

### **3. REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1. Família Leguminosae**

A família Leguminosae representa uma das famílias botânicas de maior importância econômica por apresentar ampla variedade de fontes de alimentos e também por suas espécies serem utilizadas como plantas forrageiras e na produção de madeira em regiões temperadas e tropicais. Estruturalmente seus frutos e sementes aladas se distribuem por toda a zona Neotropical, este fato pode ser confirmado pelos inúmeros fósseis encontrados nos depósitos do Cretáceo e do Terciário (Heywood, 1971; Veloso *et al.*, 1991).

A família Leguminosae apresenta ampla distribuição bio-geográfica, estima-se que em todo o mundo existam cerca de 650 gêneros e até 18000 espécies, as quais são taxonomicamente, subdivididas nas sub-famílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. Considerando a seqüência geológica das leguminosas, as árvores tropicais de grande porte evoluíram para árvores pequenas, arbustos e cipós, e estes para ervas perenes e anuais. Nos Neotrópicos, um dos centros de distribuição da família é a floresta amazônica. Nos diferentes ecossistemas amazônicos, as leguminosas compõem importante parte da flora na paisagem das matas ribeirinhas, dos igapós, savanas, campinaranas, matas secundárias, cerrados e várzeas, predominando na mata primária de terra firme (Souza *et al.*, 1997; Souza & Lorenzi, 2005).

##### **3.1.1. Subfamília Caesalpinioideae**

Compreende cerca de 180 gêneros, 2500 a 3000 espécies, principalmente árvores e arbustos, tropicais e subtropicais, com distribuição cosmopolita. A maioria dos gêneros encontra-se nos trópicos, na África, América e Sudeste da Ásia. A subfamília está bem representada no Brasil, pois na Reserva Florestal Adolpho Ducke, localizada ao norte de Manaus (AM), no Km 27 da rodovia AM 010, são encontrados os representantes de 16 gêneros e aproximadamente 53 espécies

entre árvores, arbustos e lianas. A polinização é feita principalmente por insetos, morcegos e beija-flores (Ribeiro *et al.*, 1999).

Apresentam folhas bipinadas, paripinadas ou bifolioladas, flores diclamídeas ou raramente monoclamídeas, corola com prefloração imbricada ascendente ou carenal (as carenas sobrepõem as alas que sobrepõem o vexilo), dialipétala, estames geralmente em número duplo ao das pétalas, raramente em menor número, geralmente livres entre si e não vistosos; semente com pleurograma (Souza & Lorenzi, 2005).

### **3.1.2. Subfamília Mimosoideae**

Possui mais ou menos 60 gêneros e 3000 espécies em 5 tribos, apresentando distribuição principalmente pantropical e subtropical, com a maior diversidade nos gêneros *Acacia*, *Mimosa* e *Inga*. Na Reserva Ducke ocorrem representantes de 4 tribos, com 16 gêneros e 66 espécies, sendo o gênero *Inga* o maior, com 32 espécies, incluindo árvores, ervas, lianas e arbustos (Ribeiro *et al.*, 1999).

Apresentam folhas geralmente bipinadas; flores actinomorfas, diclamídeas, corola com prefloração valvar, frequentemente gamopétala, estames em número igual ou duplo ao das pétalas, numerosos e vistosos; sementes com pleurograma (Souza & Lorenzi, 2005). As flores são geralmente pequenas e sempre agrupadas em inflorescência relativamente compactas, com o número variando de poucas flores em algumas espécies de *Inga* até mais de 2000 em algumas espécies de *Parkia*. Os frutos são vagens, deiscentes ou não, mas sempre com sementes numerosas. Na maioria dos gêneros, a testa da semente é muito dura e pode permanecer viável por anos, sendo que quase todas as espécies possuem glândulas extraflorais, que produzem uma secreção rica em açúcar, utilizada por formigas como fonte de energia. A presença de formigas nas folhas protege a planta contra o ataque de herbívoros (Ribeiro *et al.*, 1999).

### 3.1.3. Subfamília Papilionoideae

É a maior das três subfamílias de Leguminosae, com aproximadamente 500 gêneros e mais de 10000 espécies divididas em 31 tribos. Apresenta distribuição bastante ampla, nas zonas tropicais, subtropicais, estendendo-se às regiões temperadas, mas sua maior diversidade encontra-se nos trópicos americanos e africanos. É constituída por representantes de diversos tipos de hábitos, incluindo ervas, lianas e árvores. Na Reserva Ducke ocorrem 68 espécies, sendo que a maior representação é no gênero *Swartzia*. A polinização é feita por beija-flores, morcegos e insetos e, principalmente, por abelhas (Ribeiro *et al.*, 1999).

