



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

ÊSDRAS DA SILVA MEDEIROS

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO INIBIDOR DE TRIPSINA DE FLORES DE
***Moringa oleifera*: UMA REVISÃO**

Recife, 2021

ÊSDRAS DA SILVA MEDEIROS

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO INIBIDOR DE TRIPSINA DE FLORES DE
Moringa oleifera: UMA REVISÃO**

Monografia apresentada à coordenação do curso de Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para conclusão da disciplina de estágio curricular obrigatório II e obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual
Co-orientadora: Msc. Isabella Coimbra Vila Nova

Recife, 2021

ÊSDRAS DA SILVA MEDEIROS

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DO INIBIDOR DE TRIPSINA DE FLORES DE
Moringa oleifera: UMA REVISÃO**

Área de concentração: Ciências Biológicas

Data de defesa: 16/12/2021

Resultado: Aprovado com média 9,5 e conceito A

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual (Presidente)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE

(emmanuel.pontual@ufrpe.br)

Ms. Welton Aaron de Almeida (1° Titular)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE

(weltonaaron4@gmail.com)

Prof. Dr. Rodrigo da Silva Ferreira (2° Titular)

Departamento de Medicina, UPE/Campus Garanhuns (rodrigobioq@gmail.com)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M488p Medeiros, Êsdras da Silva Medeiros
 Potencial biotecnológico do inibidor de tripsina de flores de Moringa oleifera: Uma revisão: Uma Revisão
 / Êsdras da Silva Medeiros Medeiros. - 2021.
 34 f. : il.

 Orientador: Emmanuel Viana Pontual.
 Coorientador: Isabella Coimbra Vila Nova.
 Inclui referências.

 Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife,
 2021.

 1. Inibidor de protease. 2. atividade inseticida. 3. atividade antiparasitária. 4. atividade antitumoral. 5.
 atividade imunomoduladora. I. Pontual, Emmanuel Viana, orient. II. Nova, Isabella Coimbra Vila, coorient. III.
 Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Emmanuel Viana Pontual pela grande paciência e ajuda prestada para realização deste trabalho;

À co-orientadora, Isabella Coimbra Vila Nova, pelas orientações prestadas no desenvolvimento e confecção deste trabalho;

Aos meus colegas e amigos que me prestaram apoio durante os anos letivos e auxílio para confecção deste;

Ao meu pai e minha mãe por sempre me apoiarem nos estudos e fornecerem todos os meios para tanto.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco, FACEPE, pela bolsa de Iniciação Científica (BIC-1540-2.09/19 e BIC-1245-2.09/20).

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela minha formação e oportunidades durante o curso de graduação.

MEDEIROS, E.S. **Potencial biotecnológico do inibidor de tripsina de flores de *Moringa oleifera*: uma revisão.** 2021. Monografia – Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2021.

RESUMO

Este trabalho apresenta uma revisão sobre as aplicações do inibidor de tripsina de flores de *Moringa oleifera* (MoFTI) como agente inseticida, antiparasitário, antitumoral, imunomodulador e anti-inflamatório. MoFTI é uma proteína de 18,2 kDa (K_i contra tripsina de 2,4 μM) que matou (LC₅₀ de 0,3 mg/mL) ou atrasou o desenvolvimento de larvas de *Aedes aegypti* recém-eclodidas e prejudicou o crescimento e a viabilidade da microbiota intestinal larval (MIC de 0,031 mg/mL; MBC de 1,0 mg/mL). Também foi relatado que MoFTI causou lise de tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* (CL₅₀ de 41,2 μg/mL). O inibidor estimulou a liberação das citocinas inflamatórias TNF-α e INF-γ, da citocina anti-inflamatória IL-10 e NO por células mononucleares do sangue periférico humano (PBMCs) infectadas com *T. cruzi*, com a vantagem de exercer baixa toxicidade para macrófagos peritoneais murinos e células Vero, e nenhuma toxicidade para PBMCs humanos. Sabe-se que a atividade antitumoral de MoFTI envolve a redução do peso de sarcoma 180 em camundongos e o comprometimento da vascularização no microambiente tumoral sem exercer toxicidade aos animais. Além disso, o inibidor é um agente anti-inflamatório e imunomodulador, pois reduziu o edema de pata e a migração de leucócitos para a cavidade peritoneal em camundongos, e modulou os níveis de NO e citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-6 e IL-17A) e anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10), respectivamente. Os dados revisados implicam no MoFTI como uma molécula interessante para aplicações biotecnológicas, seja por seu potencial inseticida ou valor farmacológico.

Palavras-chave: Inibidor de protease, atividade inseticida, atividade antiparasitária, atividade antitumoral, atividade imunomoduladora, atividade antiinflamatória.

MEDEIROS, E.S. **Biotechnological potential of a trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers: a review.** 2021. Monografia – Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2021.

ABSTRACT

This work provides a review on the applications of the *Moringa oleifera* flower trypsin inhibitor (MoFTI) as an insecticidal, antiparasitic, antitumor, immunomodulatory and anti-inflammatory agent. MoFTI is a 18.2-kDa protein (K_i against trypsin of 2.4 μM) that killed (LC₅₀ of 0.3 mg/mL) or delayed the development of newly hatched *Aedes aegypti* larvae and impaired the growth and viability of the larval gut microbiota (MIC of 0.031 mg/mL; MBC of 1.0 mg/mL). It was also reported that MoFTI caused lysis of *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes (LC₅₀ of 41.2 μg/mL). The inhibitor stimulated the release of the inflammatory cytokines TNF-α and INF-γ, the anti-inflammatory cytokine IL-10, and NO by *T. cruzi*-infected human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) with the advantage of exerts low toxicity to murine peritoneal macrophages and Vero cells, and no toxicity to human PBMCs. It is known that MoFTI antitumor activity involves the reduction of sarcoma 180 tumor weight in mice and the impairment of the vascularization in tumor microenvironment without exerting toxicity to the animals. Also the inhibitor is an anti-inflammatory and immunomodulatory agent because it reduced paddle edema and leukocyte migration to the peritoneal cavity in mice, and modulated levels of NO, pro-inflammatory (TNF-α, IL-6 and IL-17A) and anti-inflammatory (IL-4 and IL-10) cytokines, respectively. The reviewed data implicate MoFTI as an interesting molecule for biotechnological applications, whether due to its insecticidal potential or pharmacological value.

Key-Words: Protease inhibitor, insecticidal activity, antiparasitic activity, antitumor activity, immunomodulatory activity, anti-inflammatory activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - (A) Partes de *M. oleifera*. Em detalhe: (B) folhas, (C) flor e (D) sementes.

Fonte: NAPOLEÃO, Thiago H. et al., 2019; ASBRAN; germiverde.

Figura 2 - Ciclo de vida do *Aedes aegypti*. Fonte: Tua saúde. HINRICHSEN, Sylvia., 2021.

Figura 3 - (A) Estrutura tridimensional da tripsina, (B) Tripsina hidrolisando um cromógeno. Fonte: Mundo da bioquímica, 2014; SANTOS et al., 2016.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	10
2. Objetivo.....	12
3. Referencial teórico.....	12
3.1. <i>Aedes aegypti</i>	12
3.2. Doenças tropicais negligenciadas.....	13
3.2.1. Chikungunya.....	14
3.2.2. Dengue.....	14
3.2.3. Febre amarela.....	15
3.2.4. Febre Zika.....	16
3.2.5. Doença de Chagas.....	17
3.3. Câncer.....	17
3.4. Inibidores de proteases e suas aplicações farmacológicas.....	18
3.5. <i>Moringa Oleifera</i>	19
4. Metodologia.....	20
5. Resultados e discussão.....	21
5.1. Características Bioquímicas do MoFTI.....	21
5.2. Potencial para uso no controle populacional de vetor de doenças.....	21
5.3. Potencial Farmacológico.....	23
5.3.1. Atividade Antiparasitária.....	23
5.3.2. Atividade antitumoral.....	24
6. Conclusões.....	25
7. Referências.....	26

INTRODUÇÃO

Moringa oleifera (Lamarck) é uma planta pantropical, originária de 29 países africanos e asiáticos que hoje pode ser encontrada em toda faixa equatorial e entre os trópicos na América do Sul, América Central e o Caribe. *M. oleifera* faz parte da Família Moringaceae e o gênero *Moringa* agrupa pelo menos 13 espécies que possuem distribuição espacial parecidas. Conhecida como uma das plantas de maior utilidade para os humanos, *M. oleifera* abrange um amplo espectro de utilização que inclui o alto valor nutricional de todas as suas partes, as quais são consumidas como alimento (Anwar et al., 2007).

