

## UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE VISGUEIRO, PAU-D'ÓLEO E PAU-FERRO PARA DETECTAR A PRESENÇA DE LECTINAS ATRAVÉS DA ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE COM ERITRÓCITOS

Pedro Silvino Pereira<sup>1\*</sup>, Audízio José de Oliveira<sup>2</sup>, Hidemburgo Gonçalves Rocha<sup>3</sup>, Luiz Marivando Barros<sup>4</sup>, Marcos Antonio Drumond<sup>5</sup>

1. Mestrando em Ciências Florestais (UFCEG). Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR). Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais (PPGCF). \*Correspondência: Rua Paulo Cezar Silvino, nº 43, Limoeiro. CEP 63030-255. Juazeiro do Norte-CE. E-mail: pedro.silvino@gmail.com

2. Graduado em Ciências Biológicas (URCA)

3. Doutorado em Farmacologia (UFC)

4. Doutorando em Ciências Biológicas – PG Bioquímica Toxicológica (DINTER/UFMS/URCA)

5. Doutorado em Ciências Florestais (UFV) e Docente do Mestrado em Ciências Florestais (UFCEG)

### RESUMO

A Chapada do Araripe é um berçário riquíssimo em vegetação, que carece de um estudo mais aprofundado sobre as várias espécies existentes. Sabemos que as plantas de um modo geral têm grande importância econômica para a região do Cariri, como também para outras regiões. Este trabalho visa detectar lectina através da atividade hemaglutinante com a utilização de extratos de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul.), visgueiro (*Parkia platycephala* Benth.) e pau-d'óleo (*Copaifera langsdorffii* Desf.). Visgueiro é considerado um das leguminosas mais primitivas. É uma importante forrageira que cresce no Nordeste do Brasil. Pau-d'óleo árvore baixa, apresenta propriedades medicinais: emolientes, utilizada no tratamento de cistites, blenorragias, reumatismos e, em pequenas doses, é tônico. Pau-ferro, planta de grande porte, alto e robusto, casca lisa, é um anti-inflamatório natural e antibiótico. A pesquisa foi realizada na Chapada do Araripe, em Crato, CE, no período de dezembro de 2013 a abril de 2014. Foi selecionado apenas um indivíduo de cada espécie, onde as sementes foram trituradas, peneiradas para em seguida obter o extrato. Os extratos foram utilizados para testar a atividade aglutinante dos mesmos em eritrócitos de Jumento (*Equus africanus asinus*), carneiro (*Ovis aries*) e coelho (*Oryctolagus cuniculus*). O extrato de visgueiro apresentou AH apenas para eritrócitos de carneiro, pau-ferro apresentou AH apenas para eritrócitos de jumento e pau-d'óleo apresentou AH para eritrócitos de carneiro e jumento. Indicando assim a presença de lectinas nesses extratos, porém os respectivos extratos não apresentaram atividades hemaglutinantes para eritrócitos de coelho. As lectinas detectadas apresentaram especificidade para a glicose.

**Descritores:** Chapada do Araripe, *Parkia platycephala*, *Copaifera langsdorffii*, *Caesalpinia ferrea*.

## USE OF EXTRACTS OF SEED VISGUEIRO, PAU-D'ÓLEO AND PAU-FERRO TO DETECT THE PRESENCE OF LECTINS ACTIVITY THROUGH ERYTHROCYTES HEMAGGLUTINATING

### ABSTRACT

The Araripe is a rich nursery in vegetation, which needs further study about the various existing species. We know that plants generally have great economic importance to the region of Cariri, but also for other regions. This work aims to detect through lectin hemagglutinating activity with the use of extracts of pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul.), visgueiro (*Parkia platycephala* Benth.), and pau-d'óleo (*Copaifera langsdorffii* Desf.). Visgueiro is considered one of the most primitive legumes. It is an important forage that grows in northeastern Brazil. Pau-d'óleo low tree, has medicinal properties: emollients, enter in the treatment of cystitis, gonorrhoea, rheumatism, and, in small doses, is tonic. Pau-ferro, large plant, have cylindrical trunk, tall and sturdy, smooth bark is a