As folhas são imparipinadas, trifolioladas ou unifolioladas; flores diclamídeas, corola com prefloração imbricada descendente ou vexilar; sementes com pleurograma, mas com hilo bem desenvolvido (Souza & Lorenzi, 2005). O fruto é uma vagem, com uma até muitas sementes dentro; pode ser deiscente ou não, segmentado entre as sementes, inteiro ou circular. O fruto pode ser seco ou carnoso. As sementes sempre têm testas duras. O fruto pode ser espesso ou achatado e às vezes pode ser alado, dependendo do tipo de dispersão. As sementes e frutos de muitos gêneros dessa subfamília são ricos em proteínas, vitaminas, carboidratos e minerais, constituindo importante fonte de alimento. Na Amazônia a subfamília apresenta potencial econômico, pelo fato das plantas serem nutritivas e a madeira de algumas espécies ser utilizada na construção civil, marcenaria, carpintaria e até mesmo na fabricação de instrumentos musicais (Ribeiro *et al.*, 1999).

### 3.1.4. Caracterização das espécies vegetais

*Caesalpinia ferrea* Mart. var. *cearensis* (jucá) - Leguminosae: Caesalpinioideae

O jucá é uma árvore pequena ou mediana, que pode atingir até 10 m de altura. Os frutos são vagens de formato irregular, com 7 cm de comprimento por 1,8 cm de largura e espessura de 1 mm. O pericarpo é duro, indeiscente e de cor castanho-avermelhada. As sementes são duras, lisas e não possuem arilo. A floração ocorre entre novembro e abril. É uma espécie nativa da Amazônia, mas tem

ampla distribuição, ocorrendo desde o Ceará até a Bahia. A madeira tem cerne duro, difícil de ser dobrada, porém possui boas propriedades elásticas. A casca em infusão é usada para combater tosse e asma e a folhagem fornece bom alimento para o gado (Prance & Silva, 1975).



**Figura 1** - *C. ferrea*. a) ramo com folhas compostas e flores (www.google.com); b) indivíduo adulto (www.google.com) e c) sementes de *Caesalpinia ferrea* var. *carensis* (foto: Bariani, A.).

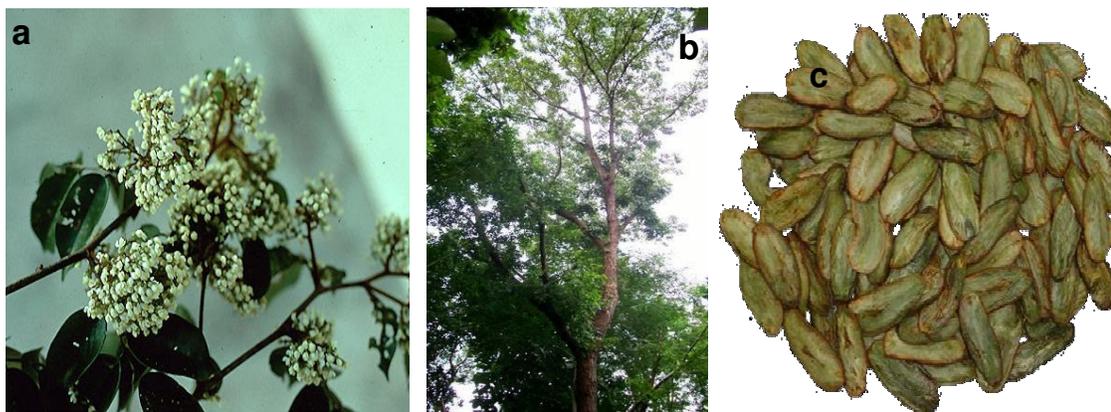
*Cedrelinga catenaeformis* (cedrorana) - Leguminosae: Mimosoideae

O gênero *Cedrelinga* é monotípico, tendo a espécie *C. catenaeformis* Ducke como tipo genérico. Esse gênero é restrito à região neotropical e tem a Amazônia como seu centro de distribuição natural (Silva *et al.*, 1992).

