



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LUCAS SOARES MANGUINHO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA FRAÇÃO PROTEICA DAS FOLHAS DE *Moringa*
oleifera EM CAMUNDONGOS COM SARCOMA 180**

RECIFE - PE

2022

LUCAS SOARES MANGUINHO

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA FRAÇÃO PROTEICA DAS FOLHAS DE *Moringa oleifera* EM CAMUNDONGOS COM SARCOMA 180

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Área: Saúde e biotecnologia

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva

Coorientador: Dr. Robson Raion de Vasconcelos Alves

RECIFE - PE

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Manguinho, Lucas Soares.

Avaliação do efeito da fração proteica das folhas de Moringa Oleifera em camundongos com sarcoma 180 / Lucas Soares Manguinho. - Recife, 2022.
47 : il., tab.

Orientador(a): Patrícia Maria Guedes Paiva

Coorientador(a): Robson Raion de Vasconcelos Alves

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2022.

1. Bioquímica. 2. Macromoléculas. 3. Plantas medicinais. 4. Câncer. I. Paiva, Patrícia Maria Guedes . (Orientação). II. Alves, Robson Raion de Vasconcelos. (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

LUCAS SOARES MANGUINHO

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA FRAÇÃO PROTEICA DAS FOLHAS DE *Moringa oleifera* EM CAMUNDONGOS COM SARCOMA 180

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em - Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Data: ____ / ____ / ____

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Carlos Eduardo Sales da Silva
Universidade Federal de Pernambuco

Me. Raquel Cordeiro de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

“Ninguém consegue nada sozinho”. Escuto essa frase repetidas vezes desde pequeno, mas só entendi o real sentido e importância dela durante a graduação. Por isso, agradeço a todos que me acompanharam e contribuíram de alguma forma durante esse ciclo.

Agradeço a meus pais que, apesar de algumas divergências, sempre me apoiaram e se esforçaram ao máximo para me proporcionar o que não tiveram. Amo vocês! Ao meu irmão, que sempre será a minha melhor companhia para conversar sobre ciência e que agora está seguindo esse mesmo caminho. Morro de orgulho de você! Não poderia deixar de agradecer a Mainha Célia, minha querida vó (e agora única), que sempre me apoiou de todas as formas possível e que “faz das tripas coração” para poder me ver feliz. Ao meu avô, Edvaldo, obrigado por tudo que você faz por mim e pela minha família.

À minha querida professora e orientadora Patrícia, por me aceitar de braços abertos logo no começo do curso no melhor laboratório da UFPE, o BIOPROT. Agradeço também ao professor Thiago, por me acompanhar nessa reta final do curso e a Marília, minha primeira coorientadora.

Ao meu querido amigo e coorientador Robson, pela paciência e vontade de ensinar junto a momentos descontraídos durante esses últimos semestres. Você é um querido! Agradecimento especial para as amigas do BIOPROT que tornaram esse processo mais leve através das risadas do dia-a-dia e momentos cômicos que só vocês proporcionariam. Obrigada Carlos (Bob), Elinaldo, Luiz, Alícia, Gabi, Aline, Raquel, Vitória, Patrick, Wênio, Polly, Jainaldo, Lívia e os demais colegas do laboratório.

Não poderia deixar de agradecer também a aqueles amigos fundamentais durante os quase 5 anos de graduação. Obrigada Aninha pelas conversas e bebidas de procedência duvidosa no laguinho. Obrigada Matheus e Marcos pela parceria nos trabalhos em grupos e pelos momentos cômicos. Aos meus parceiros de rolês aleatórios Igor e Augusto. Saudade de jogar conversa fora no margaridão ou no SAF. Agradeço também a Lauriano e Hanne pela parceria nas disciplinas da área de saúde. Obrigada por todo conhecimento compartilhado.

E a todos os colegas que a ciência me deu e fizeram parte dessa jornada. Obrigada Natalia, Polly, Hugo, Ana Cláudia, Ana Tereza, Bruna, Leônydas, Jacque, Victor, Eduardo, André, Nicholas e Antônio.

Por fim, agradeço aos membros da banca examinadora: Carlos e Raquel por aceitaram o convite e pelo tempo dedicado ao trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

Moringa Oleifera é uma planta nativa da Índia que possui capacidade de tolerar diversas condições ambientais e, por conta disso, é cultivada amplamente em quase todos os continentes. As folhas da *M. oleifera* possuem alto valor medicinal, sendo ricas em proteínas, metabólitos secundários, vitaminas e minerais. Neste trabalho, foi avaliado a atividade antitumoral de uma fração proteica das folhas de *M. oleifera* (FPR) em camundongos portadores de sarcoma 180. Foram determinadas a concentração proteica, atividade hemaglutinante (AH) e inibidor de tripsina. Também foi avaliado o efeito da administração oral durante sete dias de FPR (nas doses de 20 e 40 mg/kg) em camundongos Swiss fêmeas com Sarcoma 180 e esse efeito foi comparado a aquele obtido em camundongos Swiss fêmeas tratadas com metotrexato (MTX; 1,5 mg/kg i.p.). Os animais foram avaliados quanto ao consumo de água e ração, peso, tamanho do tumor (peso), parâmetros hematológicos e bioquímicos e o peso do fígado, baço, coração, pulmão e rins. O extrato (15,6 mg/mL de proteínas) contendo lectina (AH específica: 1,9) e atividade inibidora de tripsina específica (AITE) de 54,5 U/mg foi utilizado para produção da FPR. FPR apresentou concentração proteica de 6,4 mg/mL, AH específica de 2,5 e AITE de 87,8 U/mg. FPR na dose de 40 mg/kg promoveu redução significativa da massa tumoral em relação aos grupos controle negativo e MTX. Para os grupos tratados com FPR, não houve alterações significativas dos parâmetros bioquímicos e hematológicos, peso relativo dos órgãos, consumo de água e ração, e peso dos animais, em comparação com os grupos Sham e controle negativo. Podemos concluir que FPR apresentou ação antitumoral na dose de 40 mg/kg, que pode estar relacionada com a presença de lectinas e inibidores de tripsina. Adicionalmente, todas as doses de FPR não apresentaram sinais de toxicidade aos animais.

Palavras-Chave: Planta medicinal. Proteínas bioativas. Câncer. Atividade antitumoral.

ABSTRACT

Moringa Oleifera is a plant native to India that has can to tolerate different environmental conditions and because of that is widely cultivated on almost all continents. The leaves of *M. oleifera* have high medicinal value, being rich in proteins, secondary metabolites, vitamins and minerals. In this work, the antitumor activity of a protein fraction from *M. oleifera* leaves (FPR) was evaluated in mice with sarcoma 180. Protein concentration, hemagglutinating activity (HA) and trypsin inhibitor were determined. The effect of oral administration during seven days of FPR (at doses of 20 and 40 mg/kg) in female Swiss mice with Sarcoma 180 was also evaluated and this effect was compared to that obtained in female Swiss mice treated with methotrexate (MTX; 1.5 mg/kg i.p.). The animals were evaluated for water and food consumption, weight, tumor size (weight), hematological and biochemical parameters, and the weight of liver, spleen, heart, lung, and kidneys. The extract (15.6 mg/mL protein) containing lectin (specific AH: 1.9) and specific trypsin inhibitor activity (AITE) of 54.5 U/mg was used for FPR production. FPR showed protein concentration of 6.4 mg/mL, specific AH of 2.5 and AITE of 87.8 U/mg. FPR at a dose of 40 mg/kg promoted significant reduction of tumor mass compared to negative control and MTX groups. For the groups treated with PRF, there were no changes in biochemical and hematological parameters, relative organ weight, water and food consumption, and animal weight, compared to the Sham and negative control groups. We can conclude that FPR showed antitumor action at the dose of 40 mg/kg, which may be related to the presence of lectins and trypsin inhibitors. Additionally, all doses of FPR showed no signs of toxicity to the animals.

Keywords: Medicinal plant. Bioactive Proteins. Cancer. Antitumor activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estágios do processo de formação do tumor.	16
Figura 2 –	Aspecto externo de camundongos portadores de Sarcoma 180 na região intraperitoneal.	17
Figura 3 –	Folhas (A), flores (B), fruto maduro (C) e sementes (D) da <i>M. Oleifera</i> .	21
Figura 4 –	Componentes de <i>M. oleifera</i> relatados por conter atividade hipotensora, anticâncer e antibacteriana.	22
Figura 5 –	Componentes de <i>M. oleifera</i> relatados por conter atividade hipotensora, anticâncer e antibacteriana.	26
Figura 6 –	Peso do tumor dos animais portadores de sarcoma 180.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Determinação proteica, atividade hemaglutinante e inibidora de tripsina do extrato e fração proteica (FPR) das folhas de <i>M. oleífera</i>	28
Tabela 2 –	Consumo de água e comida e peso dos animais.	28
Tabela 3 –	Parâmetros bioquímicos dos animais.	29
Tabela 4 –	Parâmetros hematológicos dos animais.	30
Tabela 5 –	Peso de órgãos dos animais.	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
cMol	Lectina Coagulante de <i>Moringa oleifera</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio.
PBS	Tampão fosfato-salino
S180	Sarcoma 180
WSMol	Lectina Solúvel em Água das Sementes de <i>Moringa oleifera</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3.1	CÂNCER	15
3.1.1	Sarcoma 180 e experimentação animal	17
3.2	PROTEÍNAS	18
3.2.1	Lectinas	18
3.2.2	Inibidor de protease	19
3.3	A ESPÉCIE <i>Moringa oleifera</i>	20
3.3.1	Atividades biológicas da <i>Moringa oleifera</i>	23
4	METODOLOGIA.....	24
4.1	OBTENÇÃO DO MATERIAL.....	24
4.2	PREPARAÇÃO DA FRAÇÃO RICA EM PROTEÍNA (FPR).....	24
4.3	DOSAGEM DE PROTEÍNA, ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE E INIBIDORA DE PROTEÍNA.....	24
4.4	INDUÇÃO DO SARCOMA 180	25
4.5	TRATAMENTO DOS ANIMAIS	26
4.6	DETERMINAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA E ALIMENTO E O PESO DOS ANIMAIS E DOS ÓRGÃOS	26
4.7	ANÁLISE BIOQUÍMICA E HEMATOLÓGICA	27
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	28
6	CONCLUSÃO.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

Diversos países desenvolvidos e em desenvolvimento utilizam preparações de plantas para cuidados básicos de saúde. O conhecimento sobre plantas medicinais no tratamento e cura de enfermidades simboliza, muitas vezes, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos, sendo uma prática tão antiga quanto a espécie humana (MACIEL et al., 2002). As plantas medicinais apresentam componentes denominados de princípios ativos, que podem atuar de forma isolada ou conjuntamente de forma sinérgica (LEANDRO et al., 2017).

