



**UFC**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**MARIA DA CONCEIÇÃO FREITAS LOPES**

**AÇÃO INSETICIDA DOS INIBIDORES DE PROTEASES PRESENTES EM  
PLANTAS CONTRA O *Aedes aegypti*: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**FORTALEZA**

**2022**

MARIA DA CONCEIÇÃO FREITAS LOPES

**AÇÃO INSETICIDA DOS INIBIDORES DE PROTEASES PRESENTES EM  
PLANTAS CONTRA O *Aedes aegypti*: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação de Bacharelado em Ciências  
Biológicas do Centro de Ciências da  
Universidade Federal do Ceará, como um dos  
requisitos para a obtenção do título de Bacharel  
em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Erika Freitas Mota.  
Coorientador: Dr. Luiz Carlos Pereira Almeida  
Filho.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

L854a Lopes, Maria da Conceição Freitas.  
Ação inseticida dos inibidores de proteases presentes em plantas contra o *Aedes aegypti*: uma revisão bibliográfica / Maria da Conceição Freitas Lopes. – 2022.  
39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2022.

Orientação: Profa. Dra. Erika Freitas Mota.

Coorientação: Prof. Dr. Luiz Carlos Pereira Almeida Filho.

1. Inibidor Vegetal. 2. Inseticida. 3. *Aedes aegypti*. I. Título.

CDD 570

---

MARIA DA CONCEIÇÃO FREITAS LOPES

**AÇÃO INSETICIDA DOS INIBIDORES DE PROTEASES PRESENTES EM  
PLANTAS CONTRA O *Aedes aegypti*: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação de Bacharelado em Ciências  
Biológicas do Centro de Ciências da  
Universidade Federal do Ceará, como um dos  
requisitos para a obtenção do título de Bacharel  
em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 13 / 07 / 2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Erika Freitas Mota (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Ana Cláudia Marinho da Silva  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Me. Pedro Matheus Sousa Tabosa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dedico o presente trabalho a todos que  
contribuíram para sua escrita.

## AGRADECIMENTOS

Dedico esse trabalho à memória dos meus avós paternos, Expedito Lopes e Rita Oliveira, que me ensinaram valores importantes para toda a vida. E aos meus avós maternos Luiz Carnáuba e Mozarina Freitas, por todo carinho, ensinamento e apoio depositados em mim.

Agradeço a Deus, por me auxiliar nos momentos mais difíceis e pelo aprendizado; por me confortar e por ter colocado no meu caminho pessoas maravilhosas, que me auxiliaram no início e ao longo da graduação.

Agradeço especialmente aos meus pais, Nilson Lopes e Francisca de Freitas pela educação, por todo apoio e incentivo, e por sempre acreditarem em meus sonhos e objetivos, ao longo desses anos, muito obrigado por serem meu alicerce em minha vida e por continuarem sendo.

Agradeço à professora Dra. Erika Freitas Mota pela orientação, e por ter me proporcionado a oportunidade de fazer parte do Laboratório de Bioprospecção como estagiária.

Agradeço ao Dr. Luiz Carlos Pereira Almeida Filho, por toda a orientação e apoio para a realização desse trabalho, por ter me recebido tão bem no Laboratório de Bioprospecção.

Agradeço aos professores que fizeram parte da minha graduação, que se dedicaram a nos transmitir da melhor forma possível seus conhecimentos, para que nos tornemos biólogos cada vez melhores.

Agradeço à minha turma do curso de Ciências Biológicas 2017.1, minha eterna gratidão por participarem desse ciclo de minha vida.

A todos que, de alguma maneira, fizeram parte desse momento da minha vida, meu muito obrigado!

“What’s the use of doing all this work if we don’t get some fun out of this?”. (Rosalind Franklin).

## RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor de algumas arboviroses pertencentes à família Flaviviridae e do gênero Flavivírus como, febre amarela, Zika e dengue. Dentre essas arboviroses, a Dengue é a mais preocupante em todo o mundo, devido à sua ressurgência e ao aumento das áreas de incidência do seu vetor. A utilização de inseticidas químicos para o combate desse vetor tem sido comprometida pelo desenvolvimento de populações resistentes e pelos danos causados ao meio ambiente. Dessa forma, ocorreu um aumento na busca de alternativas para combater esse vetor, dentre elas vêm sendo estudadas proteínas vegetais com potencial inseticida, mais especificamente as abordadas neste estudo são inibidores de proteases. O presente estudo objetivou realizar uma revisão bibliográfica sobre inibidores de protease e sua ação inseticida contra o *Ae. aegypti*, a fim de buscar novas atualizações e evidências científicas. A busca bibliográfica foi realizada nas bases de dados Pubmed, Scielo, Portal Periódicos da CAPES e Science Direct utilizando os descritores, “*Aedes aegypti* and protease inhibitor plants” no idioma inglês, totalizando 347 trabalhos encontrados entre os anos de 2002 a 2022, mas apenas 19 trabalhos foram selecionados para discussão por se encaixarem nos critérios de inclusão para esta revisão. Após a leitura dos trabalhos avaliados pode-se destacar que os inibidores de proteases possuem ação inseticida contra o *Aedes aegypti* em sua fase larval, porém, se fazem necessários mais estudos para esclarecer precisamente como esses inibidores poderão ser utilizados para o combate desse vetor.

