiana e Mychely pelo apoio e ajuda nos momentos de dificuldade, aos meus colegas de turma do mestrado em Ciências Biológicas pelos bons momentos de alegria e estresse também, pois as adversidades fazem parte da vida e do nosso crescimento pessoal

Agradeço as pessoas que de alguma forma foram responsáveis pelo desenvolvimento dessa pesquisa.

RESUMO

As Lectinas, dentre todos os tipos de proteínas existentes são macromoléculas conhecidas por sua habilidade de aglutinar células, especialmente eritrócitos de diferentes espécies animais. A especificidade da lectina é definida em função do monossacarídeo que mais eficazmente inibe sua atividade, trata-se de um critério para classificar lectinas de plantas em grupos de especificidade: grupo fucose, grupo galactose/N-acetilgalactosamina, grupo N-acetilglicosamina, grupo manose, grupo ácido siálico e grupo glicanos complexos. A *Crataeva tapia* é uma planta da família Caparidaceae, que ocorre desde Pernambuco até São Paulo e Minas Gerais (Zona da Mata), na mata pluvial Atlântica e no Pantanal Mato-grossense, sendo chamada popularmente de cabaceira, cabeceira, cabaceira-do-pantanal e pau-d'alho, porém é mais conhecida como tapiá. Sua madeira tem sido empregada na construção civil, em forros, caixotaria e confecção de canoas. As flores são apícolas, os frutos são comestíveis e muito apreciados pela fauna. Frutos, cascas e folhas são considerados de valor medicinal. Pesquisas revelam que extratos dessa entrecasca (NaCl 0,15M) apresentaram atividade hemaglutinante e a lectina (CrataBL), uma glicoproteína, foi isolada por cromatografia. De natureza básica, aglutinou eritrócitos de coelho, galinha e todos os tipos sanguíneos humanos. O trabalho objetiva: avaliação da atividade hipoglicemiante de *crataeva tapia* e seus efeitos fisiológicos em camundongos. No Resultados podemos observar que a indução de CrataBL mostrou uma atividade hipoglicemiante significativa em dosagens 10 e 20 mg / kg / dia; evidenciando reduções nos percentuais das dosagens glicêmica. Não foi detectado diferenças significantes por CrataBL comparado com insulina e o tratamento de CrataBL (10 ou 20mg/kg) reduziu os índices de ureia. Após 10 dias de tratamento com CrataBL, os níveis de ureia e de creatinina diminuíram significativamente.

Palavras-chave: Lectinas, *Crataeva tapia*, CrataBL

ABSTRACT

The Lectins, among all types of existing protein macromolecules are known for their ability to agglutinate cells, especially red blood cells of different animal species. The specificity of lectin is defined according to the monosaccharide which inhibits its activity more effectively, it is a criterion for classifying plant lectins with specificity groups: group fucose group, galactose / N-acetylgalactosamine, N-acetylglucosamine, mannose group, sialic acid group and complex glycans group binding sites for carbohydrates tend to be on the surface of the protein molecule and binding selectivity is achieved through hydrogen bonds and van der Waals interactions between sugar and protein. The *Crataeva tapia* is a family plan Caparidaceae, which occurs from Pernambuco to São Paulo and Minas Gerais (Zona da Mata), in the Atlantic rain forest and the Pantanal, being popularly called calabash, headboard, calabash-of-wetland and stick d'alho, but is best known as *Tapia*. Its wood has been used in construction, in liners, crates and making canoes. The flowers are bee, the fruits are edible and highly prized by wildlife. Fruit, bark and leaves are considered medicinal value. Research shows that this bark extracts (0.15 M NaCl) showed hemagglutination activity and lectin (CrataBL), a glycoprotein, was isolated by chromatography. Basic in nature, agglutinated erythrocytes of rabbit, chicken and all kinds human blood. The study aims: evaluation of hypoglycemic activity of *crataeva tapia* and its physiological effects in mice. In the results we can see that the induction of CrataBL showed a significant hypoglycemic activity in dosagens 10 and 20 mg / kg / day), showing reductions in the percentages of dosages glicemica. Não significant differences were detected by CrataBLcomparado treatment with insulin and CrataBL (10 or 20mg / kg) rduziu the indices of urea. After 10 days of treatment with CrataBL levels of urea and creatinine decreased significantly.

Keywords: Lectins, *Crataeva tapia*, CrataBL

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Crataeva tapia.....	3
FIGURA 2 – Papiro de Ebers.....	6
FIGURA 3 – Gráfico Glicemia.....	34
FIGURA 4 - Gráfico Aspartato amino transferase.....	35
FIGURA 5- Alanina aminotransferase.....	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 Definição e características da doença.....	14
2.2 Complicações relacionadas a doença.....	15
2.3 Motivos da utilização de plantas medicinais e perigos.....	16
OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo geral.....	18
3.2 Objetivo específico.....	18
CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

As proteínas estão entre as macromoléculas biológicas mais abundantes sendo extremamente versáteis em suas funções. Elas participam das atividades celulares como enzimas, inibidores de enzimas, hormônios, proteínas de transporte, proteínas de reserva, proteínas contráteis, proteínas estruturais, proteínas regulatórias entre outras, sendo amplamente distribuída entre plantas, animais e microrganismos (LEÔNIDAS et al., 2007; SOL et al., 2007; TAKAHASHI et al., 2008).

Dentre todos os tipos de proteínas existentes, há uma classe de glicoproteínas denominada de lectina. Estas macromoléculas são conhecidas por sua habilidade de aglutinar células, especialmente eritrócitos de diferentes espécies animais (PAIVA; COELHO, 1992; CORREIA; COELHO, 1995). O termo lectina foi introduzido por Boyd e Shapleigh no ano de 1954, em virtude da habilidade de ligarem-se especificamente a carboidratos de uma forma não-covalente (HONG et al., 2001).

De acordo com a nova definição, são consideradas lectinas, as proteínas ou glicoproteínas que possuem pelo menos um sítio que se liga reversivelmente a mono ou oligossacarídeos específicos, sem apresentar função catalítica. As lectinas são particularmente abundantes em sementes de leguminosas, chegando a constituir até 10% da proteína total (Spilatro et al., 1996), sendo o termo aglutinina sinônimo dessa habilidade de aglutinar eritrócito ou outras células (PEUMANS; van DAMME, 1995).

As lectinas são abundantes em sementes de leguminosas, chegando a constituir 10% da proteína total (SPILATRO et al., 1996). Tem crescido o interesse por lectinas presentes em tecidos vegetativos como folhas (COELHO; SILVA, 2000), entrecasca (SPILATRO et al., 1996; van DAMME et al., 1997a,b; WITITSUWANNAKUL et al., 1998), raízes (NAEEM et al., 2001) e até mesmo em órgãos específicos como flores (SUSEELAN et al., 2002). A habilidade das

lectinas em induzir o fenômeno de aglutinação celular possibilita a detecção dessas através de um ensaio de hemaglutinação.

Nesse ensaio é feita uma diluição seriada da lectina, em seguida incubação com eritrócitos humanos ou de outras espécies animais. A atividade hemaglutinante é detectada pela formação de uma rede ou malha decorrente da interação entre a lectina e os carboidratos presentes na membrana dos eritrócitos.

A especificidade da lectina é definida em função do monossacarídeo que mais eficazmente inibe sua atividade (KENNEDY *et al.*, 1995). Este é um critério para classificar lectinas de plantas em grupos de especificidade: grupo fucose, grupo galactose/N-acetilgalactosamina, grupo N-acetilglicosamina, grupo manose, grupo ácido siálico e grupo glicanos complexos (PEUMANS; van DAMME, 1998).

Os sítios de ligação de carboidratos tendem a ser na superfície da molécula protéica (SHARON; LIS, 1995), e a seletividade da ligação é obtida através de pontes de hidrogênio e interações de van der Waals entre o açúcar e a proteína (SUROLIA *et al.*, 1996).

Pequenas alterações na estrutura da molécula protéica podem levar a modificações na orientação do açúcar ligado a ela, alterando por tanto, a especificidade da lectina (NG *et al.*, 1996). A presença de formas moleculares múltiplas de lectinas com diferentes padrões de ligação a diferentes monossacarídeos é comum na natureza (PAIVA; COELHO, 1992; KENNEDY *et al.*, 1995).

Baseada na estrutura global, lectinas de plantas são também classificadas em merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas. O reconhecimento entre proteínas e carboidratos é de suma importância em muitos processos biológicos tais como infecção viral, bacteriana e parasítica; fertilização e metástase, crescimento e diferenciação do câncer.