A *Moringa oleifera* Lam ganhou destaque devido aos seus diversos usos medicinais, sendo utilizada para o tratamento e prevenção de doenças devido as suas propriedades terapêuticas e antioxidantes, além de servir como uma rica fonte de alimento de alto valor nutricional (SOUSA; MELO, 2019). As folhas inteiras de *M. oleifera* são usadas na alimentação como saladas e chás e o pó em condimento e suplemento multivitamínico natural (MANUWA; SEDARA; TOLA, 2020).

Diversas propriedades biológicas de extratos e compostos isolados de folhas de *M. oleifera* são relatadas, incluindo as atividades anti-inflamatória, antidiabética, antioxidante e anticâncer (ANWAR et al., 2007). Ma et al. (2020) sugeriram que as propriedades farmacológicas das folhas de *M. oleifera* são relacionadas à presença de flavonoides, taninos, glucosinolatos, carotenoides e proteínas. Proteínas das classes das lectinas (proteínas hemaglutinantes que ligam carboidratos) e inibidores de tripsina (proteínas que modulam a ação da enzima) de origem vegetal com atividade antitumoral já foram descobertas (MODY et al., 1995; GUPTA et al., 2010).

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo (INCA, 2022). A Organização Mundial da Saúde (2020) define 'sarcoma' como um grupo heterogêneo de cânceres originários de tecidos mesenquimais, que podem ser classificados em sarcomas de tecidos moles ou ósseos e ainda divididos em diversos subtipos de acordo com o local em que se origina.

Geralmente, nos hospitais, são prescritos medicamentos convencionais para o tratamento do câncer, contudo, esses medicamentos possuem alto custo para

obtenção dos compostos e inespecificidade dos mesmos (JOHNSON, 2007). Por conta disso, as pesquisas sobre plantas medicinais na área da cancerologia estão ganhando um maior destaque (JOHNSON, 2007). Estudos sobre a composição química de raízes, folhas, sementes e flores da *M. oleifera*, identificaram compostos fenólicos, lectinas e inibidores de tripsina com propriedades farmacológicas, em especial atividades anti-inflamatória e antinociceptiva (PONTUAL et al., 2012; PEREIRA, 2018). Estudos *in vitro* e *in vivo* publicados demonstraram que lectina e inibidor de tripsina de origem vegetal são hábeis em induzir morte de células de sarcoma 180 e reduzir a área do sarcoma 180, comprovando a ação antitumoral *in vivo* dessas duas classes de proteínas (RAMOS et al., 2019; PATRIOTA et al., 2020; PATRIOTA et al., 2021).

As intervenções terapêuticas convencionais para tratamento do câncer como a cirurgia, radioterapia e quimioterapia apresentam diversas contraindicações e efeitos colaterais (WARD et al., 2019). Por conta desses fatores, faz-se necessária a busca por novos métodos e terapias alvo-específicos (alternativos) utilizando compostos naturais com propriedades medicinais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito antitumoral da fração proteica das folhas de *M. oleifera* (FPR) em animais portadores de sarcoma 180.

.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir a fração proteica das folhas de *M. oleifera* (FPR);
- Determinar a dosagem proteica da FPR utilizando método colorimétrico;
- Determinar a presença de lectinas em FPR utilizando o ensaio de atividade hemaglutinante;
- Determinar a presença de inibidor de tripsina na FPR utilizando a enzima tripsina e o substrato sintético cromogênico BAPNA (*N* α -Benzoyl-DL-arginine4-nitroanilide hydrochloride);

- Avaliar camundongos Swiss fêmeas com Sarcoma 180 tratadas com metotrexato (MTX; 1,5 mg/kg i.p.), FPR nas doses de 20 e 40 mg/kg e determinar consumo de água e ração, peso, tamanho do tumor (peso), parâmetros hematológicos e bioquímicos e o peso do fígado, baço, coração, pulmão e rins.
- Comparar os dados obtidos com aqueles provenientes dos animais dos grupos Sham e controle negativo que receberam solução salina via oral

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CÂNCER

Câncer, tumores malignos ou neoplasia maligna é um conjunto de mais de 100 doenças caracterizado pelo crescimento desordenado das células, que invadem tecidos e órgãos (metástase). O câncer é considerado uma séria ameaça à saúde humana em todo o mundo, sendo a segunda patologia mais frequentemente diagnosticada e mais mortal após as doenças cardiovasculares (MADIA et al., 2019).

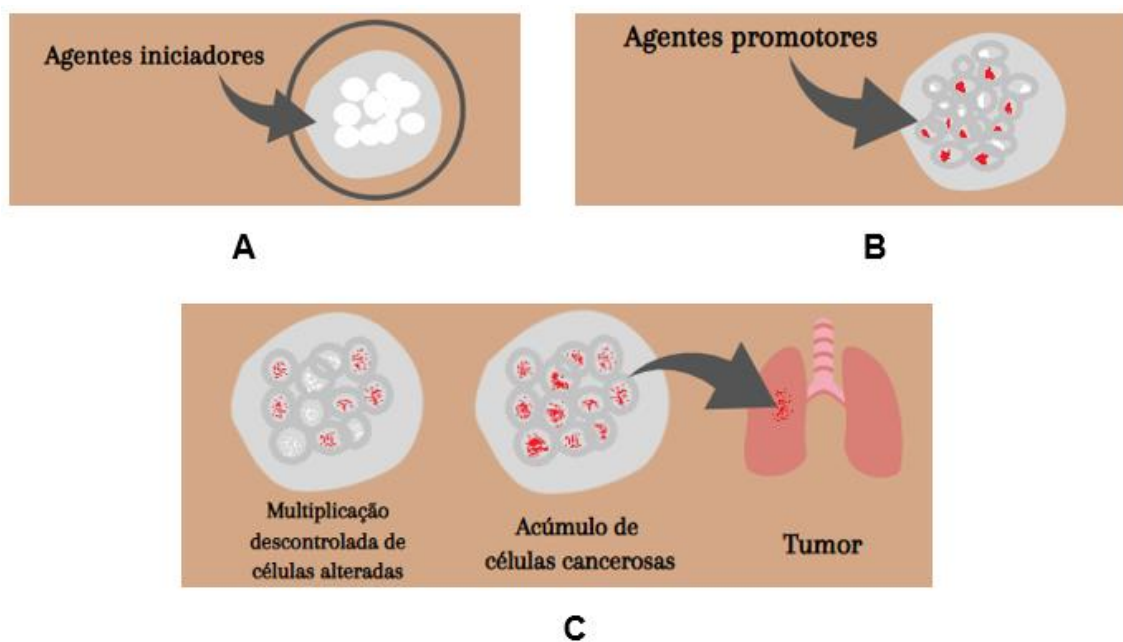
O câncer é uma doença multifatorial, resultante da interação entre fatores extrínsecos e intrínsecos ao organismo. Os fatores extrínsecos referem-se ao meio ambiente e hábitos ou costumes próprios, como tabagismo, sedentarismo, radiação ou agentes infecciosos. A forma intrínseca está relacionada a condições imunológicas e mutações em genes específicos, como os proto-oncogenes, que em organismos saudáveis estão menos expressos ou até mesmo silenciados. Quando ativados, os proto-oncogenes tornam-se oncogenes, responsáveis por transformar as células normais em células cancerosas (INCA, 2022). As causas extrínsecas e intrínsecas podem agir tanto em conjunto como em sequência para iniciar ou promover o processo de carcinogênese (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2015).

A carcinogênese é composta por três estágios: iniciação, promoção e progressão (INCA, 2022). No estágio de iniciação (Figura 1A), as células vão sofrer ação de agentes cancerígenos químicos ou físicos, levando à ativação de oncogenes e/ou inativação de genes supressores de tumor, além de causar mudanças irreversíveis ao DNA (VENDRAMINI-COSTA; CARVALHO, 2012). O segundo estágio, a promoção do tumor (Figura 1B), ocorre o aumento da proliferação celular e/ou redução da morte celular provocados por promotores tumorais, como processos

inflamatórios (KARIN; GRETEN, 2005). O último estágio da carcinogênese, a progressão (Figura 1C), é caracterizado pelo aumento do tamanho do tumor, metástase e o acúmulo de mutações, acarretando o desenvolvimento de um fenótipo mais maligno (KARIN; GRETEN, 2005).

Segundo Ramamurthy et al. (2021), diversos estudos de linhagens de células cancerosas relataram consistentemente a inibição do crescimento celular, aumento da apoptose, parada do ciclo celular e citotoxicidade em todas as linhagens de células cancerígenas, independentemente do tipo de câncer. Células neoplásicas apresentam um padrão de glicosilação diferente das células normais como por exemplo, alterações em N-glicanos de glicoproteínas que são relacionadas a grau de malignidade e metástase do câncer (DENNIS et al., 1987, POUSSET et al., 1997).

Figura 1 - Estágios do processo de formação do tumor. A) Iniciação; B) Promoção; C) Progressão.



Fonte: INCA, 2022

Um dos fatores que podem contribuir com o desenvolvimento do câncer é o estresse oxidativo, sendo caracterizado por um desequilíbrio na produção de radicais livres e compostos oxidativos e sua eliminação pelos antioxidantes (KHOR et al., 2018). Além disso, o aumento intracelular de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode resultar na oxidação de proteínas, alterações em vias de sinalização, mudanças na expressão gênica, e alterações epigenéticas (SILVA; JASIULIONIS, 2014).

3.1.1 Sarcoma 180 e experimentação animal

O uso de animais de laboratório representa uma parcela significativa no desenvolvimento de pesquisas relacionadas ao estudo da tumorigênese (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002). O modelo experimental de mamífero mais utilizado são os camundongos, devido a sua semelhança genética, biológica e fisiológica com os humanos, além de possuírem gestação curta, são acessíveis e de fácil domesticação e manutenção (RANGARAJAN et al., 2003; CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007).

Os diferentes tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo, sendo aqueles que tem início em tecidos epiteliais, como pele e mucosas, denominado carcinoma e aqueles que se originam em tecidos conjuntivos, como osso, músculo ou cartilagem são classificados como sarcoma (INCA, 2022).