A espécie *C. catenaeformis* (cedrorana) apresenta hábito arbóreo emergente, casca grossa e rugosa, tronco circular e base reta, inflorescência terminal ou subterminal, fruto indeiscente com dispersão anemocórica. Apresenta madeira moderadamente pesada (0,60 a 0,70 g/cm<sup>3</sup>). É uma espécie rara, ocorrendo naturalmente em matas altas de terra firme, de forma mais comum nas nascentes e nos cursos superiores de rios e margens baixas de igarapés em terreno argiloso. Sua distribuição abrange Peru, Colômbia, Amazonas e Pará (Loureiro *et al.*, 1977; Corrêa, 1984; Ribeiro *et al.*, 1999; Clay *et al.*, 2000).

A madeira de cedrorana pode ser utilizada na construção leve (assoalhos, paredes, etc.), marcenaria, carpintaria, construção civil e naval, celulose, papel e movelaria (Loureiro *et al.*, 1977; Ribeiro *et al.*, 1999). Além disso, essa espécie está incluída no grupo das leguminosas fixadoras de N<sub>2</sub> (nitrogênio), podendo ser

recomendada para plantios visando a restauração ecológica ou em sistemas agroflorestais por apresentar bom crescimento em altura, diâmetro e alta percentagem de sobrevivência em plena abertura e sob sombra (Silva *et al.*, 1992; Ribeiro *et al.*, 1999; Clay *et al.*, 2000).



**Figura 2** - *Cedrelinga catenaeformis*. a) ramo com folhas e flores (www.mobot.org); b) árvore (foto: Bariani, A.) e c) sementes (foto: Bariani, A.).

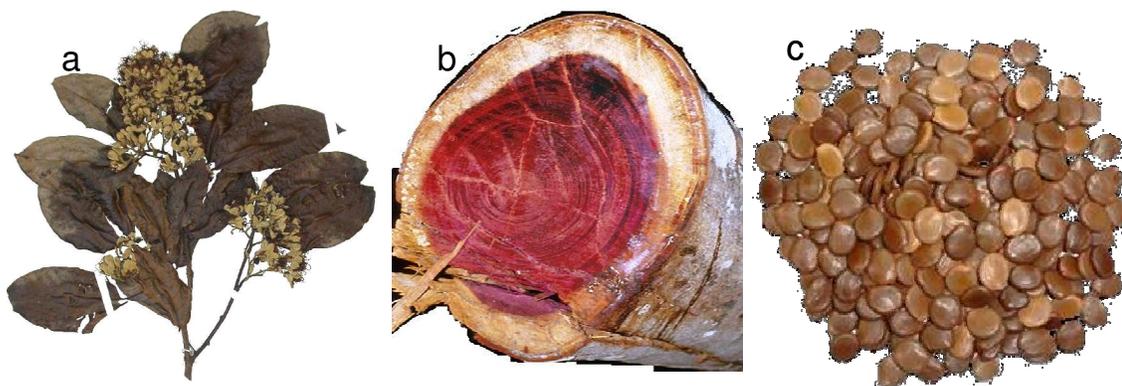
*Peltogyne venosa* (pau-roxo, pau-violeta) - Leguminosae: Caesalpinioideae

Este gênero apresenta 23 espécies, folhas com dois folíolos de textura levemente reticulados e intrincada, flores pequenas de coloração branca, frutos pequenos (de 3 cm ou menos), sementes de formato triangular e margem dorsal levemente estreita e muito expandida quando madura (Gentry, 1993).

O gênero ocupa importante lugar entre as espécies arbóreas amazônicas, devido ao grande número de espécies e de indivíduos que atingem diferentes portes, com madeira de boa qualidade. Apresentam, após o corte, madeira de coloração roxa ou violácea. Várias espécies já foram utilizadas em estudos fitoquímicos, sendo até isolada do cerne de *Peltogyne recifensis* uma substância cristalizada, com propriedades antimicrobianas. Distribui-se desde o México ao longo da América Central, no Panamá, até a região Sudeste da América do Sul. A Amazônia Central evidencia-se como o seu centro de distribuição geográfica. Do ponto de vista fitogeográfico, as espécies do gênero *Peltogyne* ocorrem nos mais diferentes tipos de habitats e do ponto de vista sistemático, este gênero foi descrito por Vogel, Bentham, e Ducke, sendo que este último limitou-se apenas as espécies

amazônicas (Silva, 1975).