**Palavras-chave:** Inibidor Vegetal; Inseticida; *Aedes aegypti*.



## ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is the main vector of some arboviruses belonging to the Flaviviridae family and the Flavivirus genus, such as yellow fever, Zika and dengue. Among these arboviruses, Dengue is the most worrisome worldwide, due to its resurgence and the increase in its vector incidence areas. The use of chemical insecticides to combat this vector has been compromised by the resistant populations arising and the damage caused to the environment. Thus, there has been an increase in the search for novel alternatives to combat this vector, among which plant proteins with insecticidal potential have been studied, more specifically the one addressed in this study which are proteinase inhibitors. The present study aimed to carry out a literature review on protease inhibitors and their insecticidal action against *Ae aegypti*, in order to seek new updates and scientific evidence. The bibliographic search was carried out in the databases Pubmed, Scielo, Portal Periódicos da CAPES and Science Direct using the descriptors, "*Ae. aegypti* and protease inhibitor plants" in English, totaling 347 reports found between the years 2002 to 2022, but only 19 works were selected for discussion because they fit the inclusion criteria for this review. After reading the selected works, it can be highlighted that protease inhibitors have insecticidal action against *Ae aegypti* in its larval stage, however, more studies are needed to clarify precisely how these inhibitors can be used to combat this vector.

**Keywords:** Vegetable Inhibitor; Insecticidal; *Aedes aegypti*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-Distribuição mundial do vetor <i>Aedes aegypti</i> .....	16
Figura 2 – Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i> .....	18
Figura 3 – Distribuição da taxa de incidência de dengue, por município no Brasil em 2021..	19
Figura 4 – Fluxograma explicando sobre o desenvolvimento dessa pesquisa qualitativa, bibliográfica e exploratória. ....	26
Gráfico 1- Número de trabalhos publicados por ano sobre inibidores de protease contra o mosquito <i>Aedes aegypti</i> .....	28

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Trabalhos encontrados nas plataformas de pesquisa e o número de trabalhos incluídos. ....	27
Tabela 2 – Inibidores de Proteases encontrados nos trabalhos incluídos.....	29

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

DDT	Dicloro-fenil-dicloro-etano
RIPS	Proteínas Inativadoras de Ribossomos
OMS	Organização Mundial da Saúde
IP	Inibidores de Proteases

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>Insetos vetores de doenças.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1.1</b>	<b>O <i>Aedes aegypti</i> e sua importância como vetor.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Dengue.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>Controle dos vetores.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Inseticidas químicos.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Bioinseticidas.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Proteínas vegetais com potencial inseticida.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Inibidores de Proteases.....</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>25</b>
<b>4.1</b>	<b>Plataformas de pesquisa, delineamento das palavras-chave e modos de busca.....</b>	<b>25</b>
<b>4.2</b>	<b>Análise de dados.....</b>	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>5.1</b>	<b>Visão geral dos resultados.....</b>	<b>27</b>
<b>5.2</b>	<b>Ação dos inibidores de proteases contra o <i>Aedes aegypti</i>.....</b>	<b>30</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>33</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A globalização juntamente com as mudanças climáticas facilitou a introdução e estabelecimento de espécies de insetos fora de suas áreas geográficas nativas e com isso muitas doenças que ocorrem atualmente nos países tropicais e subtropicais são transmitidas por esses insetos vetores de arboviroses. O *Aedes aegypti* é o principal vetor de algumas arboviroses da família dos Flaviviridae e do gênero Flavivírus como, febre amarela, zika e dengue (GUBLER, 2004).

A dengue é uma das mais preocupantes arboviroses em todo mundo e constitui um sério problema de saúde pública em regiões tropicais e subtropicais, em que os fatores climáticos favorecem a proliferação do *Aedes aegypti*. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 2,5 bilhões de pessoas vivem sob o risco de contrair a dengue (BRASIL, 2012).

O controle dessa doença tem como principal estratégia o combate e erradicação do vetor transmissor, além do saneamento básico e educação ambiental, os quais visam a eliminação de criadouros do mosquito. O controle populacional dos insetos, através do uso de inseticidas orgânicos e inorgânicos, é a forma mais utilizada na saúde pública, como parte do manejo integrado de vetores, porém seu uso prolongado e indiscriminado, tem favorecido o aparecimento de populações de insetos resistentes (ROCHA *et al.*, 2015).

Assim, pesquisadores têm buscado na própria natureza moléculas com atividade inseticida, ou seja, bioinseticidas produzidos a partir de compostos orgânicos de origem vegetal (GOVINDARAJA; BENELLE, 2016). Dentre esses compostos estão os inibidores de proteases, havendo relatos sobre os seus efeitos tóxicos contra larvas de *Aedes aegypti* (SASAKI *et al.*, 2015; ALMEIDA-FILHO *et al.*, 2016).

## 2 OBJETIVOS

Esse trabalho tem como objetivo descrever, mediante levantamento bibliográfico, a ação dos inibidores de proteases no combate ao inseto *Aedes aegypti* em qualquer de suas fases de desenvolvimento.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Insetos vetores de doenças

A crescente globalização e as mudanças ambientais vêm facilitando a introdução e o estabelecimento de espécies de insetos invasores fora de suas áreas geográficas nativas (BALDACCHINO *et al.*, 2015). O movimento de pessoas e insetos, em conjunto a expansão da agricultura e habitação em novas áreas vêm favorecendo o surgimento, disseminação e sucesso na reprodução de insetos vetores de doenças que são os organismos intermediários no ciclo de vida de um patógeno e ou mesmo o responsável por sua disseminação aos organismos hospedeiros (NORMAN, 1999; REY, 2011). Esse crescimento desenfreado dos grandes centros urbanos com condições precárias de saneamento e infraestrutura favorece o desenvolvimento e a proliferação de algumas espécies de mosquitos com importância em saúde pública (LIMA-CAMARA *et al.*, 2016). Mosquitos do gênero *Aedes*, como *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*, são importantes vetores de vírus causadores de doenças emergentes e reemergentes, como Dengue, Febre amarela, Zika e Chikungunya, e possuem uma ampla distribuição geográfica global. Fatores de ordem biológica, geográfica, ecológica, social, cultural e econômica atuam sinergicamente na produção, distribuição e controle dessas doenças vetoriais (NICOLETTI, 2020).