As flores da *M. oleifera* podem ser consumidas de diversas formas como em saladas, lasanhas ou até mesmo em pizzas. Além disso, é reconhecido o seu potencial na medicina popular através do uso tradicional como chás e infusões em diferentes partes do mundo, principalmente na Índia (Anwar et al., 2007; Pontual et al., 2012). Sua composição inclui diversos nutrientes como cálcio e potássio, essenciais para o controle de transdução de sinais nervosos no corpo humano e da constituição da matriz óssea, além de apresentarem antioxidantes como o tocoferol, além disso, a planta possui diversos usos na medicina popular (Netshiheni et al., 2021; Sankhalkar., 2021).

A partir das flores de *M. oleifera* foi extraída uma proteína de 18 kDa com capacidade de inibir a tripsina, à qual foi dado o nome de MoFTI (*M. oleifera* flower trypsin inhibitor), este por sua vez foi capaz de matar larvas de *A. aegypti* recém eclodidas com CL₅₀ (concentração letal para 50% das larvas) de 0,3 mg/mL e atrasou o desenvolvimento das larvas que continuaram vivas após o tratamento (Pontual et al., 2014). Os autores mostraram ainda que o crescimento e a viabilidade da microbiota intestinal de larvas no quarto estágio foram prejudicados pelo inibidor com CMI (concentração mínima inibitória) de 0,031 mg/mL e CMB (concentração mínima bactericida) de 1,0 mg/mL. O potencial antiparasitário de MoFTI inclui toxicidade direta para tripomastigotas de *T. cruzi* (concentração que causa sile em 50% de tripomastigotas, CL₅₀, de 41,2 µg/mL) e o efeito imunomodulador sobre células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) humanas infectadas por *T. cruzi* através do aumento na liberação das citocinas pró-inflamatórias TNF-α e INF-γ,

e da produção de NO e da citocina anti-inflamatória IL-10 (Pontual et al., 2018; Nova et al., 2020). Interessantemente MoFTI exerce baixa toxicidade para macrófagos peritoneais murinos e células Vero (CC50 de 407,01 µg/mL e > 500 µg/ mL, respectivamente) e ausência de toxicidade para PBMCs humanas (Pontual et al., 2018; Nova et al., 2020). O tratamento com MoFTI reduziu *in vivo* o peso de tumor sarcoma 180 em mais de 90%, além de reduzir o número de vasos sanguíneos secundários e o calibre dos vasos primários sem afetar o consumo de água e comida ou o peso corporal e dos órgãos dos animais ou causar danos ao fígado, rins e baço (Patriota et al., 2020). MoFTI reduziu o edema da pata, a migração de leucócitos, o extravasamento de plasma e os níveis de NO e citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL -6 e IL-17A) e antiinflamatórias (IL-4 e IL-10) (Patriota et al., 2021a; Patriota et al., 2021b). O presente trabalho de conclusão de curso fornece uma revisão sobre o potencial biotecnológico do Inibidor de tripsina de flores de *M. oleifera* (MoFTI) como agente larvicida contra o vetor da dengue *Aedes aegypti*, antiparasitário contra o protozoário causador da doença de Chagas *Trypanosoma cruzi*, antitumoral contra sarcoma 180, bem como imunomodulador e anti-inflamatório.

2. OBJETIVO

Realizar uma revisão de literatura sobre o potencial biotecnológico do inibidor de tripsina de flores de *M. oleifera* (MoFTI).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Aedes aegypti*.

Os mosquitos do gênero *Aedes*, pertencentes à Ordem Diptera e Família Culicidae, são nativos do continente africano e se adaptaram às condições climáticas de países Americanos inseridos nos trópicos (Terra et al., 2017). *Aedes aegypti*, é o representante mais conhecido do gênero, por ser o principal vetor de diferentes arboviroses, tais como a Dengue, Febre Zika, Febre amarela e Febre Chikungunya. É uma espécie de insetos considerados antropofílicos, visto que possuem uma preferência por ambientes urbanos, muito provavelmente devido às condições que esse meio proporciona ao seu desenvolvimento, como a disponibilidade de ambiente para oviposição e desenvolvimento de suas fases aquáticas, os quais incluem recipientes e locais abandonados e com água estagnada (Nelson et al., 1986).

Fêmeas e machos adultos de *A. aegypti* se alimentam de seiva vegetal e outras fontes de carboidratos como o néctar. Contudo, após a cópula as fêmeas adquirem hábitos hematofágos, sendo o sangue de vertebrados necessário para o desenvolvimento dos embriões (Natal, 2002). O ciclo de vida desses insetos compreende as fases de ovo, quatro instares larvais, pupa e a fase adulta (Figura 2). O metabolismo desses insetos é muito relacionado ao meio e à disponibilidade de recursos (densidade de indivíduos, turbidez, temperatura e disponibilidade de alimento), com a temperatura influenciando fortemente na sua capacidade metabólica; A depender dessas condições, o embrião se desenvolve em até 48 h (Riback, 2009).

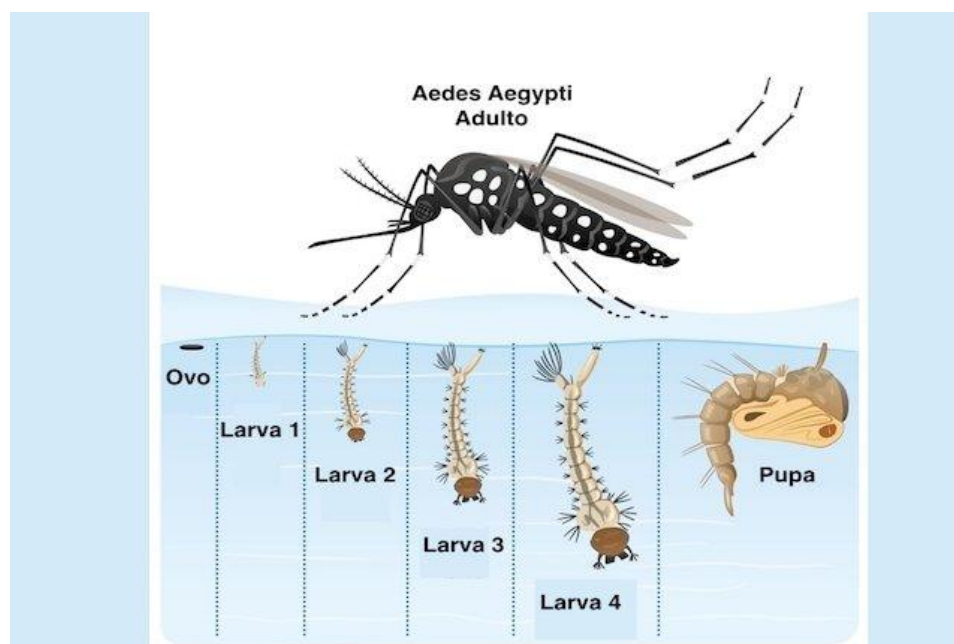


Figura 2 - Ciclo de vida do *Aedes aegypti*.

Apesar de sua capacidade de vôo ser pequena (200 metros), limitando-se a um raio de ação em torno do local onde se desenvolveu, a dispersão a longas distâncias se deve principalmente ao transporte de ovos, sendo esses muito resistentes a dessecação, mas também pode ocorrer o transporte das larvas (Natal, 2002).