Sarcoma 180 (S180) ou tumor de Crocker é um modelo animal de tumor universalmente utilizado para avaliação de drogas anticancerígenas *in vivo* (GAO et al., 2017). Histologicamente, o Sarcoma 180 é uma massa sólida formada por células de citoplasma basófilo com núcleo central e arranjadas em ninhos ou cordões (ZUCKERBERG, 1973). O tumor tem capacidade de invadir o músculo esquelético, o tecido adiposo, nervos e até mesmo vasos sanguíneos. Apesar do comportamento agressivo, esta neoplasia não produz metástases (KURASHIGE; MITSUHASHI, 1982).

O Sarcoma 180 pode ser transplantado por inoculação subcutânea intramuscular ou intraperitoneal e cresce rapidamente em 90% a 100% dos animais inoculados. Em geral, ocorre ulceração na pele ao redor do 28º dia após a incubação subcutânea e os animais tendem a morrer no 30º dia. Esse tumor pode se desenvolver em um tumor sólido ou ascítico a depender da forma de inoculação das células de sarcoma 180 no animal a ser testado (Figura 2) (ZUCKERBERG, 1973).

Figura 2 - Aspecto externo de camundongos portadores de Sarcoma 180 na região intraperitoneal.



Fonte: o autor.

Apenas uma semana de crescimento tumoral é o suficiente para o surgimento de necroses, devido ao fato de que a forma sólida do S180 se caracterizar por um rápido crescimento, chegando a atingir uma média de 18 x 14 x 10 mm por volta do 7º dia de transplante (SCHABEL et al., 1977; PEREIRA; CHAVES, 1983;)

Uma das vantagens do modelo S180 é que favorece melhores resultados nos estudos da atividade antitumoral *in vivo*, uma vez que todas as respostas sistêmicas se fazem presentes, inclusive a imunidade (FERREIRA et al., 2019). Atualmente, o S180 é um dos modelos tumorais mais utilizados na busca de novas entidades químicas com ações terapêuticas, principalmente, antitumorais e, mais recentemente, com capacidade antinociceptiva contra dor crônica induzida por cânceres (FERREIRA et al., 2019).

3.2 PROTEÍNAS

Proteínas são polímeros de aminoácidos que diferem entre si de acordo com a sequência de aminoácidos expressa na cadeia peptídica (NELSON; COX, 2018). As proteínas podem ser classificadas em globulares e fibrosas e participam de praticamente todos os processos fisiológicos vitais (HARVEY; FERRIER, 2012). Por conta dessa importância biológica, essas moléculas estão sendo cada vez mais estudadas na área da biotecnologia para o desenvolvimento de biofármacos (FERRO, 2010).

3.2.1 Lectinas

Lectinas são proteínas antinutricionais que estão distribuídas amplamente na natureza, podendo ser encontradas em praticamente todos os tipos de organismos, desde vertebrados e invertebrados até microrganismos e plantas (LIS; SHARON, 1998). Nas plantas, as lectinas são encontradas em praticamente todos os tecidos, onde atuam na proteção contra agentes fitopatogênicos, podendo ser encontradas, de forma mais concentrada, em locais estratégicos para defesa do organismo (SILVA, 2020). Essas moléculas possuem a capacidade de se ligar especificamente e reversivelmente a carboidratos, podendo aglutinar células como eritrócitos, linfócitos, fibroblastos e glicoconjugados (COELHO et al., 2012). Devido à essa excepcional propriedade de reconhecimento de glicanos, os pesquisadores encontraram diversas aplicações em química analítica, biotecnologia e química de superfície (YOUAN; COULIBABY, 2017).

Algumas lectinas vegetais apresentam propriedades de reconhecimento de células neoplásicas, além de diferenciar tumores malignos de benignos e o grau de glicosilação associado à metástase (MODY et al., 1995; GUPTA et al., 2010). As lectinas apresentaram um efeito antiproliferativo contra diversas linhagens de células cancerígenas *in vitro* com efetiva ação antitumoral em modelos de câncer *in vivo*, incluindo o sarcoma 180, sugerindo-os como agentes anticancerígenos promissores (MAZALOVSKA; KOUOKAM, 2020).

Algumas lectinas já foram descritas com efeitos anti-sarcoma 180. As lectinas isoladas das folhas de *Microgramma vacciniifolia* (MvFL) e *Schinus terebinthifolia* (SteLL) induziram apoptose e necrose em células de sarcoma 180 *in vivo* e reduziram a área tumoral em mais do que 57% (RAMOS et al., 2019; PATRIOTA et al., 2021).

3.2.2 Inibidor de protease

As proteases e seus inibidores são proteínas amplamente distribuídas em todos os organismos, e desempenham funções essenciais para manutenção da vida (SILVA-LOPEZ, 2009). Os inibidores atuam inativando ou reduzindo a atividade de diversos tipos de enzimas, por meio da competição com o substrato pelo sítio ativo das proteases, ou pela interação com outras regiões da molécula enzimática (KIM et al., 2009; ROCHA-FILHO, 2015). Esse grupo de inibidores pode ser classificados em serino, cisteíno, aspártico, treonino e metaloproteases, de acordo com a classe de enzimas que inibem, sendo as serinoproteases os mais expressos em plantas

(SILVA-LOPEZ, 2009). Nas plantas, os inibidores de tripsina atuam principalmente na proteção da integridade vegetal por meio do controle da ação de outras proteinases (VALUEVA; MOSOLOV, 2004).

A tripsina faz parte de uma grande família de serinoproteinases que hidrolisam especificamente proteínas e peptídeos no grupo carboxila de resíduos de arginina e lisina além de desempenhar um papel crítico na digestão de proteínas (LU et al., 2008). Essa molécula é uma das mais importantes e abundantes proteases digestivas presente nos vertebrados, sendo sintetizada no pâncreas em sua forma inativa (tripsinogênio) (WHITCOMB; LOWE, 2007). Além da sua importância fisiológica, a tripsina é utilizada para diversos fins biomédicos e industriais (VANDERMARLIERE; MUELLER; MARTENS, 2013).

Os inibidores de proteases estão entre as proteínas de grande interesse na pesquisa biotecnológica pelo potencial de aplicação nos setores industrial e farmacêutico, tendo sido investigados quanto a sua atividade antibacteriana, antifúngica e anticancerígena (KIM et al., 2009, PAULA et al., 2012). Ensaio *in vivo* utilizando o inibidor de tripsina isolado de flores de *M. oleifera* revelou que nos animais tratados houve redução de 90 a 97% do peso do tumor, bem com no número de vasos secundários e calibre de vasos primários em modelo com Sarcoma 180 (PATRIOTA et al., 2020).

3.3 A ESPÉCIE *Moringa oleifera*

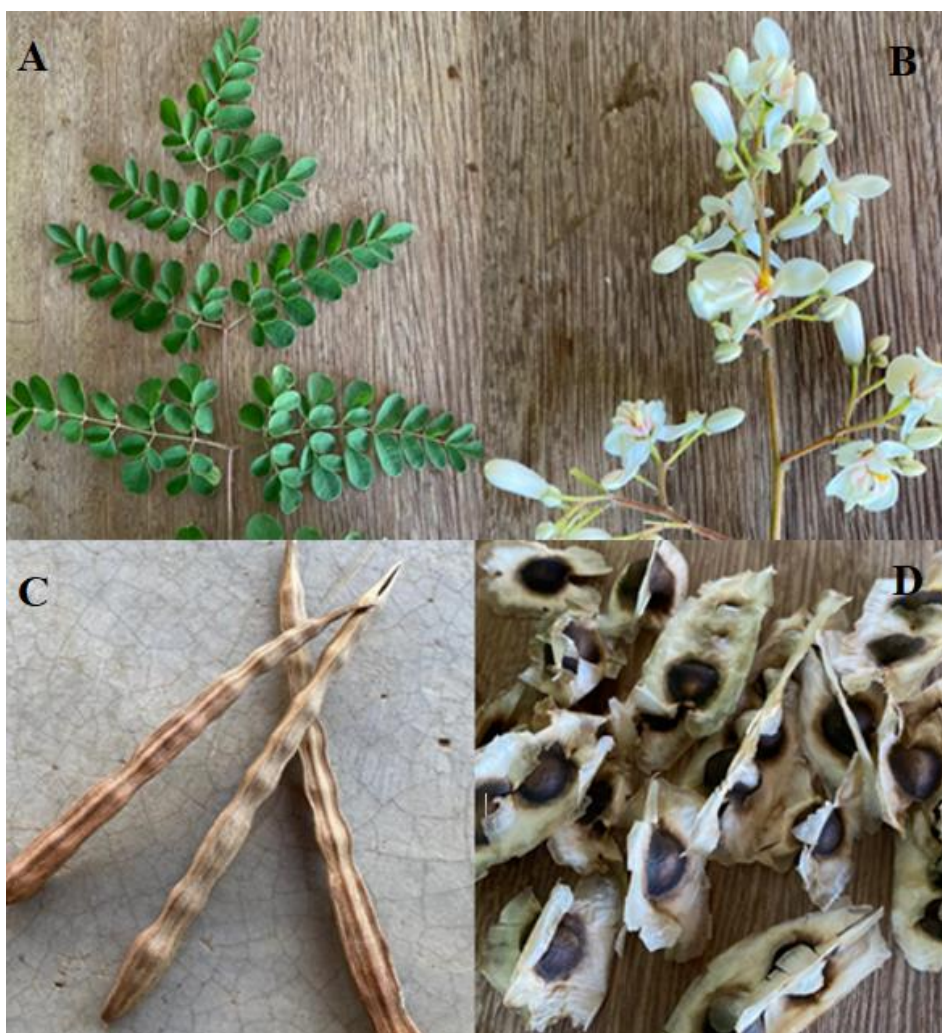
M. oleifera Lam. é uma espécie da família monogênica Moringaceae, dentro da ordem Brassicales, à qual pertence alguns vegetais crucíferos, como brócolis, couve e repolho (WATERMAN et al., 2014). Popularmente conhecida como “árvore de baqueta” ou “árvore milagrosa” a espécie ganhou destaque devido aos seus diversos usos medicinais e a sua capacidade de tolerar uma ampla gama de condições ambientais, sendo cultivada em quase todos os continentes e possuir um rápido crescimento, podendo chegar até 15m de comprimento (MAJALI; ALTHUNIBAT; QARALLEH, 2015; SANTOS et al., 2015).

As folhas de *M. oleifera* são compostas bipinadas com folíolos obovais, pequenos e glabros. As flores são esbranquiçadas, reunidas em racemos pendentes. Os frutos são do tipo cápsula alada e deiscente com aspecto de uma vagem, medindo

até 35 cm de comprimento e marcado pelas sementes em seu interior. As sementes são trialadas e oleaginosas (Figura 3) (LORENZI & MATOS, 2002).