A espécie *P. venosa* apresenta como sinonímia *Hymenea venosa*, árvore de dossel com tronco cilíndrico, pouco tortuoso e de base reta; ritidoma castanho e lenticelado; casca viva externa púrpura e a mais interna vermelho-claro. A oxidação ocorre rapidamente, deixando o alburno laranja. As folhas possuem pilosidade hispida (Ribeiro *et al.*, 1999).



**Figura 3** - *Peltoogyne venosa*. a) ramo com folhas e flores (www.mobot.org); b) tronco (www.bio.ub.br) e c) sementes (foto: Bariani, A).

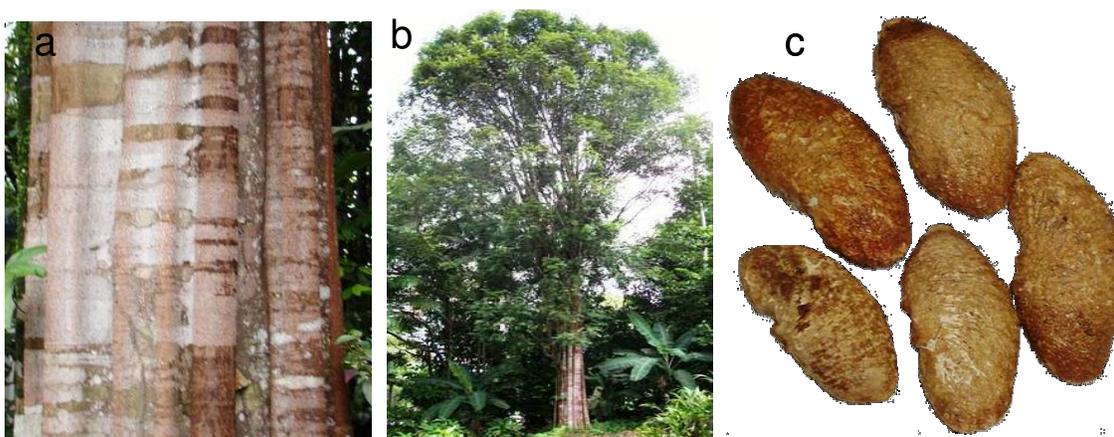
*Swartzia polyphylla* (paracutaca; arabá) - Leguminosae: Papilionoideae

O gênero *Swartzia* Schreber está representado por cerca de 155 espécies, com maior distribuição na América do Sul. Quase todas as espécies ocorrem na América Tropical, tendo a Amazônia como o seu centro de dispersão. A grande maioria possui hábito arbóreo, apresentando poucas espécies arbustivas. Espécies deste gênero apresentam madeira de ótima qualidade e bom aspecto decorativo (Loureiro & Rodrigues, 1975).

*S. polyphylla* (paracutaca; arabá), pertencente à tribo Swartzieae, possui hábito arbóreo de dossel, copa ampla e meio achatada, tronco característico com sapopemas altas e onduladas e exsudação vermelha, abundante. Os folíolos são também distintos por causa das veias impressas na superfície adaxial. Sua distribuição geográfica abrange da Amazônia Central até Guianas (Ribeiro *et al.*, 1999).

As plantas de *Swartzia* representam fontes de constituintes biológicos ativos com potencial farmacológico e várias substâncias obtidas de frutos, folhas, caule e

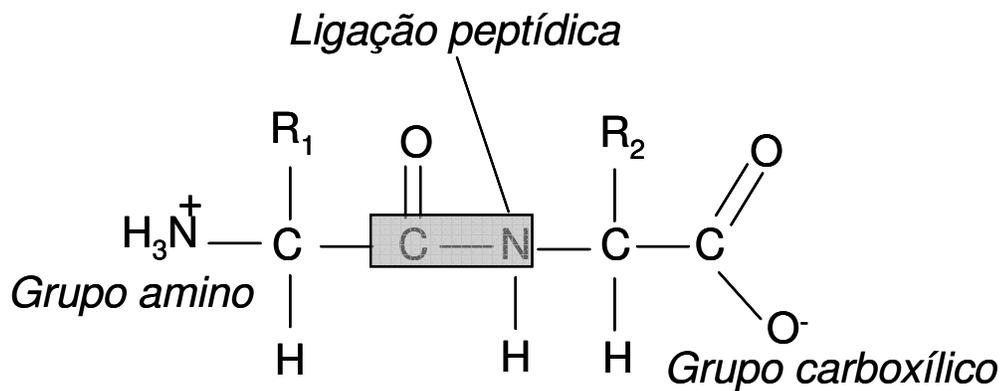
sementes, vêm sendo testadas *in vitro* e *in vivo*, especialmente para o controle de fungos, bactérias, insetos e de moluscos causadores de doenças tropicais, evidenciando que o interesse decorrente do emprego industrial destes princípios ativos tem contribuído para o aperfeiçoamento de técnicas, tanto no desenvolvimento de novos bioensaios, como de isolamento e elucidação estrutural de substâncias, visando à otimização e a identificação de novos constituintes (Jesus, 2003).