A *Crataeva tapia* é uma planta da família *Capparaceae*, conhecida vulgarmente como trapiá ou pau-d'alho, que se encontra depositada no Herbário do IPA - Instituto de Pesquisa Agronômica de Pernambuco (nº 10/2003, nº Herbário – 61.415). É encontrada em Pernambuco no litoral, na zona da mata e em vegetação de caatinga (TABARELLI et al., 2002). As proteínas de entrecasca têm papel importante no metabolismo do nitrogênio de árvores da região temperada (van Damme et al., 1995), e tem sido sugerida sua participação no mecanismo de defesa da planta (ROJO et al., 1997).



Crataeva tapia

Estudos em nosso laboratório demonstraram que extratos dessa entrecasca (NaCl 0,15M) apresentaram atividade hemaglutinante e a lectina (CrataBL), uma glicoproteína, foi isolada por cromatografia. De natureza básica, aglutinou eritrócitos de coelho, galinha e todos os tipos sanguíneos humanos.

A CrataBL foi inibida parcialmente por diversos carboidratos e totalmente por fetuína e o tratamento térmico aboliu a atividade hemaglutinante. Em SDS-PAGE, sob condições redutoras e não-redutoras, a lectina migrou como duas bandas, uma de 40 kDa e a outra de 19 kDa e quando analisada por gel filtração apresentou massa molecular de 52kDa (NASCIMENTO et al., 2008).

Diabetes *mellitus* é uma doença crônica caracterizada por um distúrbio no metabolismo da glicose produzindo hiperglicemia e glicosúria. É a doença endócrina mais abundante do mundo envolvendo desordem metabólica de carboidratos, gorduras e proteínas (YADAV et al., 2002).

Há basicamente dois tipos de diabetes: Diabetes tipo 1 e tipo 2, que além de diferenças sintomatológicas e de tratamento, diferem no tipo de população que atingem. O diabetes tipo 1 atinge crianças e adolescentes, já o tipo 2 atinge principalmente a população entre 30 e 69 anos, embora hoje já se observe esse quadro também em crianças devido à obesidade e ao sedentarismo infantil (DELANATER et al., 2001)

Tem crescido o interesse em remédios naturais para a doença, devido ao alto custo e aos efeitos colaterais reduzidos se comparados com drogas sintéticas, como a insulina e a tiazolidinadiona (YADAV et al., 2002). Por causa da eficácia, efeitos colaterais reduzidos e baixo custo, drogas naturais de origem vegetal têm sido recomendadas para o tratamento da diabetes (VATS et al., 2002; LEITE et al., 2005, 2007).

Algumas plantas antidiabéticas tradicionais têm recebido apropriada investigação científica (LEITE et al., 2007). A Organização Mundial de Saúde há bastante tempo recomenda uma avaliação mais detalhada desta área de pesquisa (WHO, 1980), incluindo um estudo que revele um efetivo “adjunct” da dieta para tratamento de cada tipo de diabetes *mellitus* ou a descoberta de produtos naturais ou sintéticos para desenvolvimento de novas drogas antidiabéticas (P. N. Pushparah et al., 2001; MOURÃO et al., 2005).

Atividades hipoglicemiantes têm sido reportadas em polipeptídeos (frutos e sementes de *Momordica charantia*), carboidratos (*Panax ginseng*, entrecasca de *Ficus bengalensis* e raiz de *Aconitum carmichaeli*), alcalóide (folhas de *Catharanthus roseus*, *Coccinia indica* e *Tecoma stans*), e flavonóides (entrecasca de *Ficus bengalensis*) (Wang e Ng, 1999).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

O primeiro caso de diabetes que se tem registro é datado de 1500 a.C. no Egito como uma doença desconhecida. A denominação diabetes foi usada pela primeira vez por Apolônio e Menphis em 250 a.C. Diabetes em grego quer dizer sifão, uma espécie de tudo que aspira água, nome que deriva da sintomatologia da doença que provoca sede intensa e grande quantidade de urina. O diabetes só adquiriu a terminologia *mellitus* no século I d.C.; *Mellitus*, em latim, significa mel, logo a patologia passa a ser chamada de urina doce (GAMA, 2002).

Já no século VI, médicos hindus detalharam alguns sintomas e descreveram pela primeira vez, a característica de urina adocicada. Com o passar dos anos e evolução da ciência Langehans identificou um conjunto de células no tecido pancreático denominadas de ilhotas de Langehans, que mais tarde seriam removidas de cães por pesquisadores na França que estudavam a metabolização das gorduras e descobriu-se que a ausência do pâncreas causava sinais e sintomas semelhantes a doença.(ARDUINO, 1973)

Os primeiros relatos sobre plantas medicinais feitas pelo homem retomam as escrituras e ao Papiro de Ébers. Este papiro foi descoberto e publicado por Georg Ebers, sendo traduzido pela primeira vez, em 1890, por H. Joachin. O papiro foi encontrado nas proximidades da casa mortuária de Ramsés II, porém pertence à época da XVIII Dinastia, no Egito, e relata aproximadamente 100 doenças e um grande número de drogas da natureza animal, vegetal ou mineral. (VILELA, 1977).



PAPIRO DE EBERS

No Brasil, a primeira descrição sobre o uso de plantas medicinais é datada de 1587 por Gabriel Soares de Souza, autor do Tratado Descritivo do Brasil. Esse tratado descreve as plantas medicinais utilizados pelos indígenas. Com vinda dos primeiros médicos portugueses ao Brasil, diante da escassez, na colônia, de remédios empregados na Europa, perceberam a importância das plantas utilizadas pelos indígenas como medicamento. (VEIGA,2000)

2.1 DEFINIÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA

A Diabetes é considerada um grave problema de saúde pública, não só pela doença em si, mas também pelo crescimento dessa na população mundial. A Organização Mundial de Saúde (OMS, 1999) define Diabetes como uma desordem metabólica de múltiplas etiologias, caracterizada por uma hiperglicemia crônica com distúrbios no metabolismo de carboidrato, gordura e proteína resultante de problemas na secreção de insulina, ação dessa ou ambos.

Como existiu uma necessidade de organizar e uniformizar a classificação dos vários tipos de anomalias da glicose, que se há na prática clínica, um grupo de trabalho internacional, desenvolveu em um sistema de classificação. Este sistema separava claramente, diabetes mellitus insulino dependente (DMID) de diabetes mellitus não insulino dependente (DMNID) tendo sido aceita pela OMS (Cassmeyer,1995).

As denominações insulínodépendente e não insulínodépendente não são mais recomendadas, por resultarem da classificação dos doentes com base no tratamento da doença, ao invés da etiologia subjacente. O uso de números romanos (tipo I e tipo II) para diferenciar entre os dois tipos, foi trocado para tipo 1 e tipo 2 para reduzir a confusão (Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 1998 citado por Smeltzer e Bare, 2002).

2.2 COMPLICAÇÕES RELACIONADAS À DOENÇA

Nos dois tipos de diabetes, encontramos complicações que podem ter seu início retardado se existir um controle rigoroso da doença por parte do portador. (COTRAN e CRAWFORD, 2000). Existem várias complicações associadas a doença como a nefropatia que é responsável por 40% dos indivíduos e responsável por 50% dos casos de Insuficiência Renal Crônica (BODDANAA et al., 2009), alterações pancreáticas que contam com a redução no número e tamanho das ilhotas de Langerhans, aterosclerose, retinopatias e neuropatia (COTRAN e CRAWFORD, 2000).

Além disso, existe outra complicação que surge em indivíduos que utilizam insulina. A utilização de insulina pode desencadear um processo de hipoglicemia, devido ao excesso da mesma (ANDERSON 2000). Processo esse não resulta unicamente do excesso de insulina. O esforço físico intenso ou ausência de uma refeição, pode desencadear o processo que resulta de uma descarga de adrenalina no sistema nervoso autônomo, fazendo com que haja uma queda no sistema nervoso central da concentração de açúcar. (FOSTER, 1998 ; DICHTCHEKENIAM, 1997)

2.3 MOTIVOS DA UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS E SEUS PERIGOS

A humanidade utiliza plantas desde antes de Cristo para cura das mais diversas doenças. A medicina popular baseia-se exclusivamente na experiência observacional e são transmitidos verbalmente ou por escrito de geração a geração. Essa medicina permanece até os dias de hoje, com bases mantidas em práticas de milhares de anos, oferecendo uma grande contribuição para o desenvolvimento das ciências a partir de caráter empírico (ISLEY et al., 2005).