Mosquitos de países ou estados diferentes apresentam modificações na competência vetorial (BENNET *et al.*, 2002). Ademais há estudos que mostram que mesmo em áreas mais restritas como em ilhas podemos encontrar mosquitos com suscetibilidades diferentes (GONÇALVES *et al.*, 2014).

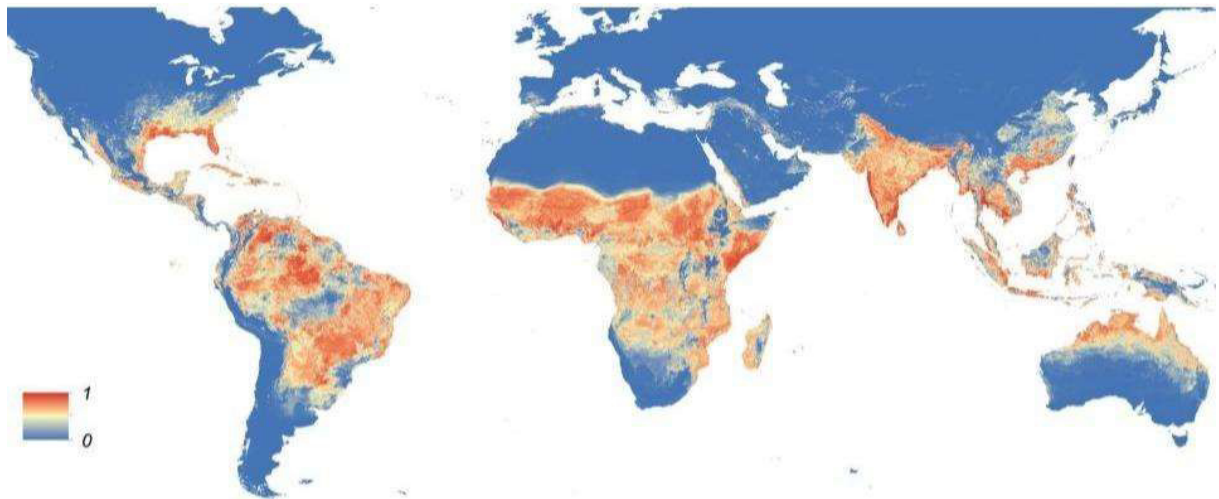
O avanço de estudos teóricos e práticos sobre as doenças transmitidas por esses vetores tem contribuído para o entendimento de aspectos ecológicos e evolutivos dos insetos transmissores de doenças, dos patógenos e produção de estratégias para controle desses vetores (ALMEIDA-FILHO, 2013). Uma melhor compreensão da biologia desses insetos vetores vêm sendo fundamental para diminuir os impactos dessas doenças sobre os seres humanos, seja por meio de controle biológico ou produtos químicos.

### 3.1.1 O *Aedes aegypti* e sua importância como vetor

O *Ae. aegypti* (LINNAEUS, 1762) pertence à família Culicidae, gênero *Aedes*, do subgênero *Stegomyia*. Esse mosquito teve origem na África, sendo descrito pela primeira vez no Egito, e vem se espalhando pelas regiões tropicais e subtropicais do planeta desde o período das Grandes Navegações no século dezesseis (NELSON *et al.*, 1986). Acredita-se que ele tenha sido introduzido no Novo Mundo no período colonial, por meio de navios vindos da Europa que cruzavam o Atlântico durante as primeiras explorações e colonizações (BISSET, 2002).

Atualmente, *Ae. aegypti* está presente na Ásia, África, América Central e América do Sul como é possível observar na Figura 1, e é transmissor de doenças virais que são chamadas de arboviroses como o Zika, febre Chikungunya, dengue e febre amarela (KRAEMER *et al.*, 2015). Ele apresenta grande capacidade de adaptação a criadouros artificiais, e proliferam rapidamente em ambientes favoráveis como em águas paradas proveniente de chuvas ou águas em reservatórios para consumo humano, de forma que sua reprodução e alimentação são fontes garantidas nesses locais (LOZOVEI, 2001).

Figura 1 – Distribuição mundial do vetor *Aedes aegypti*



Legenda: O mapa indica a probabilidade de ocorrência de *Aedes aegypti*. Seu grau de ocorrência vai de 0, em azul a 1, em vermelho. Resolução espacial de 5 km x 5km.