natural anti-inflammatory and antibiotic. The survey was conducted in the Araripe in Crato - CE, from December 2013 to April 2014 only one individual of each species, where the seeds were crushed, sieved to obtain then the extract was selected. The extracts were used to test the binding activity of the same in erythrocytes donkey (*Equus africanus asinus*), sheep (*Ovis aries*) and rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). The visgueiro extract presented AH just to sheep erythrocytes, pau-ferro presented AH just to donkey erythrocytes and pau-d'óleo presented AH for sheep and donkey erythrocytes. Thereby indicating the presence of these extracts lectins. However, the extracts showed no haemagglutinating activity for rabbit erythrocytes. Lectins detected were specific for glucose.

**Keywords:** Chapada Araripe, *Parkia platycephala*, *copaifera langsdorffii* *Caesalpinia ferrea*.

## INTRODUÇÃO

A Chapada do Araripe, na região do Estado do Ceará, destaca-se como sítio ecológico. É possuidora de uma grande biodiversidade, tanto na sua flora; quanto na sua fauna e tem três formações vegetais em seu altiplano: mata úmida, cerrado e carrasco, com diversas espécies vegetais de potencial relevante que propicia à população o usufruto dos recursos naturais que lhes são oferecidos por este patrimônio.

Faz-se necessário um estudo mais aprofundado das plantas nativas da nossa região, como é o caso do pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex.Tul.), visgueiro (*Parkia platycephala* Benth) e do pau-d'óleo (*Copaifera langsdorffii* Desf) que estão entre as espécies mais cobiçadas pela população, em virtude de seu grande potencial econômico (medicinal, madeireira e energética) e de suas propriedades físico-químicas.

O manejo destas espécies torna-se uma ameaça de alto risco, pelo fato de serem indivíduos que podem ser eliminados por completo. Nesse caso, deixará de dar retorno para a sociedade fitoecológica da região, uma vez que a árvore adulta passa a ser muito utilizada como lenha na indústria de cimento, olarias, cerâmicas, usinas de açúcar e panificadoras. Sendo estes alguns dos mais importantes fatores que contribuem relevantemente para uma futura extinção da espécie.

Os compostos secundários, entres eles a lectina (1), encontrados nas plantas, tem a função de proteção contra invasores como os fungos, bactérias, vírus, e nematoides (2).

As lectinas são proteínas de origem não-imune, capazes de reconhecer sítios específicos em moléculas e ligar-se reversivelmente a carboidratos, sem ocorrer alteração em sua estrutura (3, 4, 5, 6).

As lectinas ao interagir com as glicoproteínas (glicoconjugados) da membrana celular podem causar aglutinação resultando em formações de ligações cruzadas das

células adjacentes (3, 7). Essa interação é a base molecular para as várias respostas que essas proteínas são capazes de induzir nos mais diversos sistemas biológicos (8).

A atividade inseticida é outra propriedade biológica importante para a agricultura, podendo se obter resultados dos efeitos deletérios e/ou probióticos *in vivo* (9).

Determinados receptores associados à membrana dos hemócitos tem a capacidade de reconhecer e aglutinar diretamente os patógenos, enquanto outros podem induzir a ativação de cascatas proteolíticas (10, 11). Alguns pesquisadores consideram a interação lectina e carboidrato e a ativação da cascata profenoxidase um dos mediadores no processo de reconhecimento de patógenos e parasitoides (12, 13, 14).

As espécies utilizadas para este estudo foram pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul.), pau-d'óleo (*Copaifera langsdorffii* Desf), e visgueiro (*Parkia platycephala* Benth).

A *Caesalpinia ferrea*, Fabaceae (leguminosa), conhecida como pau-ferro, é uma espécie secundária com boa capacidade de regeneração e de grande porte (15, 16). Na construção civil é usada, como vigas, escora, estacas e também como lenha (17, 18, 19). Medicinalmente, adocção do caule previne a presença de catarro e é cicatrizante; a casca combate a obstrução; as raízes são febrífugas e antidiarreicas; o fruto tem propriedades béquicas e antidiabéticas (20, 21, 22).