A utilização de plantas medicinais foi reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS), na Conferência de Alma Ata em 1978, ressaltado como parte do Programa Saúde para Todos no Ano 2000. A OMS recomenda a realização de mais estudos e a propagação da utilização de plantas medicinais regionais como uma maneira de diminuir custos dos programas de saúde pública (YAMANADA et al., 1998- fitoterapia), já que, segundo própria, 80% da população mundial não têm acesso ao atendimento primário de saúde (AKERELE, 1993, p. 27).

Há uma discrepância no motivo de utilização de plantas medicinais entre países desenvolvidos e países em desenvolvimento. Enquanto as populações dos países em desenvolvimento utilizam plantas por tradição e ausência de alternativas econômicas viáveis, nos países desenvolvidos observa-se o uso de fitomedicamentos por causa do modismo que há pelo consumo de produtos naturais (VEIGA JÚNIOR, 2008).

No Nordeste é comum o uso de plantas medicinais para tratar as mais diversas doenças (TÔRRES et al., 2005). As feiras livres são um manancial inexplorado de investigações etnobotânicas que podem fornecer informações de grande relevância para o conhecimento da diversidade, manejo e universo cultural de populações marginalizadas (AZEVEDO MAIOLI et al., 2006).

O conceito mais perigoso que existe sobre plantas medicinais, é que elas, não representam qualquer risco para a saúde por serem naturais e estarem sendo utilizadas através de séculos pela população mundial (VEIGA JÚNIOR et al., 2005). A falta de informação adequada sobre as propriedades dessas plantas e seu uso combinado com medicamentos tradicionais sem aviso ao médico são fatores preocupantes (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006), pois a automedicação é altamente preocupante quando realizada em conjunto com outros medicamentos, que podem levar a efeitos sinérgicos e interações não esperadas pelo médico (VEIGA JÚNIOR, 2007).

Do ponto de vista científico, as pesquisas mostram que muitas dessas plantas possuem substâncias potencialmente agressivas, e por isso, devem ser utilizadas com cuidado por causa de seus riscos toxicológicos (VEIGA JÚNIOR, 2005). Essas plantas podem possuir substâncias hepatotóxicas como o apiol e o safrol.

A ação tóxica renal pode ser causada por espécies vegetais que contém terpenos e saponinas, e alguns tipos de dermatites causadas por espécies ricas em lactonas e produtos naturais do tipo furanocumarinas. Diversas plantas consideradas medicinais possuem atividade citotóxica ou genotóxica e mostram relação com incidência de tumores (CAPASSO et al., 2000).

O uso de medicamentos em crianças, principalmente bebês por mães durante o período gestacional pode trazer sérios problemas de saúde, pois o metabolismo da droga e a função renal são menos eficientes podendo culminar com diversos efeitos. Portanto faz-se necessário esclarecer a população sobre o uso racional das plantas medicinais tais como manipulação, coleta e uso terapêutico. Isso é de suma importância para que haja uma inter-relação entre os saberes popular e o científico (TÔRRES, 2005).

Existem muitas substâncias extraídas de plantas que reduzem o nível de glicose e uma grande diversidade de compostos químicos. Algumas destas substâncias podem ter potencial terapêutico, enquanto outras podem produzir

hipoglicemia como efeito colateral devido à sua toxicidade. (Pérez Gutiérrez, 2002)

OBJETIVOS

Geral:

Conhecer os efeitos fisiológicos da lectina de *Crataeva tapia*, CrataBL em camundongos.

Específicos:

- Purificar a CrataBL
- Determinar os níveis de glicemia de jejum dos animais tratados com CrataBL e controles por método colorimétrico-enzimático
- Analisar a função hepática e renal dos animais tratados com CrataBL e controles através da análises bioquímicas(transaminases, uréia e creatinina)
- Análisar histologicamente os rins, fígado e baço dos animais tratados com CrataBL e controles

Conclusão

In Alloxan-Induced Diabetic Mice A Lectin from *Crataeva tapia* Bark improves Kidney and Liver Damage and reduces plasma Glucose

Amanda Alves da Rocha¹; Tiago Ferreira da Silva Araújo¹; Vera Lúcia de Menezes Lima^{1*};

José Roberto Fernandes Ferreira²; Eptácio Frederick Bezerra Cavalcanti Villar³; Alex Benício da Silveira⁴; Caíque Silveira Martins da Fonseca¹; Diógenes Luís da Mota⁴; Patrícia Maria Guedes Paiva²; Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho²; Maria Teresa dos Santos Correia².

¹ Laboratório de Química e Metabolismo de Lipídios e Lipoproteínas, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, s/n, 50670-420, Recife-Pernambuco, Brazil.

² Laboratório de Glicoproteínas, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, s/n, 50670-420, Recife-Pernambuco, Brazil.

³ Unidade Laboratorial do Hospital das Clínicas de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Professor Moraes Rego S/N, Cidade Universitária, Hospital das clínicas, Laboratório

⁴ Laboratório de Histologia, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, s/n, 50670-420, Recife-Pernambuco, Brazil.

* Corresponding Author

Vera Lúcia de Menezes Lima, Laboratório de Química e Metabolismo de Lipídios e Lipoproteínas, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, s/n, 50670-420, Recife-Pernambuco, Brazil. E-mail: vlml.ufpe.br; Phone: 55 81 21268541.

Abstract

Progressive decline in renal and hepatic functions has been well described in patients with diabetes, and mortality rate is increased in patients with high frequency of chronic liver and renal disease. *Crataeva tapia* is a plant popularly used for the diabetes treatment in northeast of Brazil. This study aim to evaluate whether the *Crataeva Tapia* Bark Lectin (CrataBL) improve the renal and hepatic damage, as well as its effect on hyperglycemia in diabetic mice. CrataBL was obtained through a sequential purification by ion exchange chromatography on CM-cellulose, and intraperitoneally administered to alloxan-induced diabetic mice for 10 days. Significant reduction in serum glucose level was found in plasma of animals treated with 10 mg/Kg/day (14.9%) and 20 mg/Kg/day (55.9%). Serum urea, creatinine, AST and ALT were significantly reduced after treatment with both doses of CrataBL. The results suggest that CrataBL has a beneficial hypoglycemic effect and improves the renal and hepatic complications of diabetes. Therefore, this lectin may be a promising agent for the treatment of diabetes, and could explain the basis for its use in the folk medicine as an alternative treatment to manage diabetes-related complications such as hyperglycemia.

Keywords: lectin; *Crataeva tapia*; diabetes; glucose lowering agent; renal cell; hepatic cell.

1. Introduction

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease considered to be one of the five leading causes of death in world, and it is a complex metabolic disease with great development of pathological changes in many tissues, resulting in various micro and macro vascular alterations [1]. The disease is characterized by alteration in the carbohydrate metabolism resulting in an increase of the glucose levels [2]. Approximately 360 million of adult people have diabetes, corresponding to 8.3% of the world with diabetes, and this is projected to rise to 552 million by 2030, corresponding to 9.9% of the world population [3].

The hyperglycemia in diabetes produce superoxide anions, which generate hydroxyl radicals, promoting cell membranes damage as a result of lipid peroxidation and protein glycation of membrane [1]. In diabetic individuals the major alterations occur in renal and hepatic tissue and have been associated with functional and morphological damage in these organs [4,5]. Among the common complications of diabetes the nephropathy is a chronic disease that affects 40% of individuals. Diabetic nephropathy is responsible by 50% of chronic renal failure cases [6]. Furthermore, hepatic dysfunction promoted by diabetes can result in non alcoholic steatosis, hepatomegaly and Mauriac Syndrome [7,8].

Studies have suggested that the doubts about the efficacy and safety of some of the oral hypoglycemic agents have prompted a search for safer and more effective drugs in the treatment of diabetes [9].

Lectins are carbohydrate binding proteins, of non-immunogenic origin, that bind specifically and reversibly to different types of carbohydrates or glycoproteins [10]. Several plant lectins have demonstrated to possess a variety of biological activities

including antitumor [11,12,13], anti-inflammatory [14,15], antimicrobial [16,17,18], analgesic [11], insecticidal [19,20,21,22] and anticoagulant [23], antioxidant [24], and hypoglycemic [25,26].

Crataeva tapia, a plant of Capparidaceae family, is commonly found in Pluvial Tropical Atlantic Forest and Pantanal Tropical Forest in Brazil [11,20]. *C. tapia* is known by Northeast Brazilian people as “paudalho” or “tapiá” and its bark is largely used in the folk medicine for the treatment of diabetes. Recently, a lectin with a molecular weight of 40 kDa (CrataBL) was purified from the aqueous extract of *Crataeva tapia* bark [20]. Thus, the aim of the present study was to investigate the effect of CrataBL on glucose levels and on kidney and liver in alloxan-induced diabetic mice.