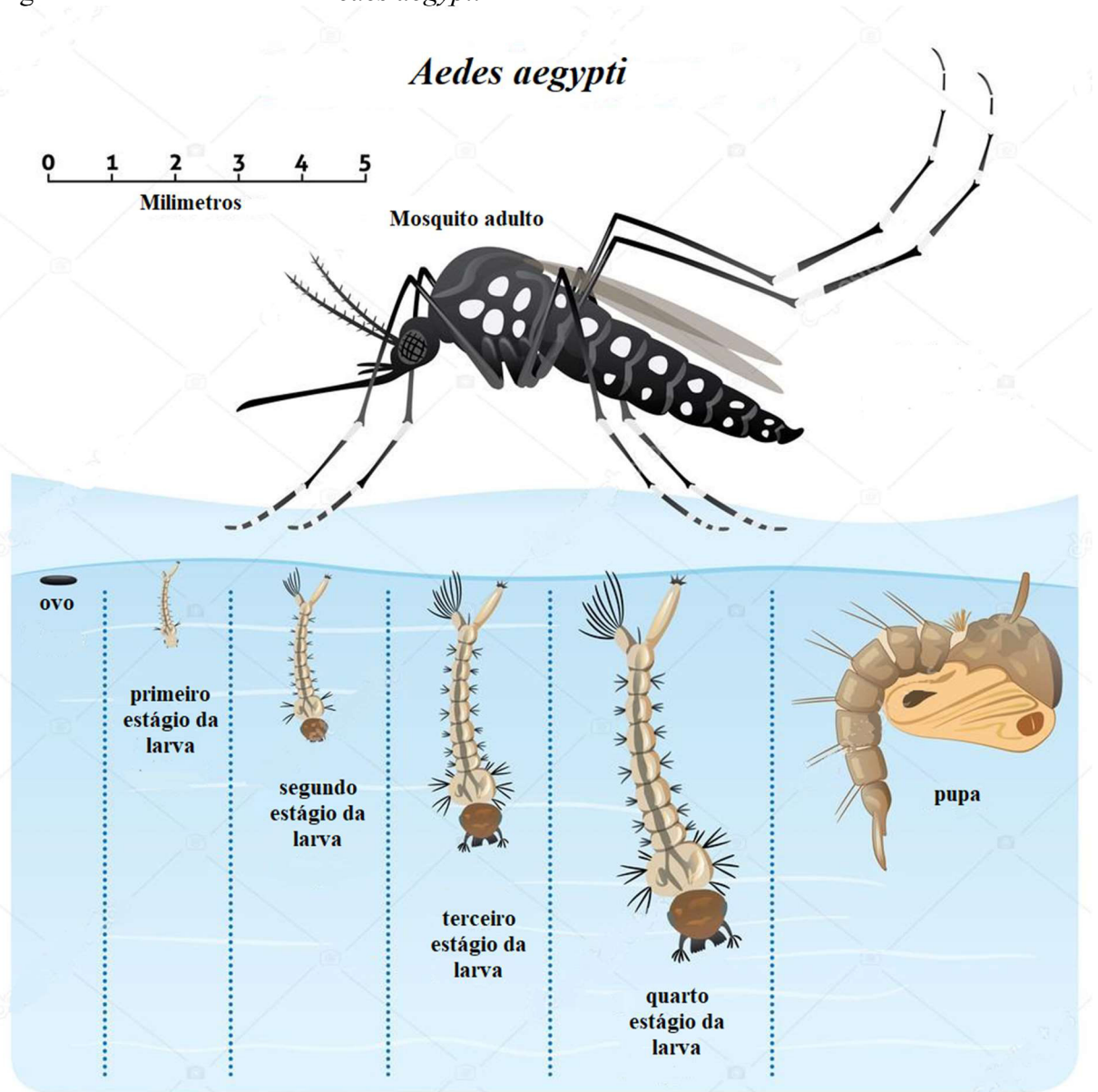
Fonte: Kraemer *et al.*, 2015.

Os insetos adultos de ambos os sexos se alimentam de néctar de vegetais, seivas e outras fontes de açúcares. As fêmeas se alimentam de sangue periodicamente, pois necessitam do



repasto sanguíneo de vertebrados para amadurecimento de seus ovos, que são depositados após o processo de repasto em animais (DEGALLIER *et al.*, 2000). O ciclo de vida do *Aedes aegypti* é formado por quatro etapas básicas: ovo, larva, pupa e adultos, esse período de desenvolvimento é aproximadamente de 7 a 10 dias, como ilustrado na Figura 2. Seu ciclo de vida se inicia após a deposição dos ovos por uma fêmea na parede de um criadouro com água, sendo que esses ovos apresentam 0,4 mm de comprimento e cor branca, mas com o tempo se tornam escuros devido ao contato com o oxigênio e podem permanecer sem eclodir por longos períodos. Estudos sugerem que os ovos podem resistir por até 450 dias, pois são resistentes ao ressecamento, e a sua eclosão ocorre quando a água entra em contato com essa estrutura (NEVES, 2005). Após a eclosão, as larvas passam por 4 estádios até se tornarem uma pupa, durante essa fase se alimentam da matéria orgânica presente no criadouro. Essa fase larval dura em média cinco dias. Na fase de pupa, ocorre a metamorfose que marca o início da fase adulta, esse período ocorre em média de 2 a 3 dias, e durante esse tempo a pupa permanece na superfície da água para facilitar o voo quando se tornarem adultos. Já na fase adulta o *Ae. aegypti*, mosquito alado, pode transmitir doenças ao homem se tornando um vetor de arboviroses. Em média, cada mosquito vive 30 dias e a fêmea pode chegar a colocar 150 a 200 ovos, e se a fêmea estiver infectada por algum arbovírus, ao completar seu ciclo de desenvolvimento, transmitirá a doença desse arbovírus ao se alimentar de sangue (NATAL, 2002). Estudos demonstraram que a fêmea uma vez infectada é capaz de transmitir o vírus por toda a vida, havendo a possibilidade de parte de seus descendentes já nascerem portadores do vírus.