A *Parkia platycephala* Benth, Fabaceae (leguminosa), conhecida como visgueiro, faveira, é uma espécie secundária, com potencial paisagístico, e forrageiro para alimentação de ruminantes (23, 24). Sua madeira é empregada em caxotaria, tábuas, forros, lenha e carvão (23). Alguns gêneros da *Parkia* apresentam compostos antioxidantes e gastroprotetores (25, 26, 27).

A *Copaifera langsdorffii*, Fabaceae (leguminosa), conhecida popularmente como pau-d'óleo, pode viver aproximadamente 400 anos e atingir médias de altura de 32,5 metros, as suas cascas são aromáticas, a folhagem é densa, as flores são pequenas e os frutos são secos do tipo vagem (28, 29, 30, 31). A madeira é usada na marcenaria em geral, na indústria civil, naval e na fabricação de carvão (32, 33, 34, 35).

Esta pesquisa teve como objetivo detectar a presença de lectinas através da atividade hemaglutinante com eritrócito por meio da utilização de extratos de sementes de *Parkia platycephala* Benth., *Copaifera langsdorffii* Desf., e *Caesalpinia ferrea* mart. ex. Tul.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de material

Foram utilizadas 200g de sementes quiescentes de visgueiro (*Parkia platycephala* Benth), Pau-d'óleo (*Copaifera Langsdorffii* Desf) e pau-ferro (*Caesalpinia ferrea*). As sementes foram coletadas do banco de sementes da Casa do Guarda na Chapada do Araripe no ano de 2014.

Os eritrócitos foram obtidos do sangue de jumento (*Equus africanus asinus*), carneiro (*Ovis aries*) e coelho (*Oryctolagus cuniculus*). Todos os doadores eram adultos e aparentemente saudáveis, cedidos pelo matadouro público de Juazeiro do Norte e pelo Centro de Zoonoses de Crato-CE. O carboidrato utilizado foi a glicose.

### Processamento das sementes

Foi selecionada 200g de sementes de cada espécie, visgueiro, pau-d'óleo e pau-ferro, livres de tegumento, sofreram um processo de lavagem em água corrente, seguida de água destilada e foram deixadas para secar em temperatura ambiente. Após o processo de secagem, as sementes foram armazenadas em frascos de vidro, em temperatura de -4 °C, até o momento do uso.

Quando necessário as sementes de visgueiro, pau-d'óleo e pau-ferro foram trituradas em um motor de indução monofásico, adaptado para triturar sementes e, em seguida, o produto obtido era passado através de uma peneira de malha 20 mesh. O material foi então guardado em frascos de vidro, a uma temperatura de -4°C.

### Coleta de sangue

As amostras de sangue do jumento (*Equus africanus asinus*), carneiro (*Ovis aries*) e coelho (*Oryctolagus cuniculus*), foram coletadas por punção venosa e adicionados a solução de Alsever, preparada de acordo com Bukantz (36), em uma proporção de 1 volume de sangue, para 1,6 volume de solução Alsever.

A referida solução continha dextrose (2,05g), citrato de sódio (0,8), cloreto de sódio (0,42g), ácido cítrico (0,055g) e água destilada, para um volume final de 10ml.

### Obtenção dos eritrócitos

As amostras de sangue preparadas foram centrifugadas em centrífuga de bancada a 1300 x g, por 15 min. O sobrenadante foi desprezado e os eritrócitos foram lavados 4 vezes em NaCl 0,15M através de centrifugações a 1300 x g, por min. Foi utilizado 1 volume de sangue para 6 volumes de NaCl a 0,15M, uma suspensão de eritrócitos

frescos a 2,5% (v/v) em NaCl 0,15M. Foi preparada os ensaios de aglutinação, utilizando-se as células no mesmo dia da coleta de sangue..

### **Extração de lectinas**

A preparação de extrato a partir de sementes de visgueiro, pau-d'óleo e pau-ferro, foram submetidos a um teste prévio para a verificação de melhor condição de preparação dos extratos. A extração a 10% (p/v) em NaCl a 0,15M, foram procedidas por 1, 2, 3 e 4 horas, sob agitação constante, em temperatura ambiente a 4°C. As misturas assim obtidas, foram filtradas em gaze e, em seguida, centrifugadas a 4000 x g, por 15min. Os sobrenadastes, que correspondem aos extratos, foram cuidadosamente armazenados a -20°C, para posterior determinação da atividade hemaglutinante (AH).