2. Material and Methods

2.1. Chemicals

Alloxan and CM-cellulose was purchased from Sigma-Aldrich Chemical Company, St. Louis, MO, USA. Insulin (Humolin® N) was purchased from Lilly, Brazil. All the other chemicals used were in an analytical grade.

2.2. Plant Material

Crataeva tapia barks were collected from the Recife City, State of Pernambuco, Brasil. The plant was identified by *Instituto Agronômico de Pernambuco* (IPA) and a voucher specimen was deposited (n°61.415).

2.3. Purification of *Crataeva Tapia* Bark Lectin

Crataeva tapia bark lectin was obtained through a sequential purification protocol as previously reported by Araújo et al. [20]. Powdered bark (10 g) was suspended in 0.15 M NaCl (100 ml). After homogenisation in a magnetic stirrer (16h at 4°C), followed by filtration through gauze and centrifugation (4,000 xg, 15 min) the supernatant (crude extract) was taken as starting material. Soluble proteins in crude extract were fractionated with ammonium sulphate and the 30–60% precipitate fraction (30–60F) was submitted to dialysis (3500Da cut-off membrane, 4°C) against distilled water (2 h) followed by 10 mM citrate-phosphate buffer pH 5.5 (2 h). The 30–60 F was loaded (11mg of protein, hemagglutinating activity of 1024) onto a CM-cellulose column (5.2 cm×1.6 cm) equilibrated with 10mM citrate-phosphate buffer pH 5.5 at flow rate of 20 mLh⁻¹. The unabsorbed proteins were eluted with equilibrating solution until the absorbance at 280 nm was lower than 0.05. Following the CrataBL was eluted with 0.5M NaCl. Protein concentration was determined according to Lowry et al. [27] using bovine serum albumin as standard.

2.4. Animals

Female albino Swiss mice (*Mus musculus*), six weeks of age, weighing 30 ± 5 g purchased from the biotherium of *Departamento de Antibióticos*, UFPE, Brasil were used in this study. The animals were housed in colony cages (six mice per cage) at an ambient temperature of 22 ± 3 °C and relative humidity 40-60% with 12 hours light and 12 hours dark cycle. The mice were fed standard rodent diet (Labina[®], Purina Brazil Ltd., Brazil) and watered *ad libitum* during the experiment. The experimental protocol was approved by the Animal Care and Use Committee at the Federal University of Pernambuco, Brazil . All experimental procedures were conducted in accordance with the ethical guidelines for Care and Use of Laboratory Animals, as previously mentioned [28].

2.5. Induction of Diabetes in Mice

Experimental diabetes was induced in overnight-fasted mice by a single intraperitoneal injection of freshly-prepared alloxan monohydrated (80 mg/kg in 0.9% NaCl solution). After alloxan administration, all animals were relocated to their cages and given free access to food and water. The diabetic state was assessed by measuring the fasting blood glucose levels 72 hours afterwards. The mice with serum glucose of 250 mg/dL or above were considered diabetic and were included in the study.

2.5. Experimental Design

The mice were divided into four groups (n=6, for group) as follows:

Group (I) – Control mice receiving saline solution (0.9%), named Control Group (CG);

Group (II) – Diabetic control mice, named Diabetic Non Treated (DNt);

Group (III) – Diabetics mice treated with CrataBL (10 mg/kg/day, intraperitoneally) in saline solution (0.9%) for 10 days, named Diabetic Treated 10 (DT10);

Group (IV) – Diabetics mice treated with CrataBL (20 mg/kg/day, intraperitoneally) in saline solution (0.9%) for 10 days, named Diabetic Treated 20 (DT20);

Group (V) – Diabetics mice treated with insulin (10mg/kg/day, intraperitoneally) for 10 days, named Diabetic Insulin Treated (DIT).

At the end of the experimental period, the mice were anaesthetized (xylazine hydrochloride 2% (10mg/kg) and ketamine hydrochloride 10% (115mg/kg)) and blood samples were withdrawn from overnight-fasted by retro-orbital venipuncture technique. After 10 days of treatment the mice were sacrificed by cervical dislocation. Thereafter, pancreas, liver and kidneys were excised and immediately fixed in 10% neutral buffered formalin for histological analysis

2.7. Effect of CrataBL on Biochemical Data

After treatment the blood sample of mice was collected and processed for the biochemical data estimation. Blood samples were immediately centrifuged at 2.500 *g* for 15 minutes at 4°C (Sorvall RC6, NC, US). Serum were obtained and utilized for determination of levels of the glucose, urea, creatinine, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) with enzymatic colorimetric method by chemistry auto-analyzer (COBAS® 6000, Roche Diagnostics, England).

2.8. Statistical Analysis

Values were expressed as the mean $\pm$ SD for six animals in each group. Multiple comparisons were tested by one-way ANOVA, followed by Tukey's *post hoc* test. *P*-values <0.05 were significantly. The analyses were carried out using software PRISMA (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, version 5.01).

3. Results and Discussion

3.1. *Effect of CrataBL on Fasting Glucose*

In alloxan-induced diabetic mice, CrataBL showed significant anti-hyperglycemic activity at both the doses 10 and 20 mg/kg/day, which was further evidence by percentage reduction (14.9% and 55.9%) in fasting serum levels after treatment with lectin both the doses (Figure 1). Administration of insulin, a powerful drug for treatment of diabetes, also lowered glucose levels in diabetic mice. There was no significant difference ($P>0.05$) of decreases of glucose levels caused by CrataBL (administered 20 mg/kg – 55.9%) compared to insulin (64.1%).

Diabetes is a complex metabolic disorder with a characteristic modulation of glucose metabolism. Alloxan is a prominent diabetogenic chemical in diabetes research with ability to induce reactive oxygen species formation in the β cell, resulting in necrosis [29]. This is considered a model for reproducible induction of a diabetic metabolic state in experimental animals [28, 30, 31, 32].

Medicinal plants are gaining wide acceptably worldwide because they are the potential sources of bioactive agents in use as pharmaceuticals. In a fast changing world, a number of means to the new hypoglycemic natural agents are explored by experts and clinicians today [33, 34, 35]. In the present study, CrataBL proved to be as effective

hypoglycemic agent after 10 days of treatment. In a previous study, we determined the acute toxicity of CrataBL in mice. At the doses of 300 mg/kg and 2,000 mg/kg, mice did not present weight loss or death. LD50 cut-off of CrataBL was determined as 2,500 mg/kg, resulting in both concentrations used being considered as safe [11]. So, CrataBL is an effective lectin for treatment of diabetes without problem of toxicity and with potential pharmaceuticals use.

These results in the present study are in correlation with Hemalatha et al. [36] who reported that supplementation of soya bean lectin decreased the blood glucose in 17.3%. This authors suggested that an increase in pancreatic growth is stimulated by soya bean lectin. Wang et al. [37] demonstrated that *Agaricus bisporus* lectin administration could partially reverse the impaired β -cell growth potential by regulating cell cycle proteins (cyclin D1, cyclin D2 and Cdk4). So, induction of pancreatic β -cell proliferation by lectins suggests the therapeutic potential in decreasing blood glucose and treating experimental diabetes mellitus [36,37].

Chronic hyperglycemia promotes tissue damage which can be found in many organ and systems, with consequent often serious disease [38]. Alloxan-induced diabetes is a usual model for induction of kidney and liver damage and evaluation of use of crude extracts and pure substances, as previously demonstrated in other studies [39].

3.2. *Effects of CrataBL on Markers of Kidney Damage*

Serum level of urea and creatinine were significantly increased in the alloxan-induced diabetic mice compared to control group. Treatment of diabetics mice with CrataBL (10 or 20mg/kg) significantly reduced serum levels of urea by 20.7% and 25.3%, respectively (Table 1). CrataBL decreased serum levels of creatinine by 15.4%

and 17.9%, respectively. Similarly, insulin also decreased ($P<0.05$) these markers of renal damage by 26.8% and 17.9%.

Kidney damage is commonly associated with diabetes and in the initial course of disease the presence of hypertrophy of the glomeruli and tubular cells, matrix expansion and enhanced renal blood flow is common. This has been postulated to cause loss of renal function [40,41]. The literature reports that diabetics animals tend to show renal hypertrophy caused by an increased formation of advanced glycation end products (AGE) and accumulation of glycogen granules in distal tubules and elevated urea and creatinine levels are well reported as one of the most sensitive markers of kidney damage [42, 43].

As shown in Table 1, a significant increase in the level of markers was obtained in the alloxan-induced diabetic mice as previously reported by Kumar et al. [39]. After 10 days of treatment with CrataBL, the levels of urea and creatinine significantly decreased. This result clearly indicates that CrataBL possess the effective to improve kidney damage induced by alloxan-diabetes. Our results are agreement with Omara et al. [40] and Yankudo et al. [41] who recently reported that renal damage can be ameliorated for decreased level serum urea and creatinine by treatment with herbal bioactive agents.