Figura 2 – Ciclo de vida do *Aedes aegypti*



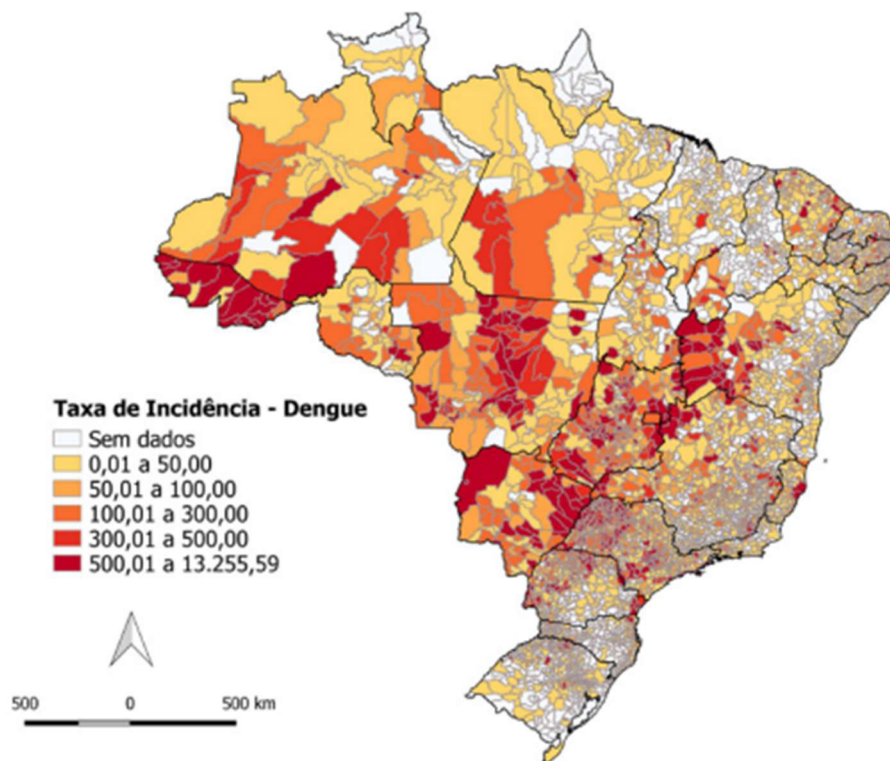
Fonte: Adaptado de CARVALHO, 2012.

### 3.1.2 Dengue

A dengue é uma doença causada por um vírus pertencente à família Flaviviridae, do gênero Flavivírus, esse vírus apresenta cinco sorotipos, denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (HALSTEAD, 2008) e o quinto mais recentemente descoberto DENV-5 (MUSTAFA *et al.*, 2015). Esses também são classificados como arbovírus, no Brasil os vírus da dengue são transmitidos pela fêmea do mosquito *Ae. aegypti*, quando a mesma está infectada e podem causar tanto a manifestação clássica da doença quanto à forma considerada hemorrágica.

As primeiras epidemias da doença foram descritas nos séculos XVIII e XIX, e na segunda metade do século XX ela passa a ser considerada uma doença global, influenciada pela urbanização, aquecimento global e crescimento populacional, que juntos propiciam a multiplicação do mosquito (KANTOR, 2016). Atualmente a dengue é considerada a mais importante arbovirose do mundo, cerca de 2,5 bilhões de pessoas estão expostas ao risco de serem infectadas, particularmente em países tropicais e subtropicais, onde condições climáticas, sociais e econômicas favorecem, ainda mais, a proliferação dos mosquitos vetores, como é possível observar na figura- 3, a taxa de incidência no Brasil (VALLE *et al.*, 2015).

Figura 3 – Distribuição da taxa de incidência de dengue, por município no Brasil em 2021.



Fonte: Adaptado de Sistemas de Informações de Agravos de Notificações (SINAN) 2021.

O vírus da dengue é transmitido ao ser humano através da picada do mosquito vetor *Ae. aegypti* infectado. Os casos sintomáticos dessa doença podem apresentar três fases clínicas, a febril, crítica e de recuperação (WHO, 2017). Na fase crítica podem surgir manifestações clínicas correspondentes a uma complicação da doença potencialmente letal chamada dengue grave, que aparecem devido ao aumento da permeabilidade vascular e da perda de plasma, o que pode levar ao choque irreversível e à morte (KURANE, 2007). Devido a carga da doença

e seu potencial de evolução para óbito, a dengue continua sendo um dos mais sérios problemas de saúde pública no Brasil (BRASIL, 2018)

No momento atual, a principal forma de prevenção é o combate aos mosquitos e eliminação dos criadouros de forma coletiva com participação comunitária e o estímulo à estrutura de políticas públicas efetivas para o saneamento básico e o uso racional de inseticidas.

### **3.2 Controle dos vetores**

Com a falta de tratamento específico contra as arboviroses, o modo mais conveniente de combater essas doenças é evitando o surgimento de novos casos por meio da diminuição da transmissão do patógeno por intermédio do combate aos vetores dessas doenças.