As sementes contêm coagulantes naturais que podem ser utilizados no tratamento da água além de ser fonte de óleo, que pode ser aplicado em cosméticos e como matéria-prima para produção de biodiesel (YIN, 2010; MOFIJUR et al., 2014). As flores da planta contêm proteases que podem atuar na coagulação do leite e que possuem atividade inseticida (PONTUAL et al., 2012; PONTUAL et al., 2012;).

Figura 3 - Folhas (A), flores (B), fruto maduro (C) e sementes (D) da *M. oleifera*



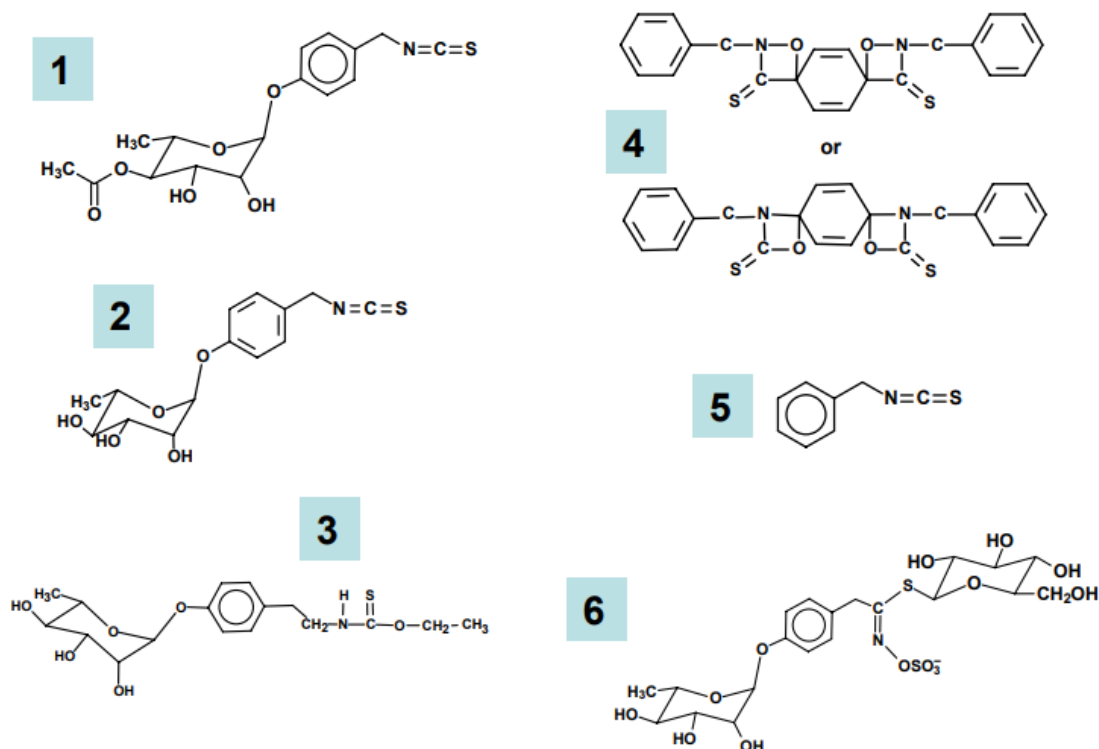
Fonte: BARROS et al. (2021)

As folhas de *M. oleifera* têm alto valor nutricional com altos níveis de proteínas, vitaminas, potássio, cálcio, fósforo, ferro e aminoácidos essenciais (LIN et al., 2018; SULASTRI et al., 2018). Devido a seus consideráveis benefícios nutricionais, as

folhas são muito utilizadas pela população para tratar desnutrição e para aumentar e enriquecer o leite materno de mães em fase de amamentação (MISHRA et al., 2012). Além disso, as folhas possuem altas concentrações de flavonoides, taninos, glucosinolatos, saponinas, alcaloides, terpenoides, minerais e proteínas (Figura 4), sendo atribuída a eles diversas propriedades medicinais e biotecnológicas, sendo utilizadas na prevenção de mais de 300 doenças (FAHEY, 2005; OKIKI et al., 2015; MA et al., 2020).

Há registros arqueológicos de que óleos de frutos e sementes do gênero *Moringa* foram utilizados em medicamentos e perfumes no Egito Antigo (BRUN, 2000). Outra curiosidade é que o falecido líder revolucionário de Cuba, Fidel Castro, promoveu ativamente o cultivo da árvore em Cuba devido a suas propriedades nutricionais e medicinais (NAYAR, 2016).

Figura 4 – Componentes de *M. oleifera* relatados por conter atividade hipotensora, anticâncer e antibacteriana. 4-(4'-O-acetil- α -L-rhamnopiranosiloxi) isotiocianato de benzila [1], 4-(α -L-rhamnopiranosiloxi) isotiocianato de benzila [2], niazimicina [3], pterigospermina [4], isotiocianato de benzila [5], e 4-(α -L-rhamnopiranosiloxi) benzil glucosinolato [6].



Fonte: FAHEY (2005)

3.3.1 Atividades biológicas da *Moringa oleifera*

É encontrado na literatura diversas propriedades biológicas relacionado a compostos bioativos de *M. oleifera*. Moyo et al. (2011) e Teixeira et al. (2014) relataram que o teor proteico encontrado nas folhas de *M. oleifera* foi de 30,3% e 28,7%, respectivamente, correspondendo a proteínas de baixa digestibilidade *in vitro* com presença de fatores antinutricionais, como lectinas e inibidores de tripsina. As lectinas cMol (do inglês, *M. oleifera lectin*) e WSMoL (do inglês, *water-soluble M. oleifera lectin*), presentes nas sementes apresentaram atividade inseticida, antifúngica, antibacteriana e efeito hipoglicemiante (Paiva et al., 2011; (CORIOLANO et al., 2020; SANTOS et al., 2021; VERA-NUÑEZ et al., 2021).

Estudos fitoquímicos revelaram a presença de esteroides e compostos fenólicos em fracionamentos de folhas de *M. oleifera*, sendo atribuído a eles o potencial citotóxico e anticancerígeno (KRISHNAMURTHY, et. al., 2014). Trabalhos de pesquisa sugerem que a planta pode ser utilizada como agente anti-neoproliferativo devido a sua capacidade específica de induzir EROs em células cancerígenas *in vitro* (GOPALAKRISHNAN et al., 2016).

Extrato aquoso de folhas apresentou atividade antiproliferativa em células de câncer hepático pela inibição do fator de transcrição pró inflamatório NF-kB (BERKOVICH et al., 2013) e indução de apoptose em células de carcinoma epidermóide de boca (SREELATHA et al., 2011). Além disso, compostos com atividade anticancerígena bem definida, como glicosinolatos, niazimicina e isotiocianato de benzila, foram encontrados em folhas de Moringa (HERMAWAN, et. al., 2012). Outras atividades biológicas relatadas para as folhas da espécie são anticâncer, anti-inflamatória, antidiabética, antimicrobiana e antioxidante (GOPALAKRISHNAN et al., 2016).

A principal vantagem do uso de fitoquímicos como agente anticancerígenos é que eles parecem ter menos efeitos adversos do que os medicamentos comerciais (SUPHACHAI, 2014).

Estudo mostra que as folhas de *M. oleifera* podem ter o potencial de inibir o crescimento de células cancerígenas e melhorar a saúde humana, além de inovações em ingredientes alimentares. Com base em resultados *in vitro* e *in silico*, os fitoquímicos das folhas de *M. oleifera* podem ser utilizados como drogas líderes no tratamento do câncer (MUNTAZ et al., 2021). A *M. oleifera* tem um grande potencial

para inibir a progressão tumoral sem afetar a fisiologia e a função normal do corpo e, portanto, pode ser investigada como medicamento para o tratamento do câncer (WU; XU; LAU, 2021).

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL

As folhas de *M. oleífera* foram coletadas no campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em Recife, Brasil, com autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (nº 72024) do Ministério do Meio Ambiente do Brasil. Uma exsicata (número 73.345) foi depositada no herbário Dárdano de Andrade Lima (Instituto Agronômico de Pernambuco, Recife, Brasil).

4.2 PREPARAÇÃO DA FRAÇÃO RICA EM PROTEÍNA (FPR)

A fração rica em proteínas (FPR) das folhas de *M. oleífera* foi obtida a partir do pó das folhas secas (7,5 g), o qual foi adicionado ao tampão citrato-fosfato 0,1 M pH 3,0, contendo NaCl 0,15 M (100 mL). A mistura foi homogeneizada por 4 h a 25 °C usando um agitador magnético e, em seguida, filtrada e centrifugada (9.000 g, 15 min, 4 °C) e o sobrenadante coletado foi tratado com sulfato de amônio a 60% de saturação, de acordo com Green e Hughes (1955). Após nova centrifugação (9.000 g, 15 min, 4 °C), o precipitado foi coletado e dialisado contra água destilada e correspondeu a FPR.

4.3 DOSAGEM DE PROTEÍNA, ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE E INIBIDORA DE PROTEÍNA

A quantificação proteica foi realizada de acordo com Lowry *et al.* (1951), utilizando curva padrão (31,25 a 500 µg/mL) de albumina sérica bovina (BSA). FPR (0,2 mL) foi incubada (10 min) com 1 mL de uma solução alcalina de cobre [1 mL de sulfato de cobre a 0,5% (p/v) em citrato de sódio a 1% (p/v) e 50 mL de solução de carbonato de sódio a 2% (p/v) em hidróxido de sódio a 0,1% (p/v)]. Após incubação a

25 °C, 0,1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu, diluído 1:1 com água, foi adicionado aos tubos de ensaio e, após 45 min, foi medida a absorbância a 720 nm.

A presença de lectina foi avaliada através do ensaio de atividade hemaglutinante (AH) realizado em microplacas de 96 poços com fundo em “V” de acordo com Paiva e Coelho (1992). Alíquota (50 µL) de FPR foi diluída em série em NaCl 0,15 M antes da adição de 50 µL de uma suspensão (2,5%, v/v) de eritrócitos de coelho fixados com glutaraldeído (BING *et al.*, 1967). A AH (título⁻¹) foi registrada como o recíproco da maior diluição da amostra que promover hemaglutinação e a atividade hemaglutinante específica foi definida pela relação entre a AH e a quantidade de proteínas (mg/mL).