3.3. *Effects of CrataBL on Markers of Liver Damage*

The activities of serum AST and ALT which are markers of liver damage were significantly elevated in alloxan-induced diabetic mice compared to control group. Treatment with CrataBL (10 or 20mg/kg) and insulin significantly reduced the activity

of AST by 66.2%, 67.9%, and 69.9%, respectively (Figure 3). ALT activities were also decreased ($P<0.05$) by 28.9%, 36.6%, and 33.9%, respectively (Figure 4).

Liver is the focal organ of oxidative and detoxifying processes [5]. Liver diseases are a high problem of health in worldwide and the release of intracellular localized marker enzymes such as AST and ALT into the blood when cell and mitochondria are subjected to injury indicates hepatocytes damage [44]. It is evident from the elevated serum levels of AST and ALT that alloxan caused liver damage and loss of the functional integrity of the hepatocyte membranes [45].

Administration of CrataBl for 10 days reversed the elevated levels of marker enzymes, which reflects the capability to conserve the membrane integrity of cellular and mitochondrial membranes of hepatocyte in alloxan-diabetic mice treaty with this lectin. Our results are agreement with Mansour et al. [9] who reported that hepatic damage can be improved for decreased level serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase by treatment with for herbal bioactive agents.

4. Conclusion

With this study it was confirmed that the CrataBl is an effective hypoglycemic agent. There is no significant difference ($P> 0.05$) when comparing the levels of glucose decrease (20mg/kg - 55.9%) compared to insulua (64.1%). Moreover, treatment of diabetic mice with CrataBl (10 and 20 mg / kg) significantly reduced serum urea levels 20.7% and 25.3% in addition to not cause kidney damage, a major problem associated with diabetes

Conflict of Interests

All authors declare that they have no competing interests in the present work.

Acknowledgements

This work was supported by *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico*, *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* and *Fundação de Amparo à Ciência do Estado de Pernambuco*.

Figures and Tables

Figure 1. Fasting serum glucose levels in diabetic mice after treatment with CrataBL. CG: control group; DNT: diabetic non treated; DT10: diabetic treated with CrataBL (10mg/kg); DT20: diabetic treated with CrataBL (20mg/kg); DIT: diabetic treated with insulin (10mg/kg). * $P < 0.05$ versus CG; † $P < 0.05$ versus DNT; ‡ $P < 0.05$ versus DIT.

Figure 2. Serum aspartate aminotransferase levels in diabetic mice after treatment with CrataBL. CG: control group; DNT: diabetic non treated; DT10: diabetic treated with CrataBL (10mg/kg); DT20: diabetic treated with CrataBL (20mg/kg); DIT: diabetic treated with insulin (10mg/kg). * $P < 0.05$ versus CG; † $P < 0.05$ versus DNT; ‡ $P < 0.05$ versus DIT.

Figure 3. Serum alanine aminotransferase levels in diabetic mice after treatment with CrataBL. CG: control group; DNT: diabetic non treated; DT10: diabetic treated with

CrataBL (10mg/kg); DT20: diabetic treated with CrataBL (20mg/kg); DIT: diabetic treated with insulin (10mg/kg). * $P < 0.05$ versus CG; † $P < 0.05$ versus DNT; ‡ $P < 0.05$ versus DIT.

Table 1. Serum urea and creatinine levels in diabetic mice after treatment with CrataBL.

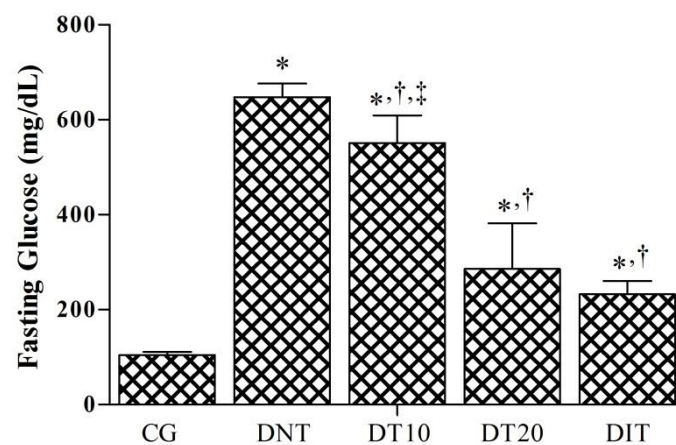


Figure 1

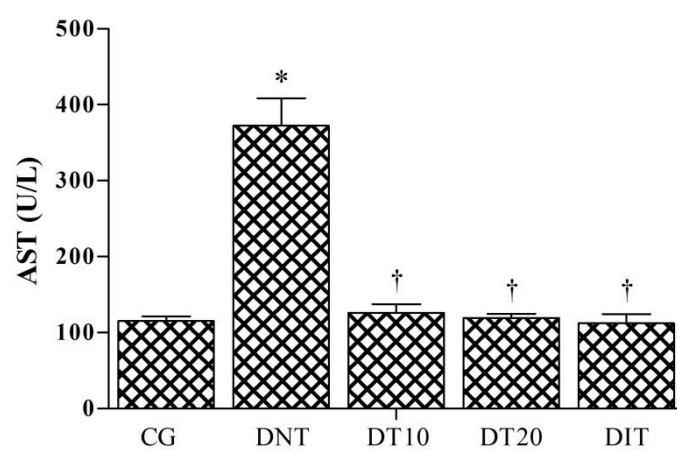
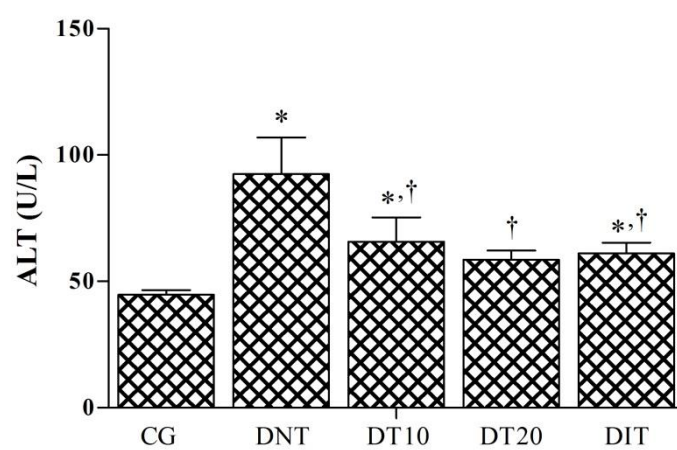


Figure 2



Figure

Table 1. Serum urea and creatinine levels in diabetic mice after treatment with CrataBL.

Groups	Urea	Creatinine
CG	34.3 ± 6.8	0.30 ± 0.01
DNT	58.9 ± 5.8*	0.39 ± 0.04*
DT10	46.7 ± 6.6*,†	0.33 ± 0.05†
DT20	44.0 ± 2.9*,†	0.32 ± 0.04†
DIT	43.1 ± 2.6†	0.32 ± 0.02†

CG: control group; DNT: diabetic non treated; DT10: diabetic treated with CrataBL (10mg/kg); DT20: diabetic treated with CrataBL (20mg/kg); DIT: diabetic treated with insulin (10mg/kg). * $P < 0.05$ versus CG; † $P < 0.05$ versus DNT; ‡ $P < 0.05$ versus DIT.

References

- [1] P. Nain, V. Saini, S. Sharma, and J. Nain, “Antidiabetic and antioxidant potential of *Emblica officinalis* Gaertn. leaves extract in streptozotocin-induced type-2 diabetes mellitus (T2DM) rats”, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 142, pp. 65-71, 2012.
- [2] D. Prabakaran, and N. Ashokkumar, “Protective effect of esculetin on hyperglycemia-mediated oxidative damage in the hepatic and renal tissues of experimental diabetics rats”, *Biochimie*, vol. 95, pp. 366-373, 2013.