### **Armazenamento das lectinas**

As lectinas autóctones, em solução foram armazenadas a - 20°C.

### **Atividade Hemaglutinante**

Para a determinação da AH foram utilizadas placas de microtitulação contendo 8 fileiras, de doze poços cada, nos quais foram colocados, com um pipetador automático 50µl de uma solução de NaCl 0,15M. Em seguida, foram colocados 50µl de extrato ou solução de lectina (1 mg/ml) no segundo poço, agitou-se, transferiu-se 50µl para o poço seguinte e assim sucessivamente, até o último poço. Quando necessário, prosseguiu-se à diluição na fileira seguinte. Terminadas as diluições das amostras, foram adicionados 50µl da suspensão de eritrócitos a 2,5% (v/v) em NaCl 0,15M. As placas foram mantidas em repouso por 45min a 28°C quando se fazia a leitura da AH, que corresponde a ultima diluição que apresentava a hemaglutinação em relação ao controle, e o título corresponde ao inverso da AH.

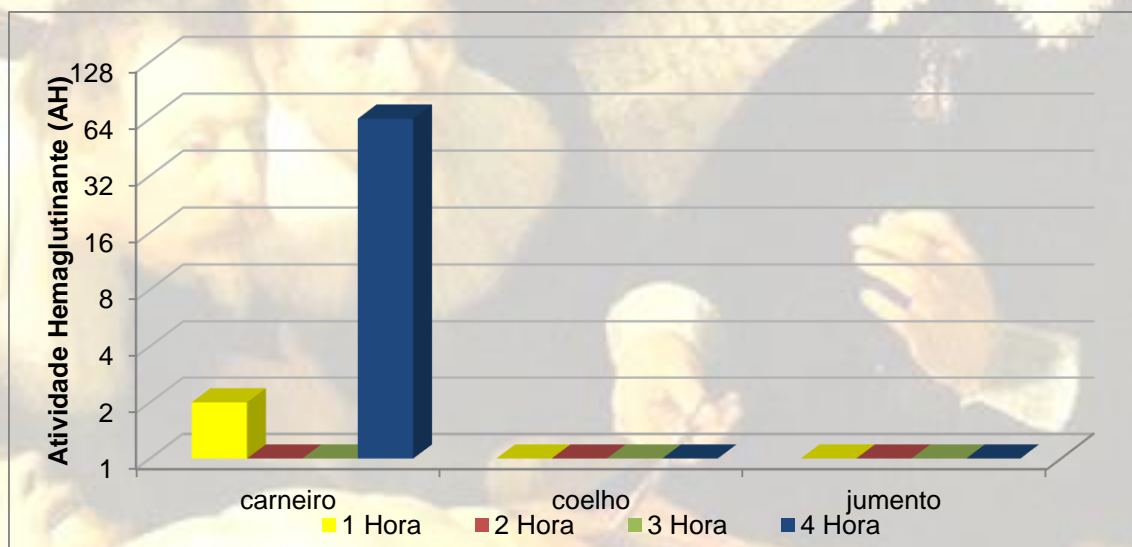
### **Ensaio de Inibição da Atividade Hemaglutinante por Carboidrato**

Em placa de microtitulação foram adicionadas 50 µl de solução contendo glicose cujas concentrações variam de 200 a 0,15 nM, em NaCl 0,15M. Em seguida, foram adicionadas ao segundo poço, 50µl do extrato a 10%(p/v), ambos em NaCl 0,15M, procedendo-se as diluições até o 12º poço. As placas foram mantidas em repouso por 20min. e adicionou-se 50µl de uma suspensão a 2,5% (v/v) de eritrócitos de