A presença de atividade inibidora de tripsina foi investigada de acordo com Pontual *et al.* (2012) usando microplacas de 96 poços. Alíquota (20 µL) de FPR foi incubada com 5 µL de 0,1 mg/mL de tripsina bovina (Sigma-Aldrich), 5 µL de 8 mM N- α -benzoil-DL-arginil-4-nitroanilida (BApNA) e o volume foi completado até 200 µL com Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 em NaCl 0,15 M. A absorbância a 405 nm foi determinada no tempo zero e após incubação a 37 °C por 60 min. No poço controle (100% de atividade), FPR foi substituída por tampão Tris. Branco da amostra (ausência de tripsina) também foi realizado. Uma unidade de atividade inibidora de tripsina foi definida como a quantidade de inibidor que diminui a absorbância em 0,01 em comparação com o controle.

4.4 INDUÇÃO DO SARCOMA 180

Foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas provenientes do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil), com idade de 6 a 8 semanas, recebidos em março/2022. Os animais foram mantidos sob temperatura de 22 $\pm$ 2 °C, com ciclo claro e escuro (12h) e água e ração *ad libitum*. Os protocolos experimentais realizados seguiram os princípios técnicos e éticos preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (SBCAL). O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE sob o número de protocolo 0036/2021.

Os camundongos foram divididos em seis grupos compostos por seis animais (n = 36). Uma suspensão de células de sarcoma 180 (*American Type Culture Collection*, 2017) em PBS (5 $\times$ 10⁶ células/100µL) foi inoculada no dorso por via

subcutânea (s.c.) em cada camundongo, exceto aqueles pertencentes ao grupo Sham.

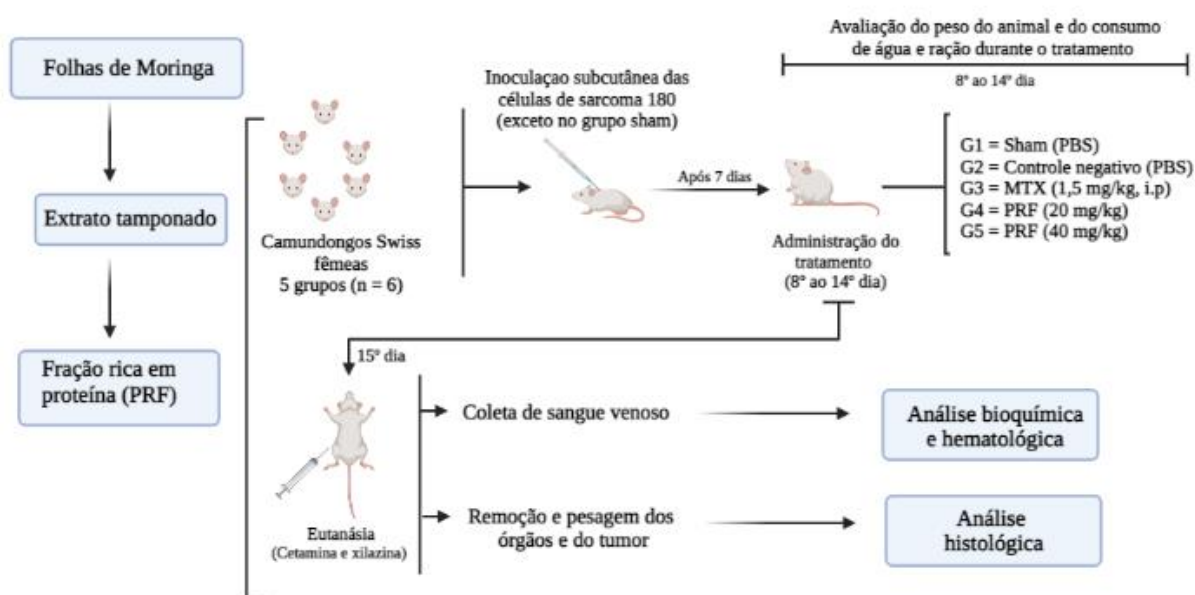
4.5 TRATAMENTO DOS ANIMAIS

Os tratamentos dos animais se iniciou no 8º dia após a inoculação e prosseguiram por 7 dias consecutivos. Os grupos Sham e controle negativo receberam solução salina via oral por tubo orogástrico (gavagem). O grupo controle positivo foi tratado com metotrexato a 1,5 mg/kg (i.p). Os outros grupos foram tratados com FPR nas concentrações de 20 mg/kg (Grupo FPR₂₀) e 40 mg/kg (Grupo FPR₄₀) por gavagem. Após o término dos tratamentos (15º dia), os camundongos foram eutanasiados com 100 mg/kg de cetamina e 10 mg/kg de xilazina (i.p).

4.6 DETERMINAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA E ALIMENTO E O PESO DOS ANIMAIS E DOS ÓRGÃOS

O peso dos animais e o consumo de água e alimento foram medidos diariamente. Os valores relativos de água e consumo alimentar foram calculados utilizando a fórmula: $\text{Consumo relativo} = \frac{\text{alimento consumido (g) ou água consumida (mL)}}{\text{peso corporal (g)}} \times 100$. O fígado, rins, baço, coração e tumor de cada animal foram removidos e pesados. O peso relativo do órgão foram calculado usando a fórmula: $\text{Peso relativo} = \frac{\text{peso do órgão (g)}}{\text{peso corporal (g)}} \times 100$. O desenho do estudo está resumido na Figura 5.

Figura 5 - Representação gráfica do desenho experimental.



Fonte: Autor.

4.7 ANÁLISE BIOQUÍMICA E HEMATOLÓGICA

O sangue dos animais foi colhido por punção cardíaca para avaliar o perfil bioquímico, uma vez que este parâmetro pode apresentar-se alterado em animais com Sarcoma 180 (SILVA-FILHO, 2019). Os seguintes parâmetros bioquímicos foram avaliados: proteína total, albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase (GGT), uréia e creatinina, usando kits específicos (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil) em um analisador COBAS Mira Plus (Roche Diagnostics Systems, Basel, Suíça).

Análise hematológica foi realizada utilizando um analisador automático (Sangue de animal Counter-ABC Vet, Montpellier, França) e microscopia óptica; os parâmetros avaliados foram: eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e análise total e diferenciada dos leucócitos.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) e foram submetidos à análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

Estudos anteriores indicaram que as folhas de *Moringa oleifera* são ricas em proteínas e contêm inibidor de tripsina e lectina (MOYO *et al.*, 2011; TEIXEIRA *et al.*, 2014). O extrato (15,6 mg/mL) obtido em tampão citrato-fosfato 0,1 M pH 3,0 contendo NaCl 0,15 M, apresentou atividade inibidora de tripsina (54,5 U/mg) e lectina (AH específica: 1,9), sendo então utilizado para produção da fração rica em proteínas (FPR). FPR apresentou concentração proteica de 6,4 mg/mL, AH específica de 2,5 e atividade inibidora de tripsina específica (AITE) de 87,8 U/mg (Tabela 1).

Tabela 1 - Determinação da concentração proteica, atividade hemaglutinante específica (AHE) e inibidora de tripsina específica (AITE) do extrato e fração proteica (FPR) das folhas de *M. oleifera*.

Parâmetros	Extrato	FPR
Proteína (mg/mL)	15,6	6,4
AHE (título ⁻¹ /mg/mL)	1,9	2,5
AITE (U/mg)	54,5	87,8

Em recente estudo desenvolvido por nosso grupo de pesquisa, observamos que FRP não apresentou toxicidade em animais normais nas mesmas concentrações administradas nesse experimento (20 e 40 mg/kg/dia). Nosso trabalho corrobora, uma vez que também não foi observada alterações no consumo de alimento e ganho de peso dos animais, em comparação com o grupo Sham. Apenas no grupo tratado com 20 mg/kg de FPR ocorreu maior consumo de água (Tabela 2).

Tabela 2 - Consumo de água e comida e peso dos animais.

Tratamento	Peso dos animais	Consumo de água	Consumo de ração
Grupo Sham	39,3 ± 1,07	24 ± 5,71	23,57 ± 5,25
Grupo PBS	37,4 ± 0,69	34 ± 8,12	29,00 ± 4,71
Grupo MTX	38,67 ± 0,79	38 ± 6,12	27,71 ± 4,15
Grupo PRF 20 mg/kg	37,83 ± 2,23	52 ± 5,77*	26,14 ± 3,02
Grupo PRF 40 mg/kg	38,17 ± 0,82	43 ± 9,96	27,29 ± 3,25

Os valores representam a média ± DP (n = 6/grupo). Diferenças significativas (p<0,05) foram encontradas em comparação com o grupo Sham (*).

De acordo com a análise dos parâmetros bioquímicos (Tabela 3), FPR não causou alterações significativas em relação ao grupo Sham, indicando que não houve danos hepáticos ou renais. Contudo, é encontrado na literatura que durante o tratamento com metotrexato (MTX) é comum a elevação de marcadores hepáticos, como o aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP), indicando possível hepatotoxicidade. Outros parâmetros bioquímicos, como creatinina e uréia, também podem ser encontrados elevados durante o uso do MTX, indicando um quadro de nefrotoxicidade, corroborando com os dados encontrados em nosso estudo (MELLO et al., 2021).

Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos de animais saudáveis (grupo Sham) e de animais portadores de Sarcoma 180 tratados com PBS (controle negativo), metotrexato 1,5 mg/kg (MTX) e fração proteica de *M. oleifera* (FPR) em 20 mg/kg e 40 mg/kg.

Parâmetros	Tratamentos				
	SHAM	PBS	MTX	FPR 20 mg	FPR 40 mg
ALB	36.59±2.32	36.74±2.41	32.14±4.12 *	38.17±4.04	36.43±3.45
ALT	67.51±3.36	67.28±4.35	102.52±9.78 *	66.17±5.91	67.85±4.13
AST	95.43±6.14	94.43±5.59	155.79±12.51 *	93.15±5.16	94.43±4.48
ALP	13.86±0.71	14.26±0.60	17.43±0.80 *	13.65±0.53	13.51±0.45
BIL	0.73±0.19	0.59±0.15	0.65±0.18	0.62±0.12	0.66±0.16
GGT	14.95±0.93	15.75±0.84	15.33±0.95	14.24±1.17	15.12±1.14
TP	75.42±6.42	75.23±6.41	51.54±5.45 *	77.15±6.24	73.34±5.32
UR	0.32±0.07	0.29±0.06	0.65±0.08 *	0.37±0.06	0.35±0.07
CRE	0.47±0.09	0.42±0.04	2.04±0.40 *	0.40±0.09	0.42±0.05
TC	96.58±7.45	96.77±5.67	90.55±6.13	92.70±7.23	98.14±9.35
TG	99.27±10.31	95.51±9.69	91.42±8.10	94.57±8.16	92.93±9.19

ALB: albumina (g/dL); ALT: alanina aminotransferase (U/L); AST: aspartato aminotransferase (U/L); ALP: fosfatase alcalina (U/L); BIL: bilirrubina (mg/dL); GGT: gama-glutamil transferase; TP: proteína total (g/dL); UR: uréia sanguínea (mg/dL); CRE: creatinina (mg/dL); CT: colesterol total (mg/dL) TG: triglicerídeos (mg/dL). Os valores representam a média $\pm$ SEM (n=6/grupo). *Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram encontradas em comparação com o controle.