O papel do controle de vetores em Saúde Pública é prevenir as infecções mediante o bloqueio ou redução da transmissão, sendo os objetivos principais, o manejo dos problemas já existentes, tais como epidemias, alta morbidade e alta mortalidade; e a prevenção de epidemias e redução dos fatores de risco ambientais da transmissão. Para que isso ocorra, o controle efetivo desses vetores deve dispor de várias alternativas, adequadas à realidade local, que permitam sua execução de forma integrada e seletiva (BRAGA,1999). Definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS), esse controle seletivo do vetor deve ser considerado uma operacionalização do controle integrado, envolvendo a seleção de metodologias mais eficazes a serem utilizadas, com base na realidade local, e englobando a definição do local, através do levantamento das informações necessárias e decisão sobre o momento e a forma de sua implementação (ROSE, 2001).

Os componentes do controle desses vetores abrangem vigilância, manejo ambiental, controle biológico, controle químico com uso de inseticidas e repelentes, armadilhas e manejo da resistência a inseticidas (ROSE, 2001).

#### **3.2.1 Inseticidas químicos**

A presença dos inseticidas revolucionou a metodologia de controle de insetos vetores e doenças, possibilitando uma padronização. Desde o início do século XX, o desenvolvimento de inseticidas que permanecem ativos por longos períodos foi um dos mais importantes avanços no controle desses insetos.

A maioria dos inseticidas utilizados pertence aos grupos dos organoclorados, organofosforados e piretróides, tendo mecanismos de ação no sistema nervoso central dos insetos (BRAGA; VALLE, 2007).

Os organoclorados contêm carbono, hidrogênio e cloro; são classificados em quatro grupos difenil-alifáticos, hexaclorociclohexanos, ciclodienos e policloroterpenos (TSA, 2014). Eles atuam mantendo os canais de sódio aberto, desequilibrando a quantidade de íons de sódio e potássio nos axônios dos insetos, impedindo a transmissão de impulsos nervosos. Todavia, ao serem utilizados como controle de insetos, tiveram seu uso descontinuado e chegaram a ser proibidos em vários países devido a sua persistência no ambiente e ao acúmulo em tecidos do organismo de animais e de humanos.

Os organofosforados apresentam fósforo na sua composição, e foram descobertos após os organoclorados. São amplamente utilizados em Saúde Pública por apresentarem vantagens sobre os organoclorados, por serem mais biodegradáveis e não acumularem nos tecidos, porém apresentam instabilidade química, o que torna obrigatória a renovação periódica de sua aplicação, e são mais tóxicos para os vertebrados que os organoclorados, mesmo em doses mais baixas (WARE; WHITACRE, 2004). Esses inseticidas atuam inibindo a enzima acetilcolinesterase, resultando no acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas, o que impede a interrupção da propagação do impulso elétrico, conseqüentemente o sistema nervoso central continuará sendo estimulado, desencadeando o processo de paralisia que pode resultar com a morte do inseto (PAILAN *et al.*, 2015).

Os piretróides sintéticos são produzidos em laboratório a partir de uma substância natural, o piretro, extraído de crisântemos. São biodegradáveis, não possuem elevada bioacumulação, raramente provocam intoxicação em aves e mamíferos, e atuam mantendo aberto os canais de sódio das membranas dos neurônios, afetando o sistema nervoso periférico e central do inseto, estimulando descargas repetitivas nas células nervosas causando paralisia (BRAGA; VALLE, 2007; WHO, 2017).

Os inseticidas têm sido bastante utilizados, contudo seu uso contínuo vem provocando o aparecimento de populações resistentes e ocasionando problemas para o controle de vetores. Em virtude à crescente preocupação e ocorrência de seus efeitos adversos e o aumento da rigidez na legislação de alguns países quanto à presença de resíduos químicos no meio ambiente, torna-se de extrema necessidade o uso de novas estratégias de controle desses vetores. Tais fatores culminaram com o aumento de pesquisas sobre inseticidas naturais e biodegradáveis com o objetivo de diminuir o impacto ao ambiente. Desta forma, o controle biológico como a utilização de alguns extratos de plantas considerados bioinseticidas,

apresentam grande potencial de uso como alternativa ao uso de inseticidas convencionais (PONTUAL *et al.*, 2012).

### 3.2.2 Bioinseticidas

Bioinseticidas são produtos extraídos de plantas ou outras fontes naturais, em que seus compostos atuam como substâncias tóxicas ou repelentes contra insetos, são facilmente degradados e não poluem o meio ambiente.

As plantas produzem metabólitos primários e secundários que funcionam como uma defesa química contra a herbivoria, o que as tornam úteis para a produção de bioinseticidas. Estudos que abordam a descoberta de plantas com propriedade inseticida contribuem para valorização econômica dessas espécies, além do uso e conservação da biodiversidade. Além disso, contribuem com os programas de controle integrado de insetos de relevância epidemiológica (CORRÊA *et al.*, 2008; FERNANDES *et al.*, 2013).

### 3.3 Proteínas vegetais com potencial inseticida

No decorrer da evolução, as plantas desenvolveram diferentes mecanismos para reduzir o ataque dos insetos, por meio de respostas específicas que ativam diferentes vias metabólicas, alterando suas características químicas e físicas (MELLO *et al.*, 2002). A biodiversidade vegetal presente em diversos países resulta em uma variedade de fitocompostos que são usados para controlar vetores (KRISHNAPPA *et al.*, 2020). Substâncias com potencial inseticida são obtidas a partir de moagem de partes de plantas ou após a extração com solventes, sejam orgânicos ou aquosos (MARCIEL *et al.*, 2010). O uso dessas substâncias pode atuar inibindo a ação de insetos seja por inibir a alimentação, reduzir a ovoposição, por prejudicar o crescimento larval, ou por atrair predadores (MAZHAWIDZA *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Existem proteínas vegetais que são relacionadas à defesa, dentre elas as proteínas inativadoras de ribossomos (RIPs), os inibidores de  $\alpha$ -amilase, as lectinas e os inibidores de Protease. Essas proteínas são abundantes em órgãos de reserva como tubérculos e sementes (JABER *et al.*, 2010). As RIPs possuem ação inseticida através da inativação dos ribossomos comprometendo a síntese de proteína do organismo, causando imperfeição no desenvolvimento e culminando com a morte (TAMBURINO *et al.*, 2010; PIZZO *et al.*, 2015).