- [3] P. E. H. Schwarz, G. Gallein, D. Ebermann, A. Muller, A. Lindner, U. Rothe, and I. T. Nebel, G. Muller, “Global diabetes survey – an annual report on quality of diabetes care”, *Diabetes Research and Clinical Practice*, IN PRESS, 2013.
- [4] M. Makni, M. Sefi, H. Fetoui, E. M. Garoui, N. K. Gargouri, T. Boudawara, and N. Zeghal, “Flax and Pumpkin seeds mixture ameliorates diabetic nephropathy in rats”, *Food and Chemical Toxicology*, vol. 48, pp. 2407-2412, 2010.
- [5] R. Schmatz, L. B. Perreira, N. Stefanello, C. Mazzanti, R. Spanevello, J. Gutierrez, M. Begatini, C. C. Martins, F. H. Abdalla, J. C. S. Serres, D. Zanini, J. M. Vieira, A. M. Cardoso, M. R. Schetinger, and V. M. Morsch, “Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats”, *Biochimie*, vol. 94, pp. 374-383, 2012.
- [6] P. Boddanaa, F. Caskeya, A. Casulab, and D. Ansellb, “UK Renal Registry 11 Annual Report: Chapter 14 UK Renal Registry and International Comparisons”, *Nephron Clinical Practice*, vol. 111, pp. 269-276, 2009.
- [7] A. Abaci, O. Bekem, T. Unuvar, E. Ozer, E. Bober, N. Arslan, Y. Ozturk, and A. Buyukgebiz, “Hepatic glycogenosis: a rare cause of hepatomegaly in type I diabetes mellitus”, *Journal of Diabetes and its Complications*, vol. 22, pp. 325 -328, 2008.
- [8] V. Portugal, A. Aguiar, F. Vasconcelos, S. Aroso, and M. Fonseca, “Alterações hepáticas em contexto de diabetes mellitus tipo I descompensada”, *Nascer e Crescer*, vol. 20, no.3, pp. 132-134, 2011.
- [9] H. A. Mansour, A. S. A. Newairy, M. I. Yousef, and S. A. Sheweita, “Biochemical study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetics rats”, *Toxicology*, vol. 170, pp. 221-228, 2002.

- [10] A. F. S. Santos, T. H. Napoleão, R. F. Bezerra, E. V. M. M. Carvalho, M. T. S. Correia, P. M. G. Paiva, and L. C. B. B. Coelho, “Strategies to Obtain Lectins from Distinct Sources”, In: Leon V. Berhardt. (Org.). *Advances in Medicine and Biology*. 1ed. New York: Nova Publishers Inc., vol. 63, pp. 01-27, 2013.
- [11] R. M. S. Araújo, A. F. M. Vaz, J. S. Aguiar, L. C. B. B. Coelho, P. M. G. Paiva, A. M. M. Melo, T. G. Silva, and M. T. S. Correia, “Lectin from *Crataeva tapia* bark exerts antitumor, anti-inflammatory and analgesic activities”, *Natural Products Bioprospecting*, vol. 1, pp. 97-100, 2011.
- [12] C. A. S. Andrade, M. T. S. Correia, L. C. B. B. Coelho, S. C. Nascimento, and N. S. Santos-Magalhães, “Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes”, *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 278, pp. 435-445, 2004.
- [13] Y. Karasaki, S. Tsukamoto, K. Mizusaki, T. Sugiura, and S. Gotoh, “A garlic lectin exerted an antitumor activity and induced apoptosis in human tumor cells, *Food Research International*”, vol. 34, pp. 7–13, 2001.
- [14] C. M. L. Melo, B. A. Paim, K. G. Zecchin, J. Morari, M. R. Chiaratti, M. T. S. Correia, and L. C. B. B. Coelho, P. M. G. Paiva, “Cramoll 1,4 lectin increases ROS production, calcium levels, and cytokine expression in treated spleen cells of rats”, *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 342, pp. 163-169, 2010.
- [15] R. C. Simões, B. A. M. Rocha, M. J. B. Bezerra, I. L. Barroso-Neto, F. N. Pereira-Junior, R. M. Moura, K. S. Nascimento, C. S. Nagano, P. Delatorre, A. F. Pires, A. M. S. Assreuy, A. H. Sampaio, and C. B. S. Cavada, “Protein crystal content analysis by mass spectrometry and preliminary X-ray diffraction of a lectin from *Canavalia grandiflora* seeds with modulatory role in inflammation”, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, vol. 26, pp. 811-818, 2012.

- [16] V. P. Brustein, F. V. Souza-Araújo, A. F. M. Vaz, R. V. S. Araújo, P. M. G. Paiva, L. C. B. B. Coelho, A. M. A. Carneiro-Leão, J. A. Teixeira, M. G. Carneiro-da-Cunha, and M. T. S. Correia, "A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model", *Inflammopharmacology*, vol. 20, pp. 315-322, 2012.
- [17] J. D. Souza, M. B. R. Silva, A. C. C. Argolo, T. H. Napoleão, R. A. Sá, M. T. S. Correia, P. M. G. Paiva, M. D. C. Silva, and L. C. B. B. Coelho, "A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities", *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 65, pp. 696-702, 2011.
- [18] M. D. L. Oliveira, C. A. S. Andrade, N. S. Santos-Magalhães, L. C. B. B. Coelho, J. A. Teixeira, M. G. Carneiro-da-Cunha, and M. T. S. Correia, "Purification of a lectin from *Eugenia uniflora* L. seeds and its potential antibacterial activity" *Letters in Applied Microbiology*, vol. 46, pp. 371-376, 2008.
- [19] A. F. S. Santos, A. C. C. Argolo, P. M. G. Paiva, and L. C. B. B. Coelho, "Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Tissue Extracts", *Phytotherapy Research*, vol. 26, pp. 1366-1370, 2012.
- [20] R. M. S. Araújo, R. S. Ferreira, T. H. Napoleão, M. G. Carneiro-da-Cunha, L. C. B. B. Coelho, M. T. S. Correia, M. L. V. Oliva, P. M. G. Paiva, "Crataeva tapia bark lectin is an affinity adsorbent and insecticidal agent", *Plant Science*, vol. 183, pp. 20-26, 2012.
- [21] T. H. Napoleão, E. V. Pontual, T. A. Lima, N. D. L. Santos, R. A. Sá, L. C. B. B. Coelho, D. M. A. F. Navarro, and P. M. G. Paiva, "Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae", *Parasitology Research*, vol. 110, pp. 609-616, 2012.

- [22] T. H. Napoleão, F. S. Gomes, T. A. Lima, N. D. L. Santos, R. A. Sá, A. C. Albuquerque, L. C. B. B. Coelho, and P. M. G. Paiva, “Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 65, pp. 52-59, 2011.
- [23] R. M. S. Araújo, A. F. M. Vaz, M. E. Santos, R. B. Zingali, L. C. B. B. Coelho, P. M. G. Paiva, M. T. S. Correia, M. L. V. Oliva, and R. S. Ferreira, “A new exogen anticoagulant with high selectivity to intrinsic pathway of coagulation”, *Thrombosis Research*, vol. 128, pp. 395-397, 2011.
- [24] N. D. L. Santos, K. S. Moura, T. H. Napoleão, G. K. N. Santos, L. C. B. B. Coelho, D. M. A. F. Navarro, and P. M. G. Paiva, “Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringa oleifera* lectin on *Aedes aegypti*”, *Plos One*, vol. 7, pp. 01-8, 2012.
- [25] G. Kavalavi, H. Tuncel, S. Goksel, and H. H. Hatemi, “Hypoglycemic activity of *Urtica pilulifera* in streptozotocin-diabetics rats”, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 84, pp. 241-245, 2003.
- [26] B. Y. Kim, J. H. Jeong, K. Park, and J. D. Kim, “Bioadhesive interaction and hypoglycemic effect of insulin-loaded lectin–microparticle conjugates in oral insulin delivery system”, *Journal of Controlled Release*, vol. 102, pp. 525–538, 2005.
- [27] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J., “Randall, Protein measurement with the folin phenol reagent”, *The Journal of Biological Chemistry*, vol.193, pp. 265–275, 1951.
- [28] A. C. R. Leite, T. G. Araújo, B. M. Carvalho, N. H. Silva, V. L. M. Lima, and M. B. A. Maia, “*Parkinsonia aculeata* aqueous extract fraction: Biochemical studies in alloxan-induced diabetic rats”, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 111, pp. 547-552, 2007.