jumento (*Equus africanus asinus*), carneiro (*Ovis aries*) e coelho (*Oryctolagus cuniculus*) em todos os poços da placa, em temperatura ambiente, por 45 min, quando foi determinada a AH. Os controles utilizados constaram de 50 µl da solução contendo o carboidrato e 50 µl de suspensão.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O extrato de visgueiro apresentou atividade hemaglutinante para eritrócitos fresco (sem tratamentos) de *Ovis aries* (carneiro). Apresentando atividade hemaglutinante igual a 2 para o extrato obtido no intervalo de 1 hora e atividade hemaglutinante de 64 para o extrato obtido no intervalo de 4 h. Enquanto que nos intervalos de 2 e 3 h não apresentaram AH. Com relação aos eritrócitos de jumento (*Equus africanus asinus*) e coelho (*Oryctolagus cuniculus*) os extratos de visgueiro obtidos nos intervalos de 1, 2, 3 e 4 horas não apresentaram atividades hemaglutinantes (Figura 1).

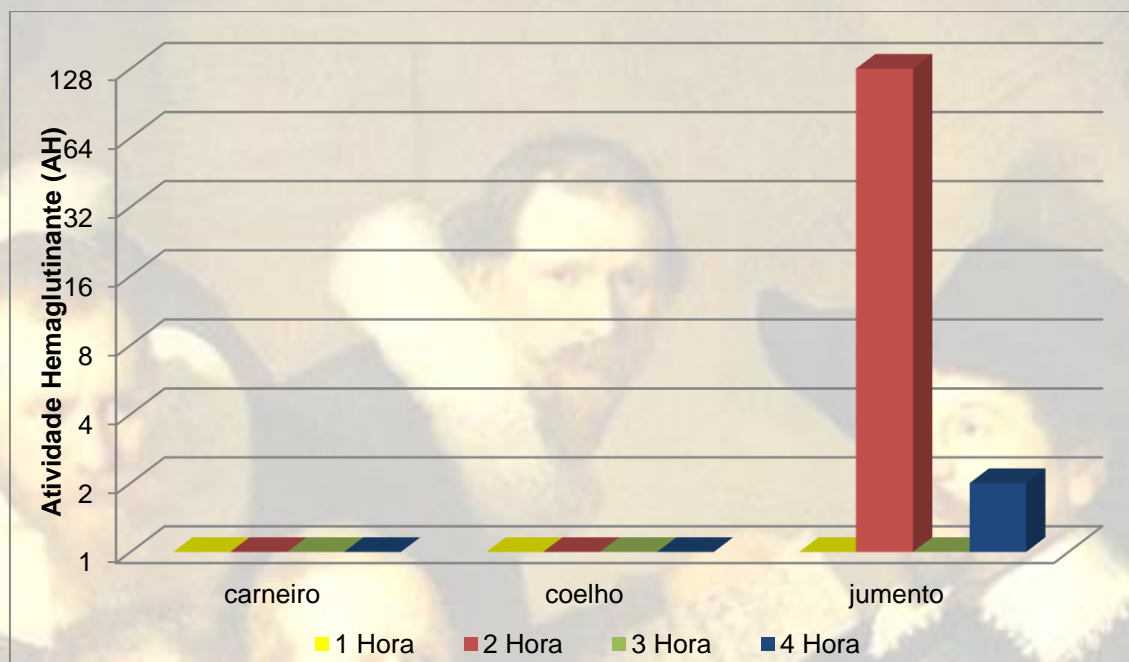


**Figura 1.** Atividade hemaglutinante para eritrócitos fresco (sem tratamentos) de carneiro (*Ovis aries*), jumento (*Equus africanus asinus*), e coelho (*Oryctolagus cuniculus*) frente ao extrato de visgueiro (*Parkia platycephala* Benth) nos intervalos de 1 a 4 horas.

Em experimentos realizados com eritrócitos humanos e de coelho, a *Parkia platycephala* não desenvolveu atividade hemaglutinante para eritrócitos humanos e desenvolveu AH para hemácias de coelhos (37).