As lectinas são uma classe de proteínas de origem não imune que possuem menos de um domínio não catalítico capaz de se ligar, reversivelmente, a um mono ou oligossacarídeo específico (PEUMANS, VAN DAMME, 1995). Sua ação em insetos inclui a ligação de glicoconjugados que estão nas células do epitélio do trato digestório, que são expostas a essa substância e são, portanto, possíveis sítios de ligação das proteínas de defesa das plantas, fazendo com que o lúmen do intestino desses insetos fique revestidos por lectinas provocando efeito negativo aos insetos, como inibir o crescimento e conseqüentemente morte do inseto (VANDENBORRE *et al.*, 2011).

As  $\alpha$ -amilase são enzimas monoméricas que constituem uma família de endoamilases, que catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas de  $\alpha$ -1,4 do amido, glicogênio e outros carboidratos (FRANCO *et al.*, 2000). Os inibidores de  $\alpha$ -amilase e de proteases apresentam grande potencial devido reduzirem ou impedirem a atividade das enzimas digestivas dos insetos, causando destruição e redução do desenvolvimento larval (PUSZTAI *et al.*, 1990).

### 3.3.1 Inibidores de proteases

Inibidores de proteases são proteínas ou peptídeos capazes de interagir com enzimas proteolíticas e inibir suas atividades catalíticas (LINGARAJU; GOWDA, 2008). Essas moléculas possuem a função de proteínas de reservas, reguladores endógenos e principalmente de defesa contra microrganismos e insetos, sendo amplamente estudado como alternativa a inseticidas com aplicabilidade biotecnológica (CÂNDIDO *et al.*, 2011). Os inibidores de proteases de plantas (IP) são classificados de acordo com a classe de enzimas inibidas, homologia estrutural/sequencial, número e localização de pontes dissulfeto e sítio reativo em: inibidores de proteases serínicas, inibidores de proteases cisteínicas, inibidores de proteases aspárticas e inibidores de metaloproteases (MIGLIOLO, 2008).

Estudos mostram que os inibidores são importantes para os processos fisiológicos como neuro-secretórios, reprodução, desenvolvimento de ovários, ativação enzimática de diferentes cascatas enzimáticas envolvidas nos processos imunes e em particular com a via fenol oxidase (GUBB *et al.*, 2010).

A utilização desses inibidores contra insetos é pertinente, pois as proteases intestinais dos insetos são imprescindíveis aos processos de digestão e absorção de nutrientes (CHAPMAN, 2013). Conforme o alimento contendo o inibidor chega ao intestino dos insetos acontece a formação do complexo inibidor-proteases que desativa a ação catalítica das proteases para o processo digestivo, desse modo o resultado da inativação de proteases digestivas, afeta

diretamente a eficiência da conversão nutricional, reprimindo a massa corporal dos insetos, aumentando o tempo de desenvolvimento e muitas vezes levando à morte por déficit nutricional (MACEDO *et al.*, 2015).

Após a sua descoberta no século XIX até os dias de hoje, um conjunto de conhecimentos a respeito da estrutura e atividade biológica dos inibidores de protease foram somados. Ademais, são relatados que esses inibidores, como RcTI, purificado de *Ricinus communis* e o sLITi de sementes de *Leucaena leucocephala* podem interagir; e inibir as proteases, bem como retardar o desenvolvimento do *Ae. aegypti*, (DANTZGER *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2015; ALMEIDA-FILHO *et al.*, 2016).

Logo esse trabalho fará um apanhado do uso de inibidores de protease de plantas sobre o inseto vetor *Ae. aegypti*, estudados para o combate desse vetor.