A expressiva distribuição geográfica desse vetor foi, segundo dados de 2016, majoritariamente responsável por custos diretos e indiretos da saúde no Brasil que somam cerca de 2% do orçamento juntamente com outras arboviroses de menor ocorrência. Há relatos que os gastos anuais com estratégias para conter as doenças transmitidas por *A. aegypti* correspondem a aproximadamente R\$ 431 milhões (Teich et al., 2017).

3.2 Arboviroses:

As arboviroses fazem parte de um grupo de enfermidades conhecidas como Doenças tropicais negligenciadas (DTN). As DTNs são um conjunto de doenças que atingem principalmente as populações mais pobres e vulneráveis localizadas nas faixas tropical e subtropical do globo (Martins et al., 2018). Cerca de 1,59 bilhão de

pessoas são assoladas por no mínimo uma DTN, correspondendo a 20% da população global (Luna et al., 2020).

As DTNs são classificadas pela Organização mundial da saúde (OMS) em três categorias (Lindoso et al., 2009), com a primeira delas representadas pelas DTNs com maior grau de periculosidade, devido ao fato de não serem controladas. Um exemplo de DTN de 1º grau é a Febre Dengue, uma doença viral aguda e que pode ser incapacitante (Brady et al., 2020); as DTNs que possuem uma estratégia de controle, mas que ainda não são controladas satisfatoriamente, se enquadram na segunda categoria; este é o caso da esquistossomose e da malária e doenças respiratórias como a tuberculose. Essas doenças ainda afetam diversos brasileiros e impactam na economia do país, com surtos periódicos incapacitando boa parte da mão de obra ativa de algumas regiões (Martins et al., 2018). A terceira e última categoria, trata das DTNs que já apresentam estratégias eficazes de controle e taxas de infecção que diminuem gradativamente, mas ainda há números para sustentar sua classificação como doença negligenciada (Martins et al., 2018).

Segundo o terceiro relatório da OMS sobre DTNs, aquelas que ainda persistem no Brasil acarretam não apenas em um problema de saúde pública generalizado, fruto de uma evidente negligência estatal, como também acabam por afetar o mercado de trabalho brasileiro, contribuindo em partes para agravar o problema da pobreza, já que populações menos abastadas são os principais alvos. Tendo esse contexto em vista, abre-se uma discussão sobre a importância do investimento em pesquisa a respeito de moléculas capazes de agir contra DTNs, com possibilidades viáveis e acessíveis para o tratamento e controle dessas doenças e assim retirá-las da lista de doenças tratadas como negligenciadas (OMS., 2015).

3.2.1 Chikungunya:

A Febre Chikungunya é classificada como arbovirose por ser causada por um arbovírus, ou seja, um vírus transmitido por artrópodes. Não é por acaso que a doença recebe esse nome, o qual deriva do idioma Makonde que significa “andar curvado” e se refere à febre de caráter incapacitante, e aos sintomas articulares intensos na maioria dos casos. Em decorrência das dores intensas e persistentes nas articulações, os acometidos pela doença não conseguem desempenhar

atividades laborais ou mesmo as corriqueiras, incluindo o simples ato de se deslocar ou erguer objetos (Honório et al., 2015).

Ainda não existe tratamento para a febre Chikungunya, a qual se estabeleceu em regiões tropicais e subtropicais da América Latina devido à ocorrência dos seus principais vetores. É uma doença importante devido à possibilidade de surtos, ocasionando impactos econômicos diretos e indiretos que se refletem em aproximadamente mais de R\$ 120 milhões (Teich et al., 2017).

3.2.2 Dengue:

Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), é o fato da dengue, mesmo sendo amplamente documentada, não ser controlada e continuar com o status de emergente que a classifica como DTN de categoria um (Lindoso., 2009). O vírus da dengue pertence à família Flaviviridae e ao gênero Flavivírus e é o responsável por ocasionar uma doença infecciosa febril aguda, que pode tanto ser assintomática como ocorrer na forma de uma infecção grave, podendo levar a hemorragias em sua forma mais aguda. São identificados 4 sorotipos, DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, todos transmitidos pelos mosquitos do gênero *Aedes* (Terra et al., 2017).

Atualmente existem vacinas capazes de imunizar pessoas já infectadas com o vírus da dengue, prevenindo reinfecções, contudo essa vacina se encontra apenas disponível no sistema privado de saúde o que torna inviável para as populações mais pobres, que são justamente as mais propensas a infecções e reinfecções por esse vírus. Entretanto a empresa farmacêutica Takeda solicitou a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) o registro de uma vacina com eficiência próxima de 80% contra os quatro sorotipos virais (Pinheiro, 2021), sendo assim uma possível estratégia de depressão para médio e longo prazo de surtos periódicos de Dengue.

Esse contexto revela que o investimento em pesquisas visando o controle de *A. aegypti* através de estratégias mais eficientes e menos impactantes ao ambiente não deve ser negligenciado, pois a dengue é considerada um problema de saúde pública no Brasil e em outros países (Brady et al., 2020).

3.2.3 Febre amarela:

A febre amarela é uma doença infecciosa febril aguda ocasionada por um arbovírus do gênero *Flavivirus* e da família *Flaviviridae* que ocasiona surtos documentados desde o século XVIII, em diversas regiões do Globo, mas predominantemente em zonas tropicais, podendo acontecer em zonas infra ou supra tropicais. Em 1900 *A. aegypti* foi apontado como seu principal vetor em meio urbano e, logo nos anos seguintes, o controle do vetor foi decisivo para o declínio dos casos de infecção (Ministério da Saúde., 2018). Além de *A. aegypti*, outros vetores da febre amarela no Brasil são os mosquitos do gênero *Sabethes* e *Haemagogus*.

Ao contrário de outras DTNs a febre amarela possui uma vacina eficaz, de dose única, que possibilitou o seu controle em regiões endêmicas concentradas em zonas de floresta, onde a erradicação da doença seria impossível, mas a vacinação e o monitoramento de casos tem permitido o seu controle; impedir que indivíduos infectados circulem para além da área de contaminação foi também uma estratégia que ajudou a prevenir surtos de febre amarela urbana (Ministério da Saúde., 2018). A forma silvestre da infecção é disseminada predominantemente por mosquitos silvestres arbóreos, que mantém a transmissão da doença por meio da infecção de primatas não humanos (Ministério da Saúde, 2018).

Ambas as formas silvestre e urbana da febre amarela não apresentam diferenças quanto a seus aspectos etiológico, imunológico e clínico (Cavalcante, 2017). Segundo dados do Ministério da Saúde (2021), o último caso de febre amarela urbana no Brasil foi registrado no ano de 1942 no Acre, com o ciclo de transmissão predominante sendo o silvestre. Os esporádicos casos de infecção representam um desafio para os órgão de saúde pública, no sentido de levar assistência médica adequada aos locais e a vacinação em larga escala da população ao redor, com essa situação vindo mais uma vez a evidenciar a importância do controle de vetores do gênero *Aedes*.

3.2.4 Febre Zika:

A febre Zika é uma arbovirose que se estabeleceu no continente americano, principalmente em suas regiões tropicais e subtropicais; Com origem no continente Africano, o vírus (família *Flaviviridae*) foi primeiramente isolado em 1978, em um primata advindo da Floresta Zika localizada na Uganda (Vasconcelos, 2015) e a febre zika é classificada como uma doença viral emergente e sem controle no Brasil.

De acordo com o Ministério da Saúde (2016), durante a semana epidemiológica, foram apresentados 103 casos suspeitos, relacionando a microcefalia à contaminação pelo vírus Zika. Em 2016 a OMS decretou a febre Zika como uma emergência em saúde pública (Terra et al., 2017), devido à possível correlação entre a infecção pelo vírus e alterações neurológicas relacionadas à síndrome de Guillain-Barré, além dos casos de microcefalia reportados no ano anterior no Brasil.

Órgãos de saúde como o Ministério da Saúde (Brasil) relatam a subnotificação dos casos como um dos fatores principais para imprecisão da taxa de contaminados, isso aliado ao fato de que as redes de saúde não possuem teste rápidos capazes de detectar o vírus e que os sintomas se assemelham muito em alguns casos a sintomas de dengue e Chikungunya.