Os extratos de pau-ferro obtidos no intervalo de 2 e 4 h apresentaram atividades hemaglutinantes para eritrócitos de jumento (*Equus africanus asinus*). Para o extrato obtido em 2 h a atividade hemaglutinante foi AH = 128, enquanto o extrato obtido no

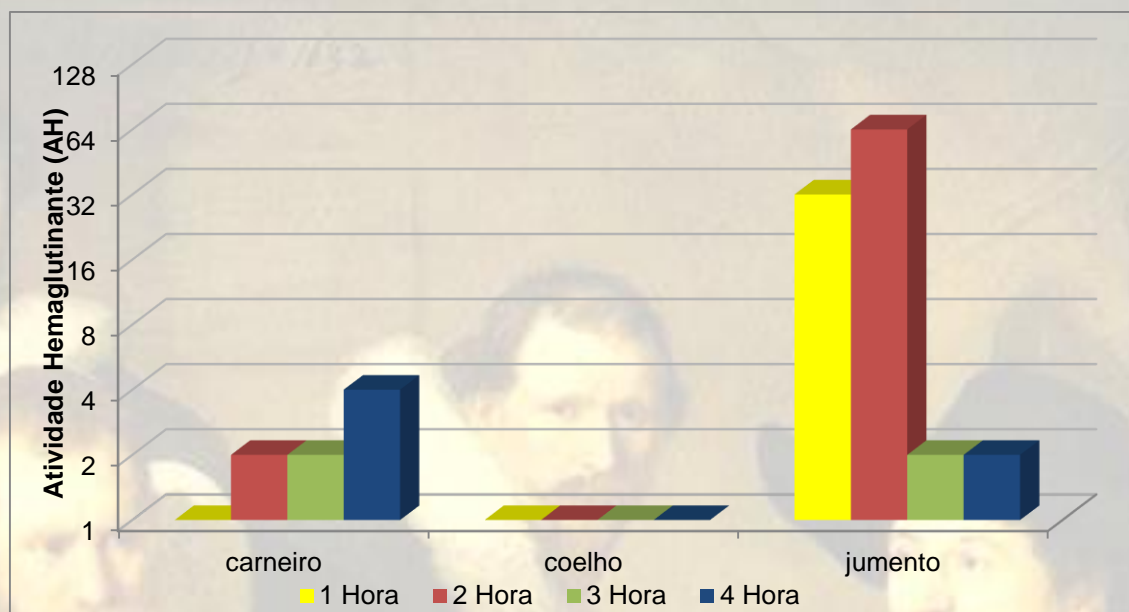
intervalo de 4 h a AH = 2. Para os intervalos de 1 e 3 h não apresentou AH. Para os outros eritrócitos os extratos utilizados não apresentaram aglutinação (Figura 2).



**Figura 2.** Atividade hemaglutinante para eritrócitos fresco (sem tratamentos) de carneiro (*Ovis aries*), jumento (*Equus africanus asinus*) e coelho (*Oryctolagus cuniculus*) frente ao extrato de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul.) nos intervalos de 1 a 4 horas.

Em experimentos com a *Caesalpinia ferrea* utilizando eritrócitos de humanos, coelho e feto bovino houve uma inibição parcial da atividade hemaglutinante, sendo os melhores resultados em *Escherichia colie Colletotrichum gloesporioide*(38).

O extrato obtido de pau-d'óleo aglutinou com eritrócitos de carneiro (*Ovis aries*) aAH = 04 intervalo de 4 h, AH = 2 para os intervalos de tempo de 2 e 3 h e não aglutinou no intervalo de 1 h. Para os eritrócitos de *Equus africanus asinus* (jumento) apresentou maior AH = 64 para o extrato obtido durante 2 horas, AH = 32 no intervalo de 1 h e AH = 2 nos intervalos de 3 e 4h, porém não apresentou atividade hemaglutinante para eritrócitos de coelho (*Oryctolagus cuniculus*) (Figura 3).



**Figura 3.** Atividade hemaglutinante para eritrócitos fresco (sem tratamentos) de carneiro (*Ovis aries*), jumento (*Equus africanus asinus*) e coelho (*Oryctolagus cuniculus*) frente ao extrato de pau-d'óleo (*Copaifera langsdorffii* Desf) nos intervalos de 1 a 4 horas.

Ensaio para determinar a inibição da AH foram realizados apenas para o extrato *P. platycephala*. A inibição foi efetuada com solução de glicose. O extrato a 10 % (p/v) em NaCl 0,15 M foi inibido totalmente por glicose, nas concentrações de 3,1 a 200 mM; logo a lectina de *P. platycephala* é específica para este carboidrato.