## 4 METODOLOGIA

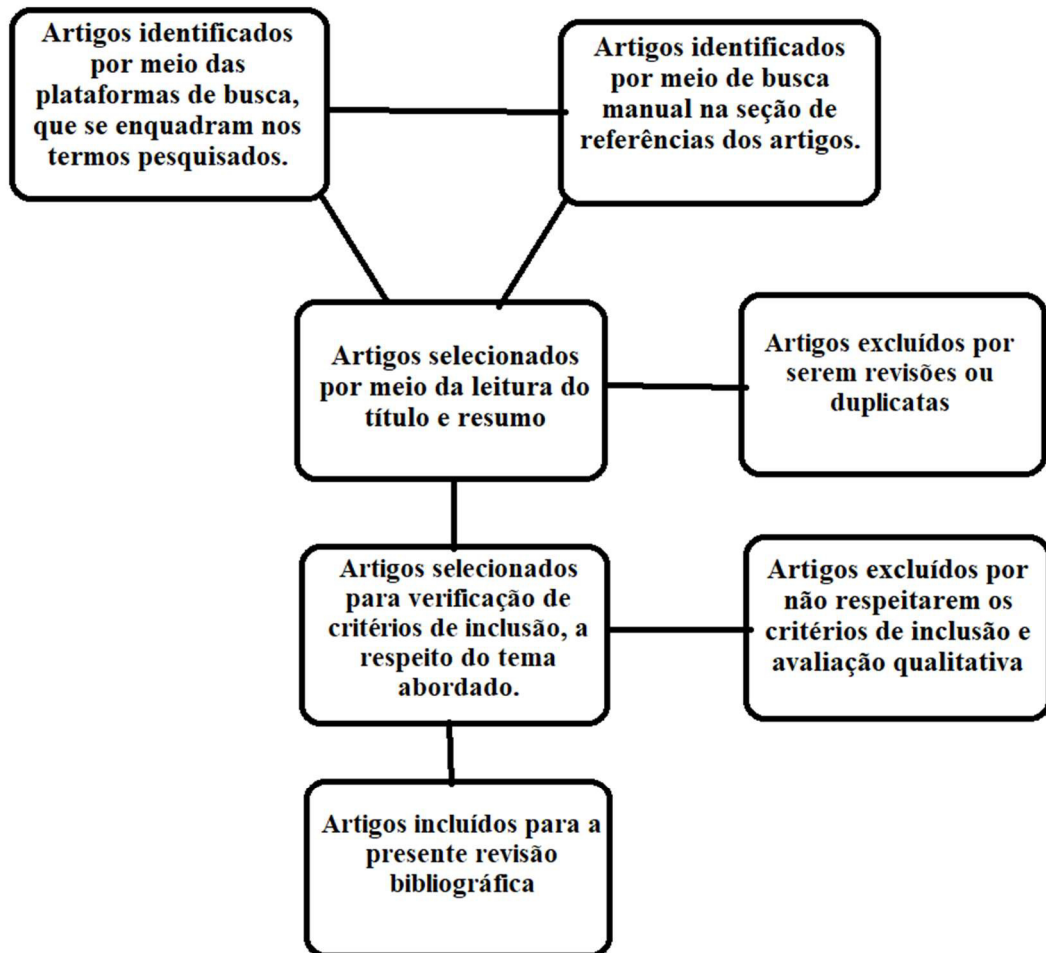
### 4.1 Plataformas de pesquisa, delineamento das palavras chaves e modos de busca

Para a realização deste trabalho foi desenvolvida uma pesquisa qualitativa, bibliográfica e exploratória. Segundo Huberman e Miles (1994), a pesquisa qualitativa se subdivide em três etapas: redução, exibição e conclusão. Na redução, ocorre a seleção e depois a simplificação dos dados coletados, os quais serão codificados em categorias; em seguida, na exibição, ocorre a organização dos dados selecionados para possibilitar uma análise sistemática, e finalmente, a conclusão que seria a revisão e verificação dos dados a serem abordados. Já a pesquisa exploratória deve ser realizada quando há pouco conhecimento sobre o assunto que será tratado e tem como intenção se familiarizar com o tema, e tem por objetivo verificar em que medida a obra consultada interessa à pesquisa (GIL, 2002).

Dessa forma, foi realizada uma busca por trabalhos científicos no período de 26 de abril a 6 de maio de 2022, em quatro plataformas de pesquisa, sendo estas: Pubmed, Portal de Periódicos Capes, ScienceDirect e Scielo com o objetivo de encontrar estudos sobre inibidores de proteases no combate ao mosquito *Ae. aegypti*, em um intervalo de tempo de 20 anos, entre os anos de 2002 a 2022 de publicação. Os termos, na língua inglesa, *Aedes aegypti* and protease inhibitor plants foram usados como palavras-chave durante as buscas.

Por último, foi realizada a análise do conteúdo referente ao tema aqui abordado, em que os mesmos foram classificados e selecionados por meio de uma metodologia mais ampla, pelo sistema PRISMA que em sua tradução quer dizer Principais Itens para Relatar Revisões Sistemáticas e Meta-análises, que constitui por um fluxograma que foi utilizado para coletar os trabalhos que abordaram a temática dessa pesquisa, baseando-se nos critérios de inclusão definidos, a fim de posteriormente analisar esses estudos e apresentar de maneira detalhada as informações a respeito da seleção, exclusão e inclusão dos artigos (MOHER *et al.*, 2015), assim como é possível visualizar no fluxograma na Figura 4, que explica como ocorreu o desenvolvimento dessa pesquisa qualitativa, bibliográfica e exploratória.

Figura 4 – Fluxograma explicando sobre o desenvolvimento dessa pesquisa qualitativa, bibliográfica e exploratória.



Fonte: Elaborado pela autora, baseado em MOHER *et al.* (2015).

## 4.2 Análise de dados

Os dados obtidos ao longo da pesquisa bibliográfica foram analisados e expressos por meio de gráficos e tabelas que foram realizadas utilizando o software Microsoft Excel 2016 e Microsoft Word 2016, que pertencem ao pacote Office 2016.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Visão geral dos resultados

Após o levantamento de dados nas quatro plataformas utilizadas Pubmed, Portal de Periódicos CAPES, Scielo e Science Direct, foram encontrados ao todo 347 trabalhos que abordam os termos pesquisados para essa pesquisa bibliográfica. Destaca-se que a menor quantidade de trabalhos encontrados foi obtida no Portal de Periódicos CAPES, com apenas 3 trabalhos encontrados, enquanto as maiores quantidades foram obtidas na plataforma ScienceDirect com 317 trabalhos encontrados (Tabela 1).