De acordo com os parâmetros hematológicos (Tabela 4), todos os animais portadores do sarcoma 180 tiveram redução do número de hemácias aumento do número de leucócitos, o que pode ser devido ao quadro patológico causado pelo processo tumoral (BARBISAN, 2014). Contudo, nos grupos tratados com FPR, houve melhora do hematócrito e hemoglobina corpuscular média. FPR também aumentou o número de monócitos.

Tabela 4 - Parâmetros hematológicos de animais saudáveis (grupo Sham), bem como de animais portadores de sarcoma 180 tratados com PBS (controle negativo), metotrexato 1,5 mg/kg (MTX) ou fração proteica das folhas de *M. oleifera* (FPR) nas concentrações de 20 mg/kg e 40 mg/kg.

Parâmetros	Tratamentos				
	SHAM	Controle negativo	MTX 1,5 mg/kg	FPR 20 mg/kg	FPR 40 mg/kg
GBV	8.60 $\pm$ 0.42	6.27 $\pm$ 0.76*	6.86 $\pm$ 0.91*	7.59 $\pm$ 0.21*	7.28 $\pm$ 0.36*
HCT	45.4 $\pm$ 2.07	34.1 $\pm$ 4.66*	37.6 $\pm$ 4.77*	44.27 $\pm$ 2.61#	45.14 $\pm$ 2.24#
HB	15.2 $\pm$ 0.55	11.1 $\pm$ 1.56*	11.9 $\pm$ 1.71*	15.32 $\pm$ 0.46	15.76 $\pm$ 0.37
VCM	52.8 $\pm$ 1.46	45.4 $\pm$ 3.43*	54.8 $\pm$ 2.51#	44.17 $\pm$ 2.27*	45.58 $\pm$ 2.36*
HCM	17.7 $\pm$ 0.33	14.7 $\pm$ 1.15	17.3 $\pm$ 0.51#	16.49 $\pm$ 0.45#	16.60 $\pm$ 0.40#
CMHC	33.6 $\pm$ 0.62	27.1 $\pm$ 0.60*	31.7 $\pm$ 1.28	35.20 $\pm$ 2.11	36.45 $\pm$ 2.25
LEU	5.12 $\pm$ 1.09	13.1 $\pm$ 8.25*	23.9 $\pm$ 7.45*	9.45 $\pm$ 0.97*	9.88 $\pm$ 1.01*
SEG	21.6 $\pm$ 5.77	52.5 $\pm$ 11.8*	66.8 $\pm$ 15.4*	66.45 $\pm$ 2.48*	64.89 $\pm$ 3.11*
LIN	26.7 $\pm$ 6.22	28.6 $\pm$ 11.3	31.6 $\pm$ 14.9*	26.75 $\pm$ 0.79	27.06 $\pm$ 0.65
MON	1.20 $\pm$ 1.64	1.16 $\pm$ 0.81	1.60 $\pm$ 1.81*	5.53 $\pm$ 0.54*#	4.65 $\pm$ 0.88*#
BAS	0.60 $\pm$ 0.89	0.00 $\pm$ 0.00*	0.00 $\pm$ 0.00*	0.59 $\pm$ 0.16#	0.48 $\pm$ 0.14#
EOS	0.40 $\pm$ 0.54	1.00 $\pm$ 0.42*	0.66 $\pm$ 0.81	1.22 $\pm$ 0.12*	1.17 $\pm$ 0.14*

GBV: Glóbulos Vermelhos ($10^6/\text{mm}^3$); HCT: Hematócrito (%); HB: Hemoglobina (g/dL); VCM: Volume Corpuscular Médio (%); HCM: Hemoglobina Corpuscular Média (%); CMHC: Concentração Média de Hemoglobina Corpuscular (%); LEU: Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$); SEG: Segmentados (%); LIN: Linfócitos (%); MON: Monócitos (%); BAS: Basófilo; EOS: Eosinófilo. Os valores representam a média $\pm$ SEM

(n=6/grupo). (*) Diferenças significativas ($p < 0,05$) dos grupos em comparação com o grupo Sham. (#) Diferenças significativas ($p < 0,05$) dos grupos tratados em comparação com o controle negativo.

Em relação ao peso dos órgãos (Tabela 5), foi observado um aumento significativo do baço e fígado nos grupos controle negativo e MTX em relação ao grupo Sham, o que não aconteceu nos grupos tratados com FPR, sugerindo um efeito protetor da fração nesses órgãos.

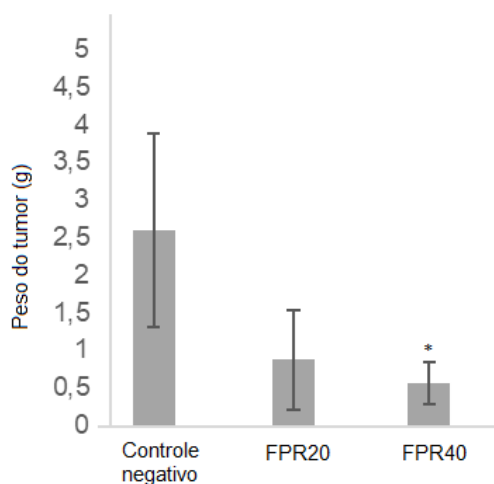
Tabela 5 - Peso de órgãos de animais saudáveis (grupo Sham), bem como de animais portadores de sarcoma 180 tratados com PBS (controle negativo), metotrexato 1,5 mg/kg (MTX) ou fração proteica das folhas de *M. oleifera* (FPR) nas concentrações de 20 mg/kg e 40 mg/kg.

Peso dos órgãos (g)					
	Coração	Baço	Rins	Pulmão	Fígado
FPR 20 mg/kg	0,13 ± 0,01	0,29 ± 0,07	0,40 ± 0,08	0,26 ± 0,08	1,82 ± 0,19
FPR 40 mg/kg	0,15 ± 0,01	0,25 ± 0,07	0,45 ± 0,04	0,22 ± 0,02	1,80 ± 0,22
MTX	0,15 ± 0,01	0,41 ± 0,07*	0,43 ± 0,04	0,22 ± 0,03	2,27 ± 0,41*
Controle negativo	0,16 ± 0,02	0,45 ± 0,13*	0,53 ± 0,04	0,29 ± 0,02	2,41 ± 0,38*
Sham	0,18 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,47 ± 0,03	0,26 ± 0,05	1,87 ± 0,22

(*) Diferenças significativas ($p < 0,05$) dos grupos em comparação com o grupo Sham.

Foi observada uma redução significativa da massa tumoral somente no grupo FPR₄₀ em relação ao grupo controle negativo (Figura 6). Tem sido descrito que a ligação de lectinas a carboidratos na superfície da célula tumoral pode desencadear várias respostas intracelulares, como apoptose, inibição do crescimento celular, parada do ciclo celular e indução do estresse oxidativo (PATRIOTA et al., 2021). Há diversas evidências sobre o papel das proteases na transformação do câncer, desenvolvimento, processo metastático e transição epitélio-mesenquimal (ZASHEVA; SIMOVA-STOILOVA, 2017). Já há relatos da atividade anticancerígena de um peptídeo inibidor de tripsina contra linhas celulares de leucemia mieloide (HARISH et al., 2020). No grupo MTX houve redução do tumor em 90%, conforme esperado.

Figura 6 - Peso do tumor dos animais portadores de sarcoma 180 tratados com PBS (controle negativo), ou fração proteica das folhas de *M. oleifera* (FPR) nas concentrações de 20 mg/kg e 40 mg/kg. Cada coluna representa a média do peso do tumor de cada animal (n = 6 por grupo).



Os valores representam a média $\pm$ DP (n = 6/grupo). (*) Diferença significativa ($p < 0,05$) foi encontrada somente para o grupo FPR40 em relação aos demais.

6 CONCLUSÃO

Podemos concluir que FPR promoveu redução da massa tumoral na concentração de 40 mg/kg. Adicionalmente, todas as concentrações de PFR mantiveram o peso dos animais e não alteraram os marcadores bioquímicos e hematológicos indicando ausência de toxicidade. Análise histopatológica segue em andamento.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN CANCER SOCIETY. **American Cancer Society**. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html>. Acesso em: 20 jul. 2022.
- ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. 388p. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/sfwjtj/pdf/andrade-9788575413869.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2022.
- ANWAR, F. et al. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 1, p. 17-25, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17089328/>. Acesso em: 15 ago. 2022.
- BARBISAN, F. Efeito farmacogenético e farmacogenômico do metotrexato na citotoxicidade de células mononucleares periféricas do sangue. **repositorio.ufsm.br**, 18 jul. 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/9011>. Acesso em: 05 ago. 2022.
- BERKOVICH, L. et al. *Moringa oleifera* aqueous leaf extract down-regulates nuclear factor kappaB and increases cytotoxic effect of chemotherapy in pancreatic cancer cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23957955/>. Acesso em: 03 ago. 2022.
- BING, D. H. et al. Hemagglutination with aldehyde-fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies. Proceedings of the Society for **Experimental Biology and Medicine**, v. 124, n. 4, p. 1166-1170, 1967. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3181/00379727-124-31953>. Acesso em: 11 jun. 2022.
- BRUN, Jean-Pierre. The production of perfumes in antiquity: the cases of Delos and Paestum. **American Journal of Archaeology**, p. 277-308, 2000. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/507452>. Acesso em: 25 set. 2022.

C. YOUAN, B.-B.; S. COULIBALY, F. Current status of lectin-based cancer diagnosis and therapy. **AIMS Molecular Science**, v. 4, n. 1, p. 1–27, 2017. Disponível em: <https://www.aimspress.com/article/id/1202>. Acesso 24 set. 2022.