No Brasil ainda não existe vacina como meio preventivo, mas desde 2016 em diversos institutos de pesquisa vêm se desenvolvendo estudos sobre vacinas contra a febre Zika (Luz et al., 2015). A Fundação Oswaldo Cruz em conjunto com a UFMG e a universidade George Washington (EUA), desenvolvem desde 2018 uma vacina que se encontra em fases avançadas de teste (Fiocruz Minas, 2019).

O controle do vetor, aliado a outras estratégias de combate, se mostra necessário não apenas pelo contexto epidemiológico, proporcionado pela infecção com o vírus, mas a semelhança de doenças como a Dengue e a Febre Chikungunya, a Febre Zika impacta direta e indiretamente na economia com custos indiretos estimados em mais de R\$ 13 milhões (Teich et al., 2017).

3.2.5 Doença de Chagas:

A doença de Chagas é chamada assim em homenagem ao biólogo brasileiro, Carlos Chagas, responsável por evidenciá-la. Essa doença, também chamada de Tripanossomíase americana, é ocasionada pelo protozoário *T. cruzi* e a sua principal forma de transmissão é pela forma vetorial através da picada de *Triatoma infestans*, inseto popularmente conhecido como barbeiro devido a seu hábito de infecção (Nova et al., 2020).

A doença de chagas pode apresentar sintomas ou não e possui uma fase aguda (sintomas persistentes de 3 a 8 semanas), além de uma crônica que está relacionada a problemas no coração, intestinos e esofago; É uma doença que é

conhecida no Brasil desde de 1907 e o único meio preventivo é controle do vetor, evidenciado a necessidade de estudos para propor ações que visem seu controle (Ministério da Saúde., 2020).

Segundo dados da OPAS (Organização pan-americana de saúde., 2021), nas américas estima-se que entre 6 a 8 milhões de pessoas estejam infectadas com *T. cruzi*, e dentre as pessoas infectadas, 70% sequer sabe que está infectada. Devido à grande proporção de pessoas infectadas ao redor do mundo, a pesquisa de meios para o combate à doença e o fornecimento de atenção básica de saúde para pessoas contaminadas em qualquer fase deve ser intensificado.

3.3 Câncer:

Câncer é um conjunto de mais de 100 doenças, que compartilham as mesmas características etiológicas, crescimento desordenado e patológico de células que invadem órgãos e tecidos, e que a depender da fase de desenvolvimento, pode se espalhar por outros tecidos, por meio de metástase (Instituto Nacional de Câncer., 2020).

A característica principal do câncer é o fato de ser uma doença ocasionada por mutação no genoma, fazendo com que a célula afetada quando se divide leve a informação genética defeituosa adiante. O câncer pode ocorrer tanto em células somáticas quanto em células germinativas, podendo levar a um tumor monoclonal, onde apenas uma célula mutada gera um tumor, ou a um tumor policlonal, quando ocorre uma concatenação de células mutadas para formar um tumor (Couto et al., 2018).

O câncer é dividido em etapas, e dentre elas há a etapa de progressão, responsável pela metástase (Instituto Nacional do Câncer., 2021). Nessa fase, devido a desprendimento celular e posterior migração para vasos sanguíneos locais, células mutadas podem ganhar a corrente sanguínea e se espalhar para outros tecidos, levando a evolução da doenças que na maioria dos casos torna-se irreversível (Taketo., 2011). A progressão desses vasos mediada por fatores de crescimento como o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), é proporcionada pelo câncer, devido a demandas metabólicas, tanto de nutrição como também de eliminação de metabólitos. Nesse sentido, a utilização de inibidores angiogênicos nessa fase, se mostra um potencial meio de controle e retração do

câncer, a medida que, possivelmente impossibilita a correta nutrição do tumor em expansão, levando a necrose.

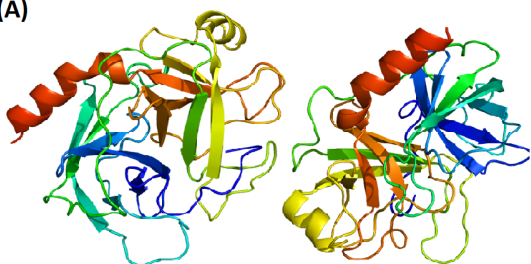
3.4 Inibidores de proteases e suas aplicações farmacológicas:

Inibidores de proteases podem ser encontrados em diversas pesquisas relacionadas ao tratamento de infecções virais, como no caso do vírus da imunodeficiência humana. Outras aplicações envolvem o uso de inibidores de proteases no combate a infecções bacterianas, do câncer de mama, próstata e orofaríngeo (Silva., 2019). São relatados também como promissores no controle de protozoários como *T. cruzi* (Nova et al., 2020) ou ainda controle de insetos e vetores de DTNs como os mosquitos do gênero *Aedes* (Pontual et al., 2014).

Inibidores protéicos têm a capacidade de controlar reações anormais no organismo, a exemplo dos inibidores de Tirosina Quinase, que impedem a transdução de sinal de várias cascatas relacionadas ao crescimento celular, multiplicação celular e a apoptose. Fármacos voltados a inibição dessas cascatas, têm como alvo principal, diversos tipos de câncer que se utilizam direta ou indiretamente de cascatas que envolvem a fosforilação proteica por tirosinas quinases (Azevedo et al., 2017).

MoFTI é um exemplo de inibidor protéico que atua inibindo a tripsina (Pontual et al., 2014). Essa protease em humanos está relacionada principalmente a processos digestivos que envolvem a hidrólise proteica, ajudando a quebrar grandes complexos proteicos e permitindo sua absorção pelos enterócitos. A tripsina é classificada como uma serino endopeptidase e possui diversas aplicações como proliferação celular, controle de canais iônicos e remodelação tecidual (Jedlicková et al., 2019).

(A)



(B)

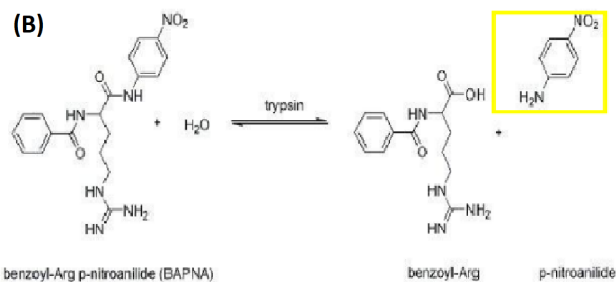


Figura 2 - (A) Estrutura tridimensional da tripsina, **(B)** Tripsina hidrolisando o cromógeno BApNA.

A tripsina também atua ativando diversas outras enzimas relacionadas ao metabolismo de macromoléculas, além de apresentar relação com a função exócrina pancreática e o descontrole na produção dessas proteínas pode ser ocasionado por diversas doenças, assim como o câncer. Estudos com inibidores de tripsina vêm se mostrando fundamentais no controle de infecções, inflamações e doenças como o câncer (Patriota et al., 2020; 2021a; 2021b).

3.5 *M. oleifera*:

Moringa oleifera (Figura 1) é uma planta pantropical que tem provável origem no que hoje é o território indiano. É uma planta amplamente estudada devido às suas características nutricionais e uso na medicina popular na forma de infusão e de chás. Vários benefícios podem ser extraídos de partes da planta como, raízes, folhas, vagens e sementes (Anwar et al., 2007; Netshiheni et al., 2021).

Todas as partes da planta são ricas fontes de minerais, polifenóis e outros antioxidantes (Sankhalkar., 2021). Suas folhas contêm altas quantidades de nutrientes como o cálcio, ferro, potássio, beta carotenóides, proteínas e vitaminas, tais como vitamina C em níveis sete vezes maiores do que em frutas cítricas e vitamina A, dez vezes mais concentrada que em cenouras (Netshiheni et al., 2021).