- [29] S. Lenzen, The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, *Diabetologia*, vol. 51, pp. 216-226, 2008.
- [30] S. L. Badole, N. M. Patel, P. A. Thakurdesai, and S. L. Bodhankar, "Interaction of aqueous extract of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel-Champ. With glyburide in alloxan induced diabetic mice", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 5, no. 2, pp. 159-164, 2008.
- [31] A. C. R. Leite, T. G. Araújo, B. M. Carvalho, M. B. S. Maia, and V. L. M. Lima, "Characterization of the antidiabetic role of *Parkinsonia aculeata* (Caesalpineaceae)", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2011, pp.1-9, 2010.
- [32] K. M. Ramukumar, P. Ponmanickam, S. Velayuthaprabhu, G. Archunan, and P. Rajaguru, "Protective effect of *Gymnema montanum* against renal damage in experimental diabetic rats", *Food and Chemical Toxicology*, vol. 47, pp. 2516-2521, 2009.
- [33] A. Fatima, P. Agrawal, and P. P. Singh, "Herbal options for diabetes: an overview", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, pp. 536-544, 2012.
- [34] D. K. Patel, R. Kumar, D Laloo, and S Hemalatha, "Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, pp. 239-250, 2012.
- [35] D. K. Patel, R. Kumar, D. Laloo, and S Hemalatha, "Diabetes mellitus: An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, pp. 411-420, 2012.
- [36] C. Hemalatha, R. Dhamotharan, and S. Murugesan, "Effect of soya bean lectin on streptozotocin induced diabetics rats", *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, vol. 2, pp. 231-236, 2011.

- [37] Y. Wang, Y. Liu, H. Wang, C. Li, P. Qi, J. Bao, “*Agaricus bisporus* lectins mediates islet β -cell proliferation through regulation of cell cycle proteins”, *Experimental Biology and Medicine*, vol. 237, pp. 287-296, 2012.
- [38] I. Dahec, K. S. Belghith, K. Hamben, A. Feki, H. Belghith, and H. Mejdoub, “Antidiabetic activity of levan polysaccharide in alloxan-induced diabetics rats”, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 49, pp. 742-746, 2011.
- [39] S. Kumar, V. Kumar, and Prakash, O, “Antidiabetic, hypolipidemic and Histopathological analysis of *Dillenia indica* (L.) leaves extract on alloxan induced diabetic rats”, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, pp. 347-352, 2011.H.
- [40] E. A. Omara, S. M. Nada, A. R. H. Farrag, W. M. Sharaf, and S. A. El-Toumy, “Therapeutic effect of *Acacia nilotica* pods extract on streptozotocin induced diabetic nephropathy in rat”, *Phytomedicine*, vol. 19, pp. 1059-1067, 2012.
- [41] Yankuzo, Q. U. Ahmed, R. I. Santosa, S. F. U. Akter, and N. A. Talib, “Beneficial effect of the leaves of *Murraya koenigii* (Linn.) Spreng (Rutaceae) on diabetes-induced renal damage in vivo”, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 135, pp. 88-94, 2011.
- [42] J. Kang, X. S. Dai, T. B. Yu, B. Wen, and Z. W. Yang, “Glycogen accumulation in renal tubules, a key morphological change in the diabetic rat kidney”, *Acta Diabetologica*, vol. 42, no. 2, pp. 110-119, 2005.
- [43] T. Nishikawa, D. Edelstein, and M. Brownlee, “The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications”, *Kidney International*, vol. 58, no. 77, pp. 26-30, 2000.
- [44] K. R. Senthil, M. PonMozhi, P. Viswanathan, and N. Nalini, “Activity of *Cassia auriculata* leaf extract in rats with alcoholic liver injury”, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 14, pp. 452-458, 2003.

- [45] M. G. Rajesh, and M. S. Latha, "Preliminary evaluation of the hepatotoxicity of Kamilari, a polyherbal formulation", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 91, pp.99-104, 2004.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKERELE, O.; *Herbal Gram* 1993, 28, 13.

ALBUQUERQUE UP, Hanazaki N 2006. **As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas.** *Rev Bras Farmacogn* 16 (Supl.): 678-689

ARDUINO F. **O diabetes através dos tempos.** In: Arduino F. **Diabetes mellitus e suas complicações.** 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1973. p. 1-4.

ARAÚJO, R.M.S. **Purificação, Imobilização e Avaliação de Propriedades Biológicas da Lectina da Entrecasca de *Crataeva tapia*.** Tese de doutorado. Programa de pós-graduação em ciências biológicas da UFPE. 160 p. Recife, 2008.

BADOLE, S. L.; PATEL, N. M.; THAKURDESAI P. A , and S. L. Bodhankar, “Interaction of aqueous extract of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel-Champ. With glyburide in alloxan induced diabetic mice”, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 5, no. 2, pp. 159-164, 2008.

COELHO, L. C. B. B. & DA SILVA, M. B.R. Simple method to purify miligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 1-6, 2000.

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

DAHEC, I. ; BELGHTH, K. S. ; HAMBEM, K. ; A. Feki, H. Belghith, and H. Mejdoub, “Antidiabetic activity of levan polysaccharide in alloxan-induced diabetics rats”, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 49, pp. 742-746, 2011.

DELAMATER, A. M.; JACOBSON, A. M.; ANDERSON, R. B; COX, D.; FISCHER, L.; LUSTMAN. P.; RUBIN, R.; WISOCKI, T.(2001). PSYCHOSOCIAL THERAPIES IN DIABETES CARE,24, 1286-1292

FATIMA, A. ; AGRAVAL, P. and SINGHT, P. P. “Herbal options for diabetes: an overview”, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, pp. 536-544, 2012.

GAMA, M. P. R(2002). Do milagre canadense do séc XX ás esperanças de cura do séc XXI. *Endocrinology and Diabetes clinica e Experimental* 2(2) 3-5

GREEN, A.A.; HUGHES, W. L. Protein fraction on the basis of solubility in aqueous solution of salts and organics solvents. **Methods of enzymology**, v.1, p. 67-90, 1955

HEMATHALA, C. ; DHAMOTHARAN, R.; and MURUGE S. san, “Effect of soya bean lectin on streptozotocin induced diabetics rats”, *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, vol. 2, pp. 231-236, 2011.

HONG, M.; CASSELY, A.; MECHREF, Y.; NOVOTNY, M. V. Sugar-lectin interactions investigated through affinity capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography B.**, v. 752, p. 207-216, 2001. KAWAGISHI, Y.; TAKAGI, J.; TAIRA, T.; MURATA, T.; USUI, T. Purification and carактерization of a lectin from the mushroom *Mycoleptodonoides aitchisonii*. **Phytochemistry**, v. 56, p. 53-58, 2001.-B. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p. 219-230, 1995.

KANG, J. ; DAI, X. S. ; YU, T. B. ; B. WEN, and Z. W. Yang, “Glycogen accumulation in renal tubules, a key morphological change in the diabetic rat kidney”, *Acta Diabetologica*, vol. 42, no. 2, pp. 110-119, 2005.

KUMAR, S.; KUMAR, V. and PRAKASH, O, “Antidiabetic, hypolipidemic and Histopathological analysis of *Dillenia indica* (L.) leaves extract on alloxan induced diabetic rats”, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, pp. 347-352, 2011.H..

KENNEDY, J. F., PAIVA, P. M. G.; CORREIA, M. T. S.; CAVALCANTI, M. S. A.; COELHO, L. C. B. B. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p. 219-230, 1995

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970. LEZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, *Diabetologia*, vol. 51, pp. 216-226, 2008

LEZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, *Diabetologia*, vol. 51, pp. 216-226, 2008.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Vol. 2--2 ed.—Nova Odessa, SP: Ed. Plantarum, 1998.

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

LEITE, A. C. R. ; ARAÚJO, T. G. ; CARVALHO, Bruno de Melo ; SILVA, Nicacio Henrique da ; LIMA, V L M ; MAIA, Maria Bernadete de Sousa . Parkinsonia aculeata aqueous extract fraction: biochemical studies in alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 547-552, 2007.

LEITE, Sonia Pereira ; VIEIRA, Jeymesson Raphael Cardoso ; MEDEIROS, Paloma Lys de ; LEITE, Roberta Maria Pereira ; LIMA, V L M ; XAVIER, Haroudo Satiro ; LIMA, Edeltrudes de Oliveira . Antimicrobial Activity of Indigofera suffruticosa. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 261-265, 2006.

LEITE, Ana Catarina Rezende ; CARVALHO, Bruno de Melo ; ARAÚJO, Tiago Gomes ; MAIA, Maria Bernadete de Sousa ; LIMA, V L M . Evaluation of hydroalcoholic extract from Parkinsonia aculeata on carbohydrate metabolism in diabetic rats. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.

49, p. S94-S95, 2005.

LEONIDAS, D. D.; SWAMY, B. M.; HATZOPOULOS, G. N.; GONCHIGAR, S. J.; CHACHADI, V. B.; INAMDAR, S. R.; OIKONOMAKOS, N. G. Structural basis for carbohydrate recognition of the sclerotium rolfsii lectin. **Journal Mol. Biol.**, v. 368, p. 1161, 2007

MAIOLI –AZEVEDO , V. ; STERN, V. **Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no Município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil: estudo de caso nas zonas Norte e Sul**

MANSON, J. E.; RIMM, E. B.; STAMPFER, M. J.; COLDITZ, G. A.; WILLETT, W. C.; KROLEWSKI, A. S.; ROSNER, B.; HENNEKENS, C. H. & SPEIZER, F. E., 1991. Physical activity and incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *Lancet*, 338:774-778.