**Figura 4** - *Swartzia polyphylla*. A) tronco (foto: Bariani, A.); b) indivíduo adulto (Bariani, A.) e c) sementes (foto: Bariani, A.).

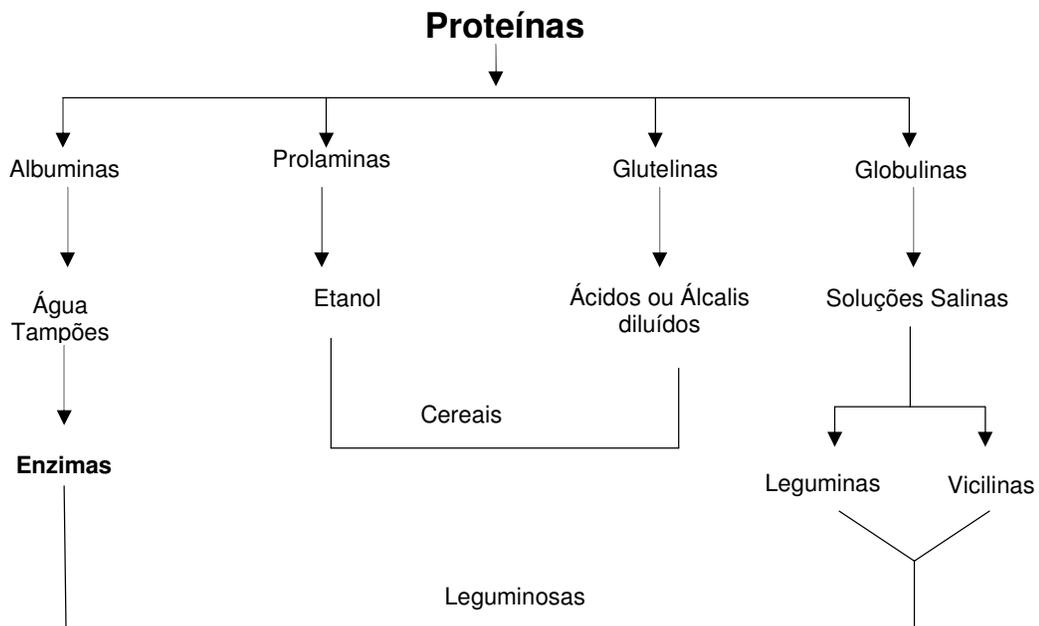
### 3. 2. Proteínas

As proteínas são os metabólitos primários mais abundantes em todos os seres vivos e desempenham funções essenciais em todos os processos biológicos. Estas biomoléculas são constituídas de aminoácidos, os quais são unidos por ligações peptídicas (figura 5), e diferem quanto à conformação estrutural e funcional, pela composição e seqüência de suas unidades constituintes e/ou outros ligantes não-protéicos como, por exemplo, metais e açúcares (Marcellino, 2002; Berg *et al.*, 2004).



**Figura 5** – Representação esquemática de duas unidades de aminoácidos ligadas entre si por uma ligação peptídica (Berg *et al.*, 2004).

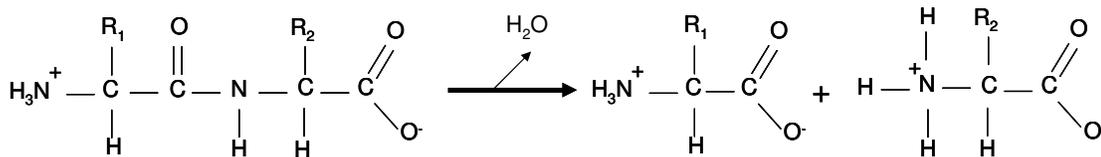
De acordo com os critérios propostos por Osborne (1924), as proteínas das sementes foram classificadas em albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas, de acordo com sua solubilidade em água, soluções salinas, soluções alcoólicas e soluções ácidas ou básicas diluídas respectivamente (Figura 6). Dentro do grupo das globulinas encontram-se os inibidores de proteinases e as lectinas.