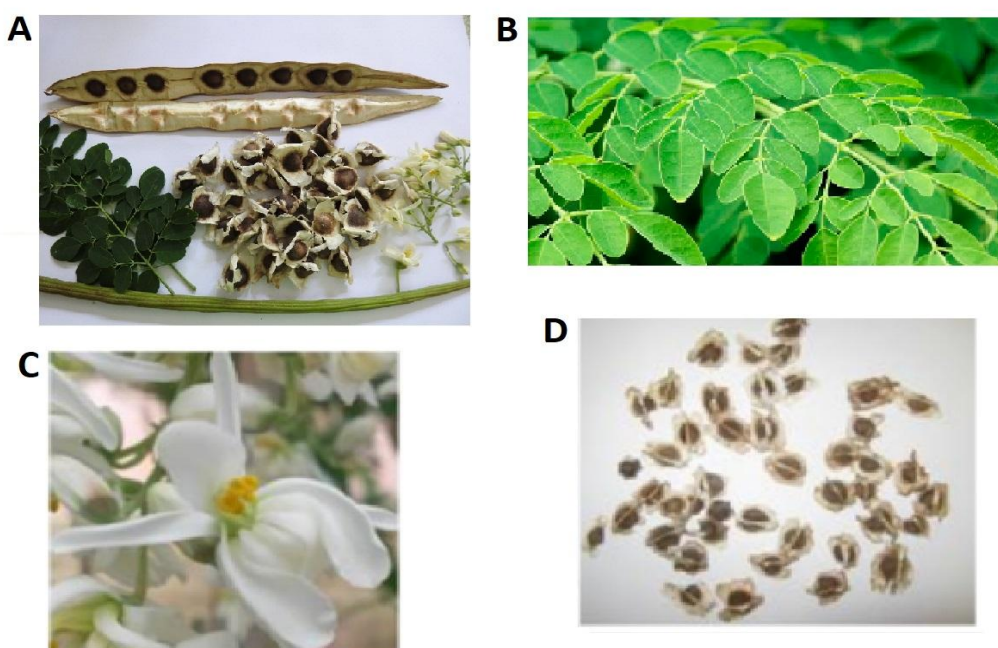


Figura 3 - (A) Partes de *M. oleifera*. Em detalhe: **(B)** folhas, **(C)** flor e **(D)** sementes.

Estudos sugerem a utilização de componentes das folhas de *M. oleifera* que induzem a produção de espécies reativas no interior de células mutadas promovendo a lise celular devido a interações com diversas proteínas e sendo um eficiente meio de redução de tumores (Leelawat, 2014). Além de aplicações medicinais, o óleo extraído das sementes da *M. oleifera* é utilizado na produção de Biodiesel, visto que atende às exigências impostas para produção do combustível.

M. oleifera é descrita como uma importante fonte de inibidores de proteases e lectinas (Soares, 2007). Soares (2007) relatou a atividade hemaglutinante do extrato de sementes, mas não detectou atividade inibitória para tripsina, enquanto que Bijina e colaboradores (2011a, 2011b) demonstram que tanto o extrato de folhas maduras e das sementes possuem alta atividade inibidora de tripsina, e contra outras serino peptidases como a trombina, elastase, quimotripsina, cisteína e papaína, além de serem efetivos contra proteases de bactérias e fungos como o *Bacillus licheniformis* e o *Aspergillus oryzae*.

M. oleifera vem demonstrando também sua capacidade de combate a DTNs, onde por meio de extratos e moléculas isoladas de diversas partes da planta, como folhas, flores, sementes e raízes, pode atuar no controle de vetores e de agentes parasitários. Este é o caso da Dengue e da doença de Chagas devido à presença de lectinas e inibidores proteicos (Nova et al., 2021; Pontual et al., 2014, 2018)

4. METODOLOGIA

Essa pesquisa trata de uma revisão de literatura qualitativa com o objetivo de compilar relatos sobre o potencial biotecnológico do Inibidor de tripsina de flores de *M. oleifera*, MoFTI, que possam ser úteis para estimular a realização de pesquisas futuras no âmbito da farmacologia, medicina e biotecnologia em geral.

As buscas por publicações científicas foram realizadas utilizando as bases de dados, Google acadêmico e Science Direct, acessando fontes como Pharmacognosy journal, Instituto Oswaldo Cruz e Ministério da Saúde. A pesquisa teve início em 03 de agosto de 2021, sendo concluída em 01 de novembro de 2021.

O cruzamento dos seguintes descritores: “*Moringa oleifera*” e “*flower*” e “*trypsin inhibitor*” foi utilizado com o intuito de revelar todos os trabalhos sobre a atividade de MoFTI publicados em periódicos internacionais.

Todas as referências obtidas a partir da pesquisa eletrônica dos descritores supracitados foram examinadas e, posteriormente, as duplicidades foram eliminadas. Os artigos relevantes para compor a análise foram selecionados após leitura dos seus resumos em função dos critérios para inclusão: (1) publicação entre os anos de 2012 e 2021; (2) redação em língua inglesa; (3) publicação no formato de artigo de pesquisa e (4) temática relacionada à biotecnologia. As referências selecionadas foram recuperadas na versão digital e os resultados compilados após leitura exaustiva foram organizados nas seguintes seções: (1) Características Bioquímicas de MoFTI; (2) Potencial para uso no controle populacional de vetor de doenças; (3) Potencial farmacológico (3.1 Atividade antiparasitária; 3.2. Atividade antitumoral).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características Bioquímicas de MoFTI

MoFTI foi isolado por cromatografia de afinidade em coluna de Tripsina-Agarose a partir de um extrato de flores de *M. oleifera* em água (Pontual et al., 2014). Os autores caracterizaram o inibidor quanto à constante de inibição (K_i), encontrando um valor de 2,4 µM, e quanto à massa molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio – SDS (SDS-PAGE), revelando-o como uma proteína de aproximadamente 18 kDa. Pontual et al. (2018) relataram que espectrometria de massas em tandem resultou em 13 sequências de peptídeos, contudo todos eles sem correspondência em banco de dados com outras proteínas de Viridiplantae, clado monofilético de organismos eucarióticos que inclui as algas verdes e as plantas terrestres (Embryophyta). O somatório das massas dos 13 peptídeos revelados foi 18,5 kDa, valor muito próximo ao determinado por SDS-PAGE.

5.2 Potencial para uso no controle populacional de vetor de doenças

Pontual et al. (2012), reportaram que o extrato de flores de *M. oleifera* em água causou discreta mortalidade de L₁ de *A. aegypti*, não ultrapassando 22% de mortalidade para o extrato na concentração de 4% (m/v). Por outro lado, quando os autores investigaram o efeito do extrato para L₂, L₃ e L₄, uma maior mortalidade foi detectada e foram registrados valores de CL₅₀ de 1,72%, 1,67% e 0,92%, respectivamente, indicando sensibilidade crescente das larvas ao extrato de acordo com seu estágio de desenvolvimento. Estes dados motivaram a caracterização química do extrato, na qual foram identificados metabólitos secundários das classes dos flavonóides (quercetina e campferol), dos triterpenos (β -amirina) e dos esteróides (β -sitosterol), bem como um polipeptide de 169.9 kDa. Provavelmente este polipeptídeo correspondia a um agregado de moléculas de MoFTI.

Um ensaio *in vivo* mostrou que a atividade da tripsina do intestino de L₄ tratadas com extrato de flores reduziu ao longo do tempo (0 a 1,440 min) e foi fortemente inibida (98,6%) após 310 min de incubação. O trabalho mostrou ainda que o aquecimento exaustivo do extrato a 100° C resultou na perda de ambas as atividades inibidora de tripsina e larvicida, indicando que a inibição da tripsina pelo extrato estava relacionada aos efeitos deletérios sobre as larvas (Pontual et al., 2012). Essa era a primeira referência internacional à existência de MoFTI.