A maioria dos estudos com lectinas da família Leguminosae envolve membros da sub-família Papilionoideae, enquanto que investigações sobre lectinas de outras duas sub-famílias, Caesalpinoideae e Mimosoideae, são escassas. Até o momento, nenhuma informação estrutural de lectina de Mimosoideae foi publicada. O gênero *Parkia* é considerado um dos mais primitivos das leguminosas, compreendendo cerca de 30 espécies. A planta de *Parkia platycephala* Benth é uma importante forrageira que cresce no Nordeste do Brasil. A lectina de *Platycephala* (PPL) pertence ao grupo específico por glicose-manose e oligomanosídeos com ramificações a 1-3 e a 1-6, são seus melhores inibidores (39, 40).

## CONCLUSÃO

Após a realização desta pesquisa, conclui-se que:



- Foi possível a detecção de atividade hemaglutinante para os extratos de visgueiro (*Parkia platycephala* Benth), pau-d'óleo (*Copaifera Langsdorffii* Desf) e pau-ferro (*Caesalpinia ferrea*).
- Os testes de inibição da atividade hemaglutinante das lectinas de visgueiro (*Parkia platycephala* Benth), foram positivos indicando que a referida lectina é específica para glicose.
- O método utilizado para detectar a presença de lectina é simples e pode ser utilizado para uma abordagem da presença de lectinas em plantas nativas da Chapada do Araripe.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Powell KS, Gatehouse AMR, Hilder VA, Gatehouse JA. Antimetabolic effects of plant lectins and plant and fungal enzymes on the nymphal stages of two important rice pests, *Nilaparvata lugens* and *Nephotettix cinciteps*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 1993; 66(2):119-126.
2. Chapla VM, Biasetto CR, Araujo AR. Fungos Endofíticos: Uma Fonte Inexplorada e Sustentável de Novos e Bioativos Produtos Naturais. *Revista Virtual de Química*. 2013; 5(3):421-437.
3. Kocourek J, Horejsi V. Defining a lectin. *Nature*. 1981; 290:188.
4. Cavada BS. Lectinas de *Canavalia brasiliensis* Mart. Isolamento, caracterização parcial e comportamento durante a germinação. [Dissertação]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 1980.
5. Grangeiro TB, Cavada BS. Clonagem, sequenciamento e expressão do gen da lectina (Com Br) de sementes de *Canavalia brasiliensis*. [Tese]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 1996.
6. Isidro R, Sales FD, Cavada BS, Grangeiro TB, Moreira RA. Ação de lectina de sementes de *Canavalia brasiliensis* Mart. sobre o comportamento da saúva do Nordeste. *Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay)*. 2001; 27(2): 77-86.
7. Peumans WJ, Van Damme EJM. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiology* 1995; 109:347-352
8. Sell AM, Costa CP. Atividades biológicas das lectinas PHA, WGA, jacalina e artocarpina. *Acta Scientiarum*. 2000; 22(2):297-303.
9. Borgmeier, T. *Atta Opaciceps*, *Revista de entomologia*. 1939; 10(2).
10. Pathak JPN. Cell-mediated defence reactions in insects. In: Pathak JPN. *Insect Immunity*. India: Kluwer Academic Publishers; 1993.
11. Negreiro MCC; Andrade FG, Falleiros AMF. Immunology defense system in insects: an approach in velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), AgMNPV-resistant. *Semina: Ciências Agrárias*, 2004; 25(4):293-308.
12. Boucias DG, Pendland JC. The galactose binding lectin from the beet armyworm, *Spodoptera exigua*: distribution and site of synthesis. *Insect Biochem. Mol. Biol. Oxford*. 1993; 23 (2): 233-242.
13. Kawasaki K, Kubo T, Natori S. Presence of the Periplaneta lectin-related protein family in the American cockroach *Periplaneta americana*. *Insect Biochem. Mol. Biol. Oxford*. 1996; 26 (4): 355-364.
14. Wilson R, Chen C, Ratcliffe NA. Innate immunity in insects. the role of multiple endogenous serum lectin in the recognition of foreign invaders in the cockroach *Blaberus discoidalis*. *J. Immunol. Baltimore*. 1999; 162:1590-1596.
15. Braga R. *Plantas do Nordeste especialmente do Ceará*. 3ª ed. Mossoró: ESAM;1976.