**Figura 6** – Classificação das proteínas quanto ao grau de solubilidade (Osborne, 1924).

### 3.3. Enzimas Proteolíticas

As enzimas proteolíticas ou proteinases catalisam a clivagem hidrolítica de ligações peptídicas em outras proteínas (figura 7). O termo proteinase é designado para as enzimas que clivam ligações peptídicas internas em proteínas, com a produção de peptídeos e o termo protease refere-se às enzimas que clivam as ligações nas extremidades, liberando resíduos de aminoácidos C- ou N-terminal de peptídeos ou proteínas (Mikola, 1983; Bode & Huber, 2000; Mosolov & Valueva, 2005). Alguns exemplos dessas proteinases são a tripsina, quimotripsina e pepsina, nos animais e papaína, ficina e bromelaína nos vegetais (White *et al.*, 1986). O papel das enzimas proteolíticas pode ser visto como parte de um processo global de renovação de proteína, visto que essas proteínas adquiriram grau de especialização durante sua evolução biológica, restringindo seu mecanismo de ação sobre ligações peptídicas específicas (Bode & Huber, 2000).



**Figura 7** – Representação esquemática de um dipeptídeo e a liberação dos mesmos após clivagem proteolítica (Berg *et al.*, 2004).

Algumas proteinases podem atuar na digestão extra e intracelular de outras proteínas, mas a maioria desempenha outras funções em muitos processos biológicos especializados, tais como a ativação da cascata de zimogênio, liberação de hormônios precursores, liberação de peptídeos fisiologicamente ativos, ativação de receptores ou translocação através de membranas. No processo germinativo de sementes, participam da degradação de proteínas de reserva, fornecendo nitrogênio para as vias de biossíntese, além de atuarem como componentes na interação entre plantas e outros organismos (Bode & Huber, 2000; José, 2002; Lawrence & Koundal, 2002; Balestrazzi *et al.*, 2004).

As enzimas proteolíticas são indispensáveis para os processos fisiológicos em animais, porém se não forem adequadamente controladas, podem representar um

risco em potencial, destruindo componentes protéicos celulares (Neurath, 1984). Existem naturalmente dois mecanismos básicos de regulação para o controle dessas enzimas: a) ativação de precursores de proteinases inativos (zimogênios) por proteólise limitada, que consiste na quebra específica de algumas ligações peptídicas, sendo determinada pela ação da enzima à ligação peptídica alvo na proteína a ser hidrolisada, formando o complexo enzima-substrato (Bode & Huber, 2000) e b) inativação de proteinases pela formação de complexos com inibidores protéicos, com a formação do complexo enzima-inibidor (Laskowski & Cassim, 2000).

As enzimas proteolíticas são classificadas de acordo com o seu mecanismo de catálise e composição de seu sítio ativo, podendo ser divididas em seis grupos principais (tabela 1). Dessa forma, as serinoproteinases, cisteinoproteinases e proteinases aspárticas possuem em seus sítios ativos os aminoácidos serina, cisteína e aspartato, respectivamente. As metaloproteinases, por sua vez, possuem em seu sítio ativo um íon metálico ( $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  ou  $Mn^{2+}$ ) (Neurath, 1984; Richardson, 1977; Carlini & Grossi-de-Sá, 2002).