Em um trabalho seguinte, Pontual et al. (2014) Isolaram MoFTI e descreveram que ele foi tóxico para larvas de *A. aegypti* recém eclodidas, causando mortalidade com CL₅₀ de 0,3 mg/mL. MoFTI atrasou o desenvolvimento das larvas que sobreviveram ao tratamento, uma vez que elas não ultrapassaram o estágio L₁, enquanto as larvas controle estavam todas no estágio L₃. Os autores demonstraram ainda que o inibidor reduziu o crescimento da microbiota intestinal de L₄ com CMI de 0,031 mg/mL, bem como a sua viabilidade com CMB de 1,0 mg/mL. É interessante observar que a CMI de MoFTI para a microbiota intestinal das larvas é um valor dez vezes menor do que a CL₅₀ descrita neste trabalho, o que sugere que mesmo em concentrações subletais, o inibidor pode prejudicar a microbiota. Em adição, este resultado é interessante porque têm sido relatado que o vírus da dengue precisa da integridade da microbiota intestinal para infectar as larvas (Apte-Deshpande et al. 2012) e que o tempo de desenvolvimento das larvas axênicas é maior do que aquele apresentado pelas larvas com a microbiota intestinal íntegra, ou seja, que a

associação simbiótica entre os microrganismos intestinais e as larvas de *A. aegypti* mantém o estado nutricional necessário para o seu desenvolvimento (Correa et al., 2018). Assim, embora os autores não tenham realizado esta discussão, podemos inferir que o efeito de MoFTI na microbiota intestinal das larvas pode ter sido um dos fatores responsáveis pelo atraso no desenvolvimento das mesmas.

5.3 Potencial farmacológico

5.3.1 Atividade antiparasitária

As investigações de MoFTI como agente terapêutico, iniciadas por Pontual et al. (2018), foram estimuladas pelos relatos sobre o potencial antiparasitário de outros inibidores de proteases derivados de plantas, e sua habilidade em interferir na atividade de enzimas essenciais para os processos celulares em organismos infecciosos. Os autores relataram que MoFTI promoveu lise de tripomastigotas de *T. cruzi* com CL_{50} (concentração letal para 50% dos parasitas) de 41,2 $\mu\text{g/mL}$, provavelmente por interferir na atividade de proteases que participam dos processos de nutrição, rearranjo das proteínas do citoesqueleto e controle da morfologia de *T. cruzi*, incluindo a cruzipaina, a calpaina e serino peptidases. Neste mesmo trabalho, MoFTI exerceu baixa toxicidade para macrófagos peritoneais murinos (concentração 50% citotóxica, CC_{50} de 407,01 $\mu\text{g/mL}$) e ausência de toxicidade para células Vero até a concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$, mais de 100 vezes o valor da CL_{50} para tripomastigotas. Os autores demonstraram ainda que o inibidor foi 9,8 vezes mais tóxico para tripomastigotas do que para os macrófagos. Juntos, todos estes dados levaram os autores a considerar MoFTI como uma molécula promissora para avaliações *in vivo*.

Embora promissores, os resultados relatados por Pontual et al. (2018) foram obtidos com células murinas e de macaco. Assim, dois anos mais tarde, Nova et al. (2020) demonstraram que MoFTI não afetou a viabilidade de células mononucleares de sangue periférico humano (PBMCs) até 120 h de exposição pelo método de redução do MTT. Este dado, juntamente com os resultados do efeito tripanocida de MoFTI levou os autores a inferir que o inibidor possui potencial para uso em terapias de doenças infecciosas, uma vez que os antiparasitários ideais devem ser tóxicos

aos parasitas sem afetar a viabilidade de células dos hospedeiros, ou pelo menos causar maior grau de danos aos agentes infecciosos.

Após mostrar que MoFTI não era capaz de interferir na viabilidade de PBMCs, Nova et al. (2020) realizaram experimentos para indicar se exerceria toxicidade direta sobre *T. cruzi*, e além disso, se o inibidor era capaz de modular a produção de citocinas e outros mediadores da resposta imune, aumentando a capacidade de defesa do organismo hospedeiro. Os resultados revelaram que MoFTI (87 µg/mL) estimulou a liberação do fator de necrose tumoral (TNF) - α e de interleucina (IL) 10 por PBMCs infectadas por *T. cruzi* e os autores concluíram que o inibidor tem potencial para controlar a parasitemia enquanto regula o processo inflamatório, retardando o progresso da doença de Chagas. Adicionalmente, o aumento da liberação de óxido nítrico (NO) pela ação de MoFTI foi também relatado.

5.3.2 Atividade antitumoral

Apoiados na hipótese de que MoFTI pode interferir na atividade de proteases importantes para o desenvolvimento de doenças, Patriota et al. (2020) investigaram seu efeito antitumoral *in vitro* e *in vivo* em sarcoma 180, também conhecido como tumor de Crocker. Os resultados indicaram que MoFTI foi citotóxico para células de sarcoma 180 induzindo apoptose em concentrações que variaram de 6,25 a 25 µg/mL, e necrose entre 50 e 100 µg/mL. Os autores determinaram *in vitro* a CI_{50} (concentração que reduz em 50% a viabilidade celular) de 67,97µg/mL.

Quando avaliado *in vivo*, MoFTI (15 e 30 mg/kg) reduziu em cerca de 98% a massa de tumor sarcoma 180 em camundongos e em cerca de 38% o calibre de vasos sanguíneos primários nas proximidades do tumor. Adicionalmente, os autores mostraram que o tratamento com MoFTI na maior dose foi capaz de prejudicar a formação de vasos secundários e sugeriram que a atividade antitumoral do inibidor pode estar associada a este efeito devido à redução do aporte de nutrientes para as células tumorais. Análise histológica dos tumores revelou que o tratamento com MoFTI acarretou ainda em infiltração leucocitária, redução da densidade nuclear e diminuição da área das células tumorais (Patriota et al., 2020). O crescimento de qualquer massa tecidual depende do aporte de nutrientes e insumos que vão garantir a manutenção de processos metabólicos da célula, como o oxigênio e a glicose. Além disso tecidos com altas taxas metabólicas necessitam escoar seus

metabólitos a fim de evitar o incremento de níveis tóxicos no meio extracelular e os vasos sanguíneos desempenham papel importante nesse sentido, sendo responsáveis pela perfusão de substâncias garantindo as condições adequadas para que as células estejam viáveis. No caso de tumores, vasos sanguíneos são essenciais para o crescimento da massa celular e para a escalabilidade da doença, que é a metástase.

É importante ressaltar que não houve evidência de toxicidade para os ratos tratados com MoFTI quando avaliações histopatológicas foram realizadas em fígado, rins e baço. Além disso, o inibidor não interferiu na ingestão de água e alimento pelos animais e, com base nestes dados, Patriota et al. (2020) concluíram que MoFTI é um ingrediente ativo envolvido no efeito antitumoral relatado para as flores de *M. oleifera* na medicina popular.

5.3.3. Potencial anti-inflamatório e Imunomodulador

Patriota et al. (2021a) avaliaram MoFTI quanto à atividade anti-inflamatória pelo modelo do edema de pata induzido por carragenina. Contudo, os resultados revelaram que o inibidor não foi capaz de reduzir o edema durante a primeira etapa, a qual representa o início do processo inflamatório com a liberação de histamina e serotonina, mediadores responsáveis pela vasodilatação e consequente aumento da permeabilidade vascular. Nesse sentido, os autores concluíram que MoFTI não apresenta efeito anti-histamínico. Por outro lado, quando camundongos foram tratados com MoFTI a 15 e 30 mg/kg, os autores registraram uma significativa redução do edema durante a segunda etapa da inflamação, desencadeada por citocinas. Com base nesse dado, os autores assumiram que o efeito anti-inflamatório de MoFTI envolve a modulação da liberação de citocinas.

No mesmo trabalho (Patriota et al., 2021a), utilizando modelo de peritonite, foi descrito que MoFTI (30 mg/kg) reduziu em 38,5% a migração de leucócitos para a cavidade peritoneal, principalmente neutrófilos e linfócitos. O inibidor também reduziu o conteúdo de proteínas no fluido peritoneal dos camundongos, indicando que o inibidor foi capaz de reduzir o extravasamento de plasma para a cavidade peritoneal. MoFTI reduziu a liberação de TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10 e IL-17^a e estimulou a produção de IFN- γ . Conforme esperado pelos autores diante da redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, o inibidor também reduziu a liberação de NO.