16. Lenhard NR, Scalon SPQ, Novelin JO. Crescimento inicial de mudas de pau ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *leiostachya* Benth.) sob diferentes regimes hídricos. *Ciênc. Agrotec.* 2010; 4:870-877.
17. Crepaldi IC, Santana JRF, Lima PB. Quebra de dormência de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul.- leguminosae, caesalpinioideae). *Sitientibus.* 1998; 18:19-29.
18. Sobrinho JA. Pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Ex. Tul. var. *leiostachya* Benth) uma espécie para paisagismo em geral. *Floresta e ambiente.* 1998; 5(1):236-237.
19. Mota FCM, Ferreira JCS, e Imaña JME. Analysis of growth *Caesalpinia ferrea* Mart. on campus of the University of Brasilia, Federal District. *Revista Verde.* 2012; 7(4):195-200.
20. Meira Penna, Dicionário brasileiro de plantas medicinais. Rio de Janeiro: Kosmos; 1946.
21. Pio Corrêa M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Brasília: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal; 1984.
22. Lewis GP. Legumes of Bahia. Kew: Royal Botanic Gardens; 1987.
23. Lorenzi, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 4ªed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.
24. Alves AA, Sales RO, Neiva JNM, Medeiros AN, Braga AP, Azevedo AR. (2007). Degradabilidade ruminal in situ de vagens de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) em diferentes tamanhos de partículas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 2007; 59(4):1045-1051.
25. Tringali C, Spatafora C, Longo OD. Bioactive constituents of the bark of *Parkia biglobosa*. *Fitoterapia.* 2000; 71:118-125.
26. Akintayo ET. Characteristics and composition of *Parkia biglobosa* and *Jatropha curcas* oils and cakes. *Bioresource technology.* 2004; 92: 307-310.
27. Fernandes HB, Silva FV, Passos FFB, Bezerra RDS, Chaves MHO, Francisco A, Meneses Oliveira RC. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. *Biological Research.* 2010; 43(4), 451-457.
28. Araújo Júnior FA, Braz MN, Rocha Neto OG, Costa FA, Brito MVH. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2005; 20(1):93-99.
29. Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 1992.
30. Xena N, Berry PE. *Copaifera* L. In: Steyermark, J.A. et al. *Flora of the Venezuelan Guyana.* Missouri: Botanical Garden Press; 1998.
31. Pieri FA, Mussi MC, Moreira MAS. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. *Rev. Bras. Pl. Med.* 2009; 11(4):465-472.
32. Carvalho JBM. O Norte e a indústria de óleos vegetais sob o aspecto técnico-econômico. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura; 1942.
33. Loureiro A. Essências madeireiras da Amazônia, Manaus: INPA/CNPq; 1979.
34. Carvalho PER. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira. Brasília: EMBRAPA/CNPq; 1994.
35. Veiga Junior VF, Pinto AC. O Gênero *Copaifera* L. *Química nova.* 2002; 25(2):273-86.
36. Bukantz SC, Rein RC, Kent JF. Studies in complement fixation reaction. *J.Lab.Clin.* 1946; 31:394-399.
37. Grangeiro TB, De Oliveira. JTA, Moreira, RA, Cavada BS. Estudos preliminares de uma lecitina de sementes de *Parkia Platycephala* Benth. *Acta botanica brasileira.* 1990; 4(2):69-74.
38. Ximenes NCA, Purificação e caracterização da lectina da vagem de *Caesalpinia ferrea* (CfePL): aplicação biológica. [Dissertação]. Recife: Universidade Federal do Pernambuco; 2004.
39. Farias Creuza, MSA. Estudos estruturais da lectina PPL purificada de sementes de *Parkia platycephala* Benth. [Tese]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2002.
40. Bezerra, DKF. Efeito anti-inflamatório da lectina isolada de sementes de *Bauhinia bauhinioides* Mart. [Dissertação]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2012.