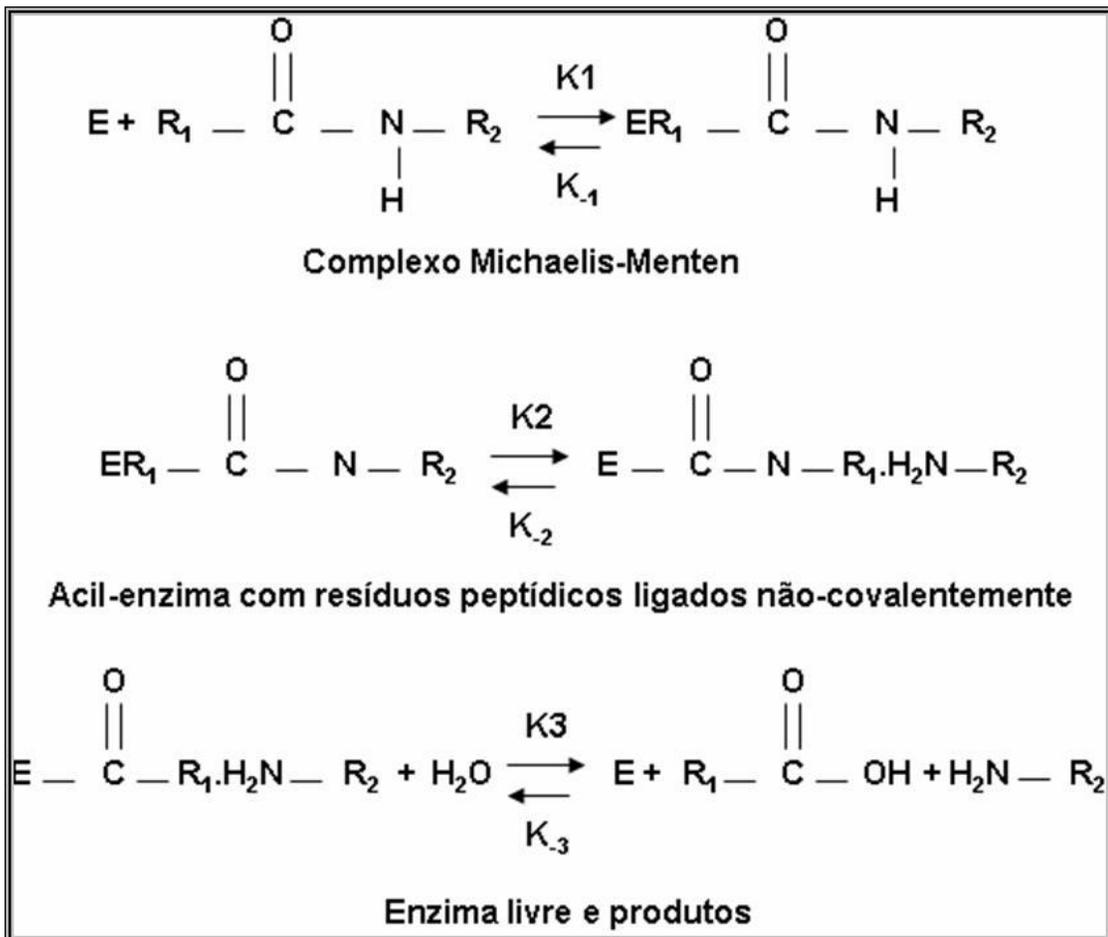
**Tabela 1** – Famílias de enzimas proteolíticas.

<b>Família</b>	<b>Proteinases representativas</b>	<b>Componentes característicos dos sítios ativo</b>
Serinoproteinases I	Quimotripsina, tripsina, elastase, calicreínas	Asp (102), Ser (195), His (57)
Serinoproteinases II	Subtilisina, papaína, actinidina	Asp (32), Ser (221), His (64)
Cisteinoproteinases	Catepsinas B e H de fígado de rato	Cys (25), His (159), Asp (158)
Proteinases ácidas	Penicilopepsina, pepsina, <i>Rhisopus chinesis</i> , <i>Endothia parasitica</i> , renina	Asp (33), Asp(213)
Metaloproteinases I	Carboxipeptidase bovina A e B	Zn, Gln (270), Tyr (24)
Metaloproteinases II	Termolisina	Zn, Glu (143), His (23)

\* Fonte: Neurath (1993).

Dentre as enzimas proteolíticas, o grupo das serinoproteinases é o mais bem estudado e caracterizado. Estas enzimas são secretadas pelo pâncreas de animais na forma de zimogênios e por modificações proteolíticas são posteriormente ativadas no trato intestinal (Barret, 1986; Neurath, 1989).

Do ponto de vista de atividade, as serinoproteinases clivam proteínas de acordo com o mecanismo cinético mostrado na figura 8 (Radisky & Koshland Jr., 2002).



**Figura 8** – Mecanismo cinético das serinoproteinases. Fonte: Radisky & Koshland Jr. (2002).