Estes dados corroboraram com as conclusões de Patriota et al. (2021a) para o modelo de edema de pata.

Patriota et al. (2021b) avaliaram a capacidade imunomoduladora de MoFTI utilizando esplenócitos de camundongo e para verificar a viabilidade do estudo, os autores iniciaram investigando se o inibidor prejudicaria a viabilidade das células. Eles observaram que MoFTI não causou mortalidade dos esplenócitos, em vez disso, reduziu a quantidade de células em apoptose em relação ao grupo não tratado, mas não induziu proliferação celular.

O inibidor (12,5 e 25 $\mu\text{g/mL}$) aumentou a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) citosólico e mitocondrial e reduziu o potencial transmembrana nas mitocôndrias dos esplenócitos tratados. Segundo os autores, essa redução do potencial transmembrana mitocondrial pode representar um mecanismo de proteção das células à produção de EROS e, Juntamente com os resultados da citotoxicidade, indicar que MoFTI, embora tenha promovido estresse oxidativo moderado, não danificou os esplenócitos e nem alterou o seu metabolismo celular. Ao contrário do que foi observado por Patriota et al (2021a) em teste *in vivo*, MoFTI induziu a liberação de TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-10, e NO.

Patriota et al. (2021b) também reportaram a investigação da toxicidade aguda de MoFTI em camundongos, a qual revelou que o inibidor não causou mortalidade significativa e nem efeitos adversos nos animais, exceto contorções abdominais que ocorreram entre 15 e 30 minutos após o tratamento com MoFTI. Contudo, essa reação foi temporária. Os autores também relataram que MoFTI não apresentou atividade hemolítica *in vitro*.

Autor	Título	Resultado
Pontual et al., 2012	Effects of <i>Moringa oleifera</i> flower extract on larval trypsin and acethylcolinesterasis activities in <i>Aedes aegypti</i> .	O extrato das flores de <i>M. oleifera</i> demonstrou ser larvicida para instares L2 a L4 além de retardar o desenvolvimento das larvas
Pontual et al., 2014	Trypsin inhibitor from Moringa oleifera flowers interferes with survival and development of <i>Aedes aegypti</i> larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut.	Primeira descrição do MoFTI , larvicida para <i>A. aegypti</i> ; efetivo no controle da biota intestinal das larvas
Pontual et al., 2018	A trypsin inhibitor from Moringa oleifera flower extract is cytotoxic to <i>Trypanosoma cruzi</i> with high selectivity over mammalian cells	O MoFTI é citotóxico para <i>Trypanosoma cruzi</i> , é possui alta seletividade para células infectadas, não sendo tóxico para células Vero e Murinas
Nova et al., 2020	A Trypsin Inhibitor from Moringa oleifera Flowers Modulates the Immune Response In Vitro of <i>Trypanosoma cruzi</i> -Infected Human Cells.	O MoFTI demonstrou ser capaz de modular a liberação de citocinas capazes de combater o <i>Tripanosoma cruzi</i> , não sendo tóxico para células de sangue periférico humanas
Patriota et al., 2020	Antitumor activity of Moringa oleifera (drumstick tree) flower trypsin inhibitor (MoFTI) in sarcoma 180-bearing mice.	O MoFTI foi capaz de reduzir o volume tumoral em mais de 95%, sendo capaz de induzir necrose e apoptose no tecido mutado, além disso demonstrou capacidade antiangiogênica.
Patriota et al., 2021	The trypsin inhibitor from Moringa oleifera flowers (MoFTI) inhibits acute inflammation in mice by reducing cytokine and nitric oxide levels.	O MoFTI mostrou ser capaz de modular a liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias, sendo capaz de parar e diminuir a inflamação, tanto em modelos de edema de pata e de peritonite.
Patriota et al., 2021	Evaluation of the In Vivo Acute Toxicity and In Vitro Hemolytic and Immunomodulatory Activities of the Moringa oleifera Flower Trypsin Inhibitor (MoFTI).	O MoFTI manteve integras as células expostas, sendo capaz de imuno modular a liberação de citocinas danosas à célula, reduzindo apoptose e deixando células estruturalmente e metabolicamente estáveis.

Tabela 1 - Tabela em ordem cronológica de trabalhos envolvendo o MoFTI suas aplicações e resultados.

6. CONCLUSÕES:

Os dados aqui revisados apontam o MoFTI como um interessante candidato para análises visando aplicações biotecnológicas e médicas em decorrência da sua capacidade de interferir em processos celulares variados. Os resultados publicados no âmbito internacional mostram seu potencial larvicida, antiparasitário, antitumoral, imunomodulador e anti-inflamatório. MoFTI tem potencial para combate indireto de doenças transmitidas por *A. aegypti* devido a sua eficiência em causar danos às larvas que incluem a redução da sobrevivência, atraso no desenvolvimento e danos à microbiota simbiote. A atuação do inibidor contra *T. cruzi* e em células humanas infectadas por este parasita, bem como seus efeitos antitumoral, imunomodulador e anti-inflamatório evidenciam que MoFTI apresenta características interessantes do ponto de vista farmacológico incluindo ausência de toxicidade para células humanas e baixa toxicidade para células de outros mamíferos, contudo análises complementares ainda são necessárias. A sua atuação antiangiogênica ainda pode ser mais explorada, tanto contra o câncer quanto contra outras doenças que envolvem o aumento da vascularização. Em resumo, os dados revisados neste trabalho apontam o MoFTI como uma molécula interessante para elaboração de estratégias de controle de doenças, seja atuando como terapia farmacológica ou no controle de populações de vetores. O incremento de estudos envolvendo a caracterização de sua estrutura pode abrir novas possibilidades visando sua aplicação.

REFERÊNCIAS

ANWAR, F., Latif, S., Ashraf, M. and Gilani, A.H. (2007), *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother. Res.*, 21: 17-25. <https://doi.org/10.1002/ptr.2023>.

Anvisa reunirá informações sobre *Moringa oleifera* em alimentos. asbran, 2019. Disponível em: <<https://www.asbran.org.br/noticias/anvisa-reunira-informacoes-sobre-moringa-oleifera-em-alimentos>> Acesso em: 25, out de 2021.

APTE-DESHPANDE, Anjali et al. *Serratia odorifera* a midgut inhabitant of *Aedes aegypti* mosquito enhances its susceptibility to dengue-2 virus. 2012.

AZEVEDO, Liviane D. de et al. Sínteses e propriedades de fármacos inibidores da tirosina quinase BCR-ABL, utilizados no tratamento da leucemia mieloide crônica. **Química Nova**, v. 40, p. 791-809, 2017.

BIJINA, B. et al. Protease inhibitor from Moringa oleifera leaves: Isolation, purification, and characterization. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. 2291-2300, 2011a.

BIJINA, B. et al. Protease inhibitor from Moringa oleifera with potential for use as therapeutic drug and as seafood preservative. **Saudi journal of biological sciences**, v. 18, n. 3, p. 273-281, 2011b.

BRADY, Oliver J.; HAY, Simon I. The global expansion of dengue: how Aedes aegypti mosquitoes enabled the first pandemic arbovirus. **Annual review of entomology**, v. 65, p. 191-208, 2020.

Câncer: estadiamento. Instituto Nacional de Câncer, 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/estadiamento>>. Acesso em: 20, out. de 2021.

CAVALCANTE, Karina Ribeiro Leite Jardim; TAUIL, Pedro Luiz. Risco de reintrodução da febre amarela urbana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 26, p. 617-620, 2017.

CORREA, Maria A. et al. Generation of axenic Aedes aegypti demonstrate live bacteria are not required for mosquito development. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2018.

COUTO, Patrícia Gonçalves P., FREIRE, Maíra Cristina Menezes. Câncer: uma doença genética, 2018. Disponível em: <<https://oncologiabrasil.com.br/cancer-uma-doenca-genetica/>>. Acesso em: 20, out de 2021.