MOURÃO, Rosa Helena Veras ; SILVA, T G ; VIEIRA, Érika Souza ; LIMA, Maria Do Carmo Alves de ; LIMA, V L M ; GALDINO, Suely Lins ; BARBE, J ; PITTA, Ivan da Rocha . Synthesis and biological activity of novel acridinylidene and benzylidene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, ELSEVIER, v. 40, n. 11, p. 1129-1133, 2005

NASCIMENTO, C.O.; COSTA, R.M..P.B.; ARAÚJO, R.M.S.; CHAVES, M.E.C.; COELHO, LC.B.B.; PAIVA, P.M.G.; TEIXEIRA, J.A.; CORREIA, M.T.S.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G. Optimized extraction of a lectin from *Crataeva tapia* bark using AOT in isooctane reversed micelles. **Process Biochemistry**, v.43, p. 779-782, 2008.

NAEEM, A.; KHAN, R. H.; VIKRAM, H.; AKIF, M. Purification of *Cajanus cajan* root lectin and its interaction with rhizobial lipopolysaccharide as studied by different spectroscopic techniques. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 396, p. 99-105, 2001.

NG, K. K. S.; DRICKAMER, K.; WEIS, I. Structural analysis of monosaccharides recognition by rat liver mannose-binding protein. **Journal Biological Chemistry**, v. 271, p. 663-647, 1996.

NISHIKAWA, T. ; EDELSTEIN, D. ; and BROWNLEE, M. ; “The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications”, *Kidney International*, vol. 58, no. 77, pp. 26-30, 2000.

OMARA, E. A. ; NADA, S. M. ; FARRAG, A. R. H. ; Sharaf, W. M. and S. A. El-Toumy, “Therapeutic effect of *Acacia nilotica* pods extract on streptozotocin induced diabetic nephropathy in rat”, *Phytomedicine*, vol. 19, pp. 1059-1067, 2012.

NG, K. K. S.; DRICKAMER, K.; WEIS, I. Structural analysis of monosaccharides recognition by rat liver mannose-binding protein. **Journal Biological Chemistry**, v. 271, p. 663-647, 1996.

PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart (camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 36, p. 113-118, 1992.

PATEL, D. K. ; KUMAR, R. ; LALOO, D and S Hemalatha, “Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects”, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, pp. 239-250, 2012.

PATEL, D. K. ; KUMAR, R.; LALOO, D. and S Hemalatha, “Diabetes mellitus: An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity”, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, pp. 411-420, 2012.

PEREZ GUTIÉRREZ, R. M. Compuestos aislados de plantas com actividad antiinflamatoria, antiviral e hipoglicemiante. México: Instituto Politécnico Nacional, 2002a. p. 139-185.

PEREZ GUTIÉRREZ, R. M.; VARGAS, R. S. Triterpenos from *Agarista mexicana* as potential antidiabetic agents. *Phytother. Res.*, v. 16, p. 55-58, 2002b.

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

PEUMANS, W. J. & VAN DAMME, E. J. M. Plant lectins: specific tools for the identification, isolation and characterization of O-linked glycans. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 33, p. 209-258, 1998.

PUSHPARAJ, P. N.; TAN, B. K. H.; TAN, C. H. The mechanism of hypoglycemic action of the semi-purified fractions of *Averrhoa bilimbi* in streptozotocin-diabetic rats. **Life Sciences**, v. 70, p. 535-547, 2001.

RAJESH, M. G. ; and LATHA, M. S. "Preliminary evaluation of the hepatotoxicity of Kamilari, a polyherbal formulation", *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 91, pp.99-104, 2004.

ROJO, M. A.; YATO, M.; ISHII-MINAMI, N.; MINAMI, E.; KAKU, H.; CITORES, L.; GIRBÉS, T.; SHIBUYA, N. Isolation, cDNA cloning, biological properties, and carbohydrate binding specificity of siebolding-b, a type II ribosome-inactivating protein from the bark of japanese elderberry (*Sambucus sieboldiana*). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.340, n. 2, p. 185-194, 1997.

SHARON, N.; LIS, H. Legume lectins - a large family of homologous proteins. **FASEB Journal**, v. 4, p. 3198-3208, 1990.

SENTHIL, K. R. ; PONMOZHI, M. ; VISWANATHAN, P. and N. Nalini, "Activity of Cassia auriculata leaf extract in rats with alcoholic liver injury", *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 14, pp. 452-458, 2003.

SOL, F. G. D.; CAVADA, B. S.; CALVETE, J.J. Crystal structures of *Bauhinia floribunda* seed lectin at acidic and basic pHs. Insights into the structural basis

of the pH-dependent dimer-tetramer transition. **Journal of Structural Biology**, v 158, p. 1-9, 2007

SPILATRO, S. R.; COCHRAN, G. R.; WALKER, R. E.; CABLISH, K. L.; BITTNER, C. C. Characterization of a new lectin of soybean vegetative tissues. **Plant Physiology**, v. 110, p. 825-834, 1996.

SUSEELAN, K. N.; MITRA, R.; PANDEY, R.; SAINIS, K. B.; KRISHNA, T. G. Purification and characterization of a lectin from wild sunflower (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 407, p. 241-247, 2002.

SUROLIA, A.; SHARON, N.; SCHWARZ, F. P. Thermodynamics of monossacharide and dissacharide binding of *Erythrina corallodendron* lectin. **The Journal Biological Chemistry**, v.271, p. 17697-17703, 1996.

TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (orgs.) Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco. Apresentação Cláudio Marinho. **Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, 2v., Editora Massangana, 2002.

TAKAHASHI, K. G.; KURODA, T.; MUROGA, K. Purification and antibacterial characterization of a novel isoform of the Manila clam lectin (MCL-4) from the plasma of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 150, p. 45-52, 2008

TORRES, A.R.; Oliveira, R.A.G.; Diniz, M.F.F.M. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 15(4): 373-380, Out./Dez. 2005

VAN DAMME, E. J. M.; BARRE, A.; BEMER, V.; ROUGÉ, P.; VAN LEUVEN, F.; PEUMANS, W. J. A lectin and a lectin-related protein are the two most prominent proteins in the bark of yellow wood (*Cladrastis lutea*). **Plant Molecular Biology**, v. 29, p. 579-598, 1995.

VAN DAMME, E. J. M.; VAN LEUVEN, F.; PEUMANS, W. J. Isolation , characterization and molecular cloning of the bark lectins from *Maackia amurensis*. **Glycoconjugate Journal**, v.14, p. 449-456, 1997a.

VATS, V.; GROVER, J. K.; RATHI, S. S. Evaluation of anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* Linn, *Ocimum sanctum* Linn and *Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats. **Ethnopharmacology**, v. 79, p. 95-100, 2002.

WANG, H. X.; OOI, V. E.; NG, T. B.; CHIU, K. W.; CHANG, S. T. Hypotensive and vasorelaxing activities of a lectin from the edible mushroom *Tricholoma mongolicum*. **Pharmacology Toxicology**, v. 79, n. 6, p. 318-323, 1996.

WANG, H.X; NG, T.B. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. **Life Sciences**, v. 65, n. 25, p. 2663-2677, 1999.

WANG, Y. ; LIU, Y. ; H. Wang, C. Li, P. Qi, J. Bao, “*Agaricus bisporus* lectins mediates islet β -cell proliferation through regulation of cell cycle proteins”, *Experimental Biology and Medicine*, vol. 237, pp. 287-296, 2012.

World Health Organization. Second report of the WHO Expert committee on Diabetes Mellitus. Geneva: Technical Report Series 1980; 646; pp 66.

WITITSUWANNAKUL, R.; WITITSUWANNAKUL, D.; SAKULBORIRUG, C. A. Lectin from the bark of the rubber tree (*hevea brasiliensis*). **Phytochemistry**, v. 47, n. 2, p. 183-187, 1998.

YADAV, S.; VATS, V.; DHUNNOO, Y.; GROVER, J. Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Murraya koenigii* leaves in diabetic rats. **Journal Ethnopharmacology**, v. 82, p. 111-116, 2002.

YANKUZO, Q. U. AHRMED, R. I. SANTOSA, S. F. U. Akter, and N. A. Talib, “ Beneficial effect of the leaves of *Murraya koenigii* (Linn.) Spreng (Rutaceae) on

diabetes-induced renal damage in vivo”, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 135, pp. 88-94, 2011