COELHO, L. C. B. B. et al. Protein Purification by Affinity Chromatography. In: Rizwan Ahmad, editor. Protein Purification. Rijeka: InTech, Open Access Publisher. p. 53-72; 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/221922850_Protein_Purification_by_Affinity_Chromatography. Acesso em: 21 de ago. 2022.

CORIOLO, M. C. et al. Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 198-205, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629919301164>. Acesso em: 18 set. 2022.

DENNIS, J. W. et al. Tumor cell surface carbohydrate and the metastatic phenotype. *Cancer and Metastasis Reviews*, v. 5, n. 3, p. 185-204, 1987. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00046998>. Acesso em: 02 jun. 2022.

FAHEY, J. W. *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. **Trees for Life Journal**, v. 1, n. 5, p. 1- 15, 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/228346351_Moringa_oleifera_A_Review_of_the_Medical_Evidence_for_Its_Nutritional_Therapeutic_and_Prophylactic_Properties_Part_1. Acesso em: 01 jun. 2022.

FERREIRA, P. M. P. et al. Biologia e aplicações pré-clínicas do modelo experimental sarcoma 180. **Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza** 2, p. 270–287, 27 maio 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/333411695_Biologia_e_aplicacoes_pre-clinicas_do_modelo_experimental_Sarcoma_180. Acesso em: 10 ago. 2022.

FERRO, E. S. Biotecnologia translacional: hemopressina e outros peptídeos intracelulares. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 109–121, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ea/a/ZrKNmsdBDx673xGf33kfBPD/?lang=pt>. Acesso em 19 set. 2022.

GAO, L. et al. Enhanced antitumor efficacy of poly(D,L-lactide-co-glycolide)-based methotrexate-loaded implants on sarcoma 180 tumor-bearing mice. **Drug Design, Development and Therapy**, v. Volume 11, p. 3065–3075, out. 2017. Disponível em: <https://www.dovepress.com/enhanced-antitumor-efficacy-of-poly-dl-lactide-co-glycolide-based-meth-peer-reviewed-fulltext-article-DDDT>. Acesso em: 19 ago. 2022.

GOPALAKRISHNAN, L. et al. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, n. 2, p. 49-56, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213453016300362>. Acesso em: 01 jun. 2022.

GREEN, A. A.; HUGHES, W. L. Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solutions of salts and organic solvents. **Methods in Enzymology**, v. 1, p. 67–90, 1955. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0076687955010148>. Acesso em: 01 jun. 2022.

GUPTA, R. A. et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. **Nature**, v. 464, n. 7291, p. 1071-1076, 2010. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature08975>. Acesso em: 04 jun. 2022.

HARISH, B. S. et al. Production Enhancement of an Anticoagulant Trypsin Inhibitor from *Oceanimonas* sp. BPMS22 and Its Anti-cancer Activity. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 27, n. 1, p. 197–208, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10989-020-10078-8>. Acesso em: 22 jun. 2022.

HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. Porto Alegre: Artmed, 2012. Disponível em:

https://books.google.com.br/books/about/Bioqu%C3%ADmica_ilustrada.html?id=Jd7uwAEACAAJ&redir_esc=y. Acesso em 22 set. 2022.

HERMAWAN, A. et. al. Ethanolic Extract of Moringa oleífera Increased Cytotoxic Effect of Doxorubicin on HeLa Cancer Cells. **Journal of Natural Remedies**, v. 12, n. 2, p. 108–114, 2012. Disponível em: <https://www.informaticsjournals.com/index.php/jnr/article/view/263>. Acesso em: 28 jun. 2022.

Instituto Nacional de Câncer (INCA). **Instituto Nacional de Câncer**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer>. Acesso em: 20 jul. 2022.

JOHNSON, I. T. Phytochemicals and cancer. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, n. 2, p. 207–215, 30 abr. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17466103/>. Acesso em: 17 set. 2022.

KARIN, M.; GRETEN, F. R. NF- κ B: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 10, p. 749–759, 20 set. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16175180/>. Acesso em: 01 de set. 2022.

KIM, Y. S. et al. Update on Hsp90 inhibitors in clinical trial. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 9, n. 15, p. 1479-1492, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19860730/>. Acesso em: 11 abr. 2022.

KRISHNAMURTHY, P. T. et al. Identification and characterization of a potent anticancer fraction from the leaf extracts of Moringa oleifera L. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 53, n. 2, p. 98–103, 1 fev. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25757240/>. Acesso em: 30 de ago. 2022.

KURASHIGE, S.; MITSUHASHI, S. Macrophage activities in sarcoma 180-bearing mice and EL4-bearing mice. **Gan**, v. 73, n. 1, p. 85–90, 1 fev. 1982. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6749590/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

LEANDRO, Y. A. S. et al. Uso de plantas medicinais nos cuidados de saúde dos moradores de assentamento no município de Anapu, Pará, Brasil. **Biodiversidade**, v. 16, n. 2, 2017. Disponível em: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/5599>.

Acesso em: 22 jun. 2022.

LIN, M. et al. Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health promoting properties. **Journal of Functional Foods**, v. 47, p. 469-479, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464618303074>. Acesso em: 21 jun. 2022.

LIS, H., & SHARON, N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition†. **Chemical Reviews**, 98(2), 637–674, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11848911/>. Acesso em: 11 jul. 2022.

LIUHANEN, S. et al. Indirect measurement of the vascular endothelial glycocalyx layer thickness in human submucosal capillaries with a plug-in for ImageJ. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 110, n. 1, p. 38–47, abr. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169260712002817>. Acesso em: 12 jun. 2022.

LORENZI, Harri; MATOS, Francisco José de Abreu. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. – 1a. ed. Nova Odessa, SP: **Instituto Plantarum**, 2002. Pp. 346. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/561816477/Plantas-Medicinais-No-Brasil-Harri-Lorenzi>. Acesso em: 21 set. 2022.

LOWRY, Oliver H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925819524516>. Acesso em: 08 jun. 2022.

LU, B.-J. et al. Purification and characterisation of trypsins from the pyloric caeca of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*). **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 352–360, set. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814608001738>. Acesso: 27 set. 2022.

MA, Z. F. et al. Evaluation of phytochemical and medicinal properties of Moringa (*Moringa oleifera*) as a potential functional food. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 40-46, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629918315060>. Acesso em: 11 ago. 2022.

MACIEL, M. A. M. et al. PLANTAS MEDICINAIS: A NECESSIDADE DE ESTUDOS MULTIDISCIPLINARES. **Quim. Nova**, Vol. 25, No. 3, 429-438, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/tgsYhzfzBs3pDLQ5MtTnw9c/>. Acesso em: 05 jul. 2022.

MADIA, F. et al. Carcinogenicity assessment: Addressing the challenges of cancer and chemicals in the environment. **Environment International**, v. 128, p. 417–429, 1 jul. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016041201930039X>. Acesso em 04 ago. 2022.

MAJALI, Ibrahim; ALTHUNIBAT, Osama; QARALLEH, Haitham. Antimicrobial and Immunomodulatory activities of Moringa peregrine-MINIREVIEW. **Journal of Basic and Applied Research in Biomedicine**, v. 1, n. 2, p. 55-61, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/342690763_Biological_Activity_of_Moringa_peregrina_A_Review. Acesso em: 21 ago. 2022.

MANUWA, S. I.; SEDARA, A. M.; TOLA, F. A. Design, fabrication and performance evaluation of *Moringa oleifera* dried leaves pulverizer. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 2, p. 100034, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666154320300156>. Acesso em: 03 ago. 2022.

MAZALOVSKA, M.; KOUOKAM, J. C. Plant-Derived Lectins as Potential Cancer Therapeutics and Diagnostic Tools. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–13, 15 maio 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32509848/>. Acesso em: 19 Jul. 2022.

MISHRA, S. P. et al. Processing of *Moringa oleifera* leaves for human consumption. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 2, n. 1, p. 28-31, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/257817208_Processing_of_Moringa_oleifera_Leaves_for_Human_Consumption. Acesso em: 22 ago. 2022.

MODY, R. et al. Use of lectins as diagnostic and therapeutic tools for cancer. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 33, n. 1, p. 1-10, 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S056871994000526>. Acesso em: 11 jun. 2022.

MOFIJUR, M. et al. Comparative evaluation of performance and emission characteristics of *Moringa oleifera* and Palm oil based biodiesel in a diesel engine. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 78–84, fev. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669013006882>. Acesso em: 07 set. 2022.

MOYO, B. et al. Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 60, p. 12925-12933, 2011. OHKAWA, H. et al. Assay of lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 371-379, 1979. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/96497>. Acesso em: 10 ago. 2022.

MUMTAZ, M. Z. et al. Anticancer activities of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves: in vitro and in silico mechanistic study. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 10, n. 1, 10 fev. 2021. Disponível em:

<https://bjbas.springeropen.com/articles/10.1186/s43088-021-00101-2>. Acesso em: 12 set. 2022.

NAYAR, P. K. Retiring? Try the Fidel Stick-Indian drumstick revolution in Castro's residence, Telegraph Indi, 2016. Disponível em: <https://www.telegraphindia.com/india/retiring-try-the-fidel-stick/cid/1494201>. Acesso em: 11 set. 2022.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. Artmed Editora, 2018. Disponível em: https://books.google.com.br/books/about/Princ%C3%ADpios_de_Bioqu%C3%ADmica_de_Lehninger.html?id=nYR-DwAAQBAJ&redir_esc=y. Acesso em 23 set. 2022.

OKIKI, P. et al. Evaluation of Proximate, Minerals, Vitamins and Phytochemical Composition of Moringa oleifera Lam. Cultivated in Ado Ekiti, Nigeria. **Advances in Biological Research**, v. 9, n. 6, p. 436–443, 2015. Disponível em: [https://www.idosi.org/abr/9\(6\)15/9.pdf](https://www.idosi.org/abr/9(6)15/9.pdf). Acesso em: 22 set. 2022.

OLIVEIRA, A. M. et al. Assessment of 28-day oral toxicity and antipyretic activity of the saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 234, p. 96-105, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30703489/>. Acesso em 17 jun. 2022.

PAIVA, P. M. G. et al. Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and Moringa oleifera seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 7, p. 982–989, out. 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/251629391_Effect_of_lectins_from_Opuntia_ficus_indica_cladodes_and_Moringa_oleifera_seeds_on_survival_of_Nasutitermes_corniger. Acesso em: 28 abr. 2022.

PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 113-118, 1992. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9420234>. Acesso em: 10 jun. 2022.

PATRIOTA, L. L. S. 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. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32810586/>. Acesso em: 11 abr. 2022.

PATRIOTA, L. L. S. et al. *Microgramma vacciniifolia* frond lectin (MvFL) exhibits antitumor activity against sarcoma 180 in mice. **Phytomedicine Plus**, v. 1, n. 1, p. 100013, 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/347899605_Microgramma_vacciniifolia_frond_lectin_MvFL_exhibits_antitumor_activity_against_sarcoma_180_in_mice. Acesso em: 11 abr. 2022.

PAULA, de C. A. A. et al. Enterolobium contortisiliquum Trypsin Inhibitor (EcTI), a Plant Proteinase Inhibitor, Decreases in Vitro Cell Adhesion and Invasion by Inhibition of Src Protein-Focal Adhesion Kinase (FAK) Signaling Pathways. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 1, p. 170–182, jan. 2012. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/CIENCIAS%20BIOLOGICAS/Enzimas.pdf>. Acesso em: 27 set. 2022.

PEREIRA, A. S. et al. Extrato de *Moringa oleífera* lam. inibidor de fitotoxicidade de metais pesados na germinação de *Lactuca sativa*. In: X Mostra da Pós-Graduação: Direitos Humanos, trabalho coletivo e redes de pesquisa na Pós Graduação. 2018. Disponível em: <https://eventosacademicos.ufmt.br/index.php/mostradaposgraduacao/xmostra/paper/view/9558>. Acesso em: 05 ago. 2022.

PEREIRA, F. E. L.; CHAVES, F. B. Evolution of sarcoma 180 in mice treated with hyperchlorinated water. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 78, n. 2, p. 209–214, jun.

1983. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/mioc/a/gtD9rbFKqSVLwWjWY3QyNSg/abstract/?lang=en>. Acesso em:
 17 set.2022.

PONTUAL, E. V. et al. Caseinolytic and milk-clotting activities from *Moringa oleifera* flowers. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1848-1854, 2012. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22953932/>. Acesso em: 12 abr. 2022.

PONTUAL, E. V. et al. Caseinolytic and milk-clotting activities from *Moringa oleifera* flowers. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1848–1854, dez. 2012. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22953932/>. Acesso 15 set. 2022.

PONTUAL, E. V. 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, mar. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22392801/>. Acesso em: 28 set. 2022.

POUSSET, D. et al. Increased $\alpha 2, 6$ sialylation of N-glycans in a transgenic mouse model of hepatocellular carcinoma. **Cancer Research**, v. 57, n. 19, p. 4249-4256, 1997. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/13896154_Increased_a26_Sialylation_of_N-Glycans_in_a_Transgenic_Mouse_Model_of_Hepatocellular_Carcinoma. Acesso em: 15 abr. 2022.

RAMAMURTHY, S. et al. *Moringa oleifera*: Antioxidant, Anticancer, Anti-inflammatory, and Related Properties of Extracts in Cell Lines: A Review of Medicinal Effects, Phytochemistry, and Applications. *J Contemp Dent Pract* 2021;22(12):1483–1492. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35656691/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

RAMOS, D. B. M. et al. Evaluation of antitumor activity and toxicity of *Schinus terebinthifolia* leaf extract and lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, p. 148-157, 2019. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30658183/>. Acesso em: 29 abr. 2022.

RANGARAJAN, A.; WEINBERG, R. A. Comparative biology of mouse versus human cells: modeling human cancer in mice. **Nature Reviews Cancer**, v.3, n.1, p.952-959, 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/8908554_Opinion_Comparative_biology_of_mouse_versus_human_cells_Modelling_human_cancer_in_mice. Acesso em: 18 ago. 2022.

ROCHA FILHO, C. A. A. **Investigação do caule do Xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) como fonte de inibidor de tripsina com ação antibacteriana**. Dissertação de Mestrado. 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/13900>. Acesso em 17 ago. 2022.

SANTOS, A. et al. Moringa oleifera: Resource Management and Multiuse Life Tree. **Advances in Research**, v. 4, n. 6, p. 388–402, 10 jan. 2015. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/333667096_Moringa_oleifera_A_Powerful_Source_of_Environmentally_Medicinally_and_Biotechnologically_Relevant_Compounds. Acesso em: 21 ago. 2022

SANTOS, L. M. M. et al. Anti-Candida activity of the water-soluble lectin from Moringa oleifera seeds (WSMoL). **Journal of Medical Mycology**, v. 31, n. 2, p. 101074, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1156523320302122>. Acesso em: 28 abr. 2022.

SCHABEL, F. M. et al. Quantitative evaluation of anticancer agent activity in experimental animals. **Pharmacology & Therapeutics. Part A: Chemotherapy, Toxicology and Metabolic Inhibitors**, v. 1, n. 4, p. 411–435, jan. 1977. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0362547877900043>. Acesso em: 27 ago. 2022.

SILVA, Camila Tainah da; JASIULIONIS, Miriam Galvonas. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. **Cienc. Cult.**, São Paulo , v. 66, n. 1, p. 38-42, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000100015>. Acesso em: 01 set. 2022

SILVA, G. C. *et al.* Toxicity assessment of saline extract and lectin-rich fraction from *Microgramma vacciniifolia* rhizome. **Toxicon**, v. 187, p. 65-74, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32890585/>. Acesso em 11 ago. 2022.

SILVA-FILHO, A. P. Avaliação do perfil bioquímico e massa tumoral do sarcoma 180 em camundongos swiss (*mus musculus*) submetidos ao exercício aeróbico de moderada e alta intensidade. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/35608>. Acesso em: 15 abr. 2022.

SILVA-LOPEZ. Inibidores de Proteases Oriundas de Plantas: Uma Abordagem Útil para o Desenvolvimento de Novos Fármacos. Estado da Arte. **Revista Fitos**, v. 4, 2009. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/15748/11.pdf?sequence=2>. Acesso 27 abr. 2022.

SOARES, P. M. G. *et al.* Methotrexate-induced intestinal mucositis delays gastric emptying and gastrointestinal transit of liquids in awake rats. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 48, n. 1, p. 80–85, mar. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ag/a/sSVrDqKX8fxc69YpfcV48d/?lang=en>. Acesso em: 11 set. 2022.

SOUSA, L. F. B. DE; MELO, A. DE. BENEFÍCIOS DA MORINGA OLEIFERA PARA A SAÚDE HUMANA E MEIO AMBIENTE. **Revista Faculdades do Saber**, v. 4, n. 07, 10 dez. 2019. Disponível em: <https://rfs.emnuvens.com.br/rfs/article/view/61/48>. Acesso em 18 set 2022.

SREELATHA, S. *et al.* Antiproliferation and induction of apoptosis by *Moringa oleifera* leaf extract on human cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 6, p. 1270- 1275, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21385597/>. Acesso em: 13 abr. 2022.

SULASTRI, E. *et al.* Total phenolic, total flavonoid, quercetin content and antioxidant activity of standardized extract of *Moringa oleifera* leaf from regions with different

elevation. **Pharmacognosy Journal**, v. 10, n. 6s, 2018. Disponível em: <https://www.phcogj.com/article/769>. Acesso em: 22 abr. 2022.

SUPHACHAI, C. Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 7, p. 318–325, 17 fev. 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/274546113_Antioxidant_and_anticancer_activities_of_Moringa_oleifera_leaves. Acesso em: 17 set. 2022.

TEIXEIRA, E. M. B. et al. Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. **Food Chemistry**, v. 147, p. 51-54, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24206684/>. Acesso em: 25 jun. 2022.

VALUEVA, T. A.; MOSOLOV, V. V. Role of inhibitors of proteolytic enzymes in plant defense against phytopathogenic microorganisms. **Biochemistry (Moscow)**, v. 69, n. 11, p. 1305-1309, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15627384/>. Acesso em: 27 set. 2022.

VANDERMARLIERE, E.; MUELLER, M.; MARTENS, L. Getting intimate with trypsin, the leading protease in proteomics. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 32, n. 6, p. 453–465, 15 jun. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23775586/>. Acesso em: 27 set. 2022.

VENDRAMINI-COSTA, D. B; CARVALHO, J. E. Molecular Link Mechanisms between Inflammation and Cancer. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 26, p. 3831–3852, 22 jul. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22632748/>. Acesso em: 01 de set. 2022.

VERA-NUÑEZ, N. et al. Water-soluble lectin (WSMoL) from *Moringa oleifera* seeds treatment recovers glycemic levels and improves left ventricular ejection fraction on Type-2 Diabetes mice model. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 3, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/NfdQscnK5zZkynPCNycwT4x/>. Acesso em: 18 ago. 2022.

WARD, E. M. et al. Annual report to the nation on the status of cancer, featuring cancer in men and women age 20–49 years. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**,

v. 111, n. 12, p. 1279-1297, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31145458/>. Acesso em: 21 ago. 2022.

WATERMAN C. et al. Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. **Phytochemistry**. 2014 Jul;103:114-122.. Epub 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4071966/>. Acessado em: 21 de agosto de 2022.

WHITCOMB, D. C.; LOWE, M. E. Human Pancreatic Digestive Enzymes. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 52, n. 1, p. 1–17, 5 jan. 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10620-006-9589-z>. Acesso em: 27 set. 2022.

WHO CLASSIFICATION OF TUMOURS EDITORIAL BOARD. **Soft tissue and bone tumours**. Lyon International Agency For Research On Cancer, 2020. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Soft-Tissue-And-Bone-Tumours-2020>. Acesso em: 20 de set. 2022.

World Health Organization, 2020. Classification of Tumours Editorial Board Soft Tissue and Bone Tumours vol. 2, fifth ed IARC **Scientific Publications**, Lyon. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Soft-Tissue-And-Bone-Tumours-2020>. Acesso em: 01 abr. 2022.

WU, Y.-Y.; XU, Y.-M.; LAU, A. T. Y. Anti-Cancer and Medicinal Potentials of *Moringa* Isothiocyanate. **Molecules**, v. 26, n. 24, p. 7512, 11 dez. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34946594/>. Acesso em: 17 set. 2022.

YIN, C.-Y. Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 9, p. 1437–1444, set. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359511310002114>. Acesso em: 12 set. 2022.

ZASHEVA, D., SIMOVA-STOILLOVA, L., 2017. Antitumor potential of plant protease inhibitors. *Genet. Plant Physiol.* 7, 147–159. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/322223486_Antitumor_potential_of_plant_protease_inhibitors. Acesso em 11 set. 2022.

ZUCKERBERG, C. Ultrastructure of sarcoma 180. **Cancer Research**, v. 33, n. 10, p. 2278-2282, 1973. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/33/10/2278/479024/Ultrastructure-of-Sarcoma-180>. Acesso em: 24 abr. 2022.