DE SIQUEIRA PATRIOTA, Leydianne Leite et al. Antitumor activity of Moringa oleifera (drumstick tree) flower trypsin inhibitor (MoFTI) in sarcoma 180-bearing mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 145, p. 111691, 2020.

DE SIQUEIRA PATRIOTA, Leydianne Leite et al. The trypsin inhibitor from Moringa oleifera flowers (MoFTI) inhibits acute inflammation in mice by reducing cytokine and nitric oxide levels. **South African Journal of Botany**, 2021a.

DE SIQUEIRA PATRIOTA, Leydianne L. et al. Evaluation of the In Vivo Acute Toxicity and In Vitro Hemolytic and Immunomodulatory Activities of the Moringa oleifera Flower Trypsin Inhibitor (MoFTI). **Protein and Peptide Letters**, v. 28, n. 6, p. 665-674, 2021b.

Doença de chagas. msf.org.br, 2018. Disponível em: <<https://www.msf.org.br>>. Acesso em: 20, out de

2021.

Doença de Chagas. Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas#>>. Acesso em: 20, out. de 2021.

Febre amarela: guia para profissionais de saúde. 1º edição atualizada, 2018. Brasília: Editora MS, 2018.

germiverde sementes, 2021. Disponível em: <<https://www.germiverde.com.br/produtos/100-sementes-de-moringa-oleifera-manual-de-plantio-e-brinde-especial/>>. Acesso em: 25, out. de 2021.

HONÓRIO, Nildimar Alves et al. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Cadernos de saúde pública**, v. 31, p. 906-908, 2015.

JEDLIČKOVÁ, Lucie et al. A novel Kunitz protein with proposed dual function from *Eudiplozoon nipponicum* (Monogenea) impairs haemostasis and action of complement in vitro. **International journal for parasitology**, v. 49, n. 5, p. 337-346, 2019.

KHOR, Kang Zi et al. The in vitro and in vivo anticancer properties of *Moringa oleifera*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

LEELAWAT, S.; LEELAWAT, K. *Moringa oleifera* extracts induce cholangiocarcinoma cell apoptosis by induction of reactive oxygen species production. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 6, n. 02, p. 183-189, 2014.

LINDOSO, José Angelo L.; LINDOSO, Ana Angélica BP. Doenças tropicais negligenciadas no Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 51, n. 5, p. 247-253, 2009.

LUNA, Expedito José de Albuquerque; CAMPOS, Sérgio Roberto de Souza Leão da Costa. O desenvolvimento de vacinas contra as doenças tropicais negligenciadas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, p. e00215720, 2020.

LUZ, Kleber Giovanni; SANTOS, Glauco Igor Viana dos; VIEIRA, Renata de Magalhães. Febre pelo vírus Zika. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, p. 785-788, 2015.

MARTINS-MELO, Francisco Rogerlandio et al. The burden of neglected tropical diseases in Brazil, 1990-2016: a subnational analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 6, p. e0006559, 2018.

Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 45. *Bol Epidemiol.* 2016; 47(31): 1 – 10.

NAPOLEÃO, Thiago H. et al. Moringa oleifera: a powerful source of environmentally, medicinally and biotechnologically relevant compounds. **Advances in Applied Science and Technology**, v. 5, p. 58-77, 2019.

NATAL, Delsio. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 205-207, 2002.

NELSON, Michael J. et al. *Aedes aegypti*: Biology and ecology. 1986.

NETSHIHENI, Khavhatondwi et al. Nutritional Composition, Potential Health Benefits, Utilisation and Technological Processing Techniques of *Moringa oleifera*. **Moringa oleifera: Properties, Applications and Health Effects**. Nova York. Editora Nova Science, 2021. p. 1 -34.

NOVA, Isabella Coimbra Vila et al. A Trypsin Inhibitor from *Moringa oleifera* Flowers Modulates the Immune Response In Vitro of *Trypanosoma cruzi*-Infected Human Cells. **Antibiotics**, v. 9, n. 8, p. 515, 2020.

NOVA, Isabella; SANTOS, Nataly; ALMEIDA, Welton; SILVA, Talyta; COELHO, Luana; PAIVA, Patrícia; PONTUAL, Emmanuel; NAPOLEÃO, Thiago. *Moringa oleifera* and Its Potential for Combating Tropical Neglected Diseases: A Review. **Moringa oleifera: Properties, Applications and Health Effects**. Nova York. Editora Nova Science, 2021. p. 67- 101.

OMS alerta para um dos “seres” mais mortais do mundo. ONU News, 2016. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2016/08/1559761-oms-alerta-para-um-dos-seres-mais-mortais-do-mundo>>. Acesso em: 06 de out. de 2021.

OPAS: 70% das pessoas com Chagas não sabem que estão infectadas, paho.org, 2021. Disponível em:<<https://www.paho.org/pt/noticias/13-4-2021-opas-70-das-pessoas-com-chagas-nao-sabem-que-estao-infectadas>>. Acesso em: 20, out de 2021.

O que é câncer. Instituto Nacional de Câncer, 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancerq>>. Acesso em: 20, out de 2021.

PINHEIRO, Chloé. A nova vacina contra a dengue que pode ser aprovada no Brasil. *Veja Saúde*, 2021. Disponível em:<<https://saude.abril.com.br/medicina/a-nova-vacina-contra-a-dengue-que-pode-ser-aprovada-no-brasil/>>. Acesso em: 06, out. de 2021.

PONTUAL, Emmanuel Viana et al. EFFECT OF *Moringa oleifera* FLOWER EXTRACT ON LARVAL TRYPSIN AND ACETHYLCHOLINESTERASE ACTIVITIES IN *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 79, n. 3, p. 135-152, 2012.

PONTUAL, E.V., de Lima Santos, N.D., de Moura, M.C. et al. Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut. *Parasitol Res* 113, 727–733 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3702-y>

PONTUAL, Emmanuel V. et al. A trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flower extract is cytotoxic to *Trypanosoma cruzi* with high selectivity over mammalian cells. **Natural product research**, v. 32, n. 24, p. 2940-2944, 2018.

RIBACK, Thais Irene Souza. Estratégias adaptativas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em resposta a temperatura e qualidade de criadouros. 2009.

SANTOS, Cláudio Wilian Victor dos et al. Purificação e caracterização de tripsina a partir do ceco-pilórico do Pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). 2016.

SANKHALKAR, Sangeeta G. *Moringa oleifera* L.: A Plant with Effective Antioxidant Health Benefits. **Moringa oleifera: Properties, Applications and Health Effects**. Nova York. Editora Nova Science, 2021. p . 327-339.

SILVA, Fernanda Leonel. Interação do inibidor de proteases BTCl com tripsina, quimotripsina e proteassoma. 2019.

SOARES COELHO, Juliene. **Atividade hemaglutinante e larvicida (*Aedes aegypti*) na água tratada com sementes de *Moringa oleifera***. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

TAKETO, Makoto Mark. Reflections on the spread of metastasis to cancer prevention. **Cancer prevention research**, v. 4, n. 3, p. 324-328, 2011.

TERRA, Márcia Regina et al. *Aedes aegypti* e as arbovíroses emergentes no Brasil. **Revista Uningá Review**, v. 30, n. 3, 2017.

TEICH, Vanessa; ARINELLI, Roberta; FAHHAM, Lucas. *Aedes aegypti* e sociedade: o impacto econômico das arbovíroses no Brasil. **JBES: Brazilian Journal of Health Economics/Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 9, n. 3, 2017.

Vacina contra o vírus Zika será testada em MG. Fiocruz Minas, 2019. Disponível em: <<http://www.cpqrr.fiocruz.br/pg/vacina-contr-o-virus-zika-sera-testada-em-mg/>> Acesso em: 25, out de 2021.

VASCONCELOS, Pedro Fernando da Costa. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas?. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 2, p. 9-10, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third WHO report on neglected tropical diseases 2015**. World Health Organization, 2015. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/152781>>. Acesso em: 10, out. de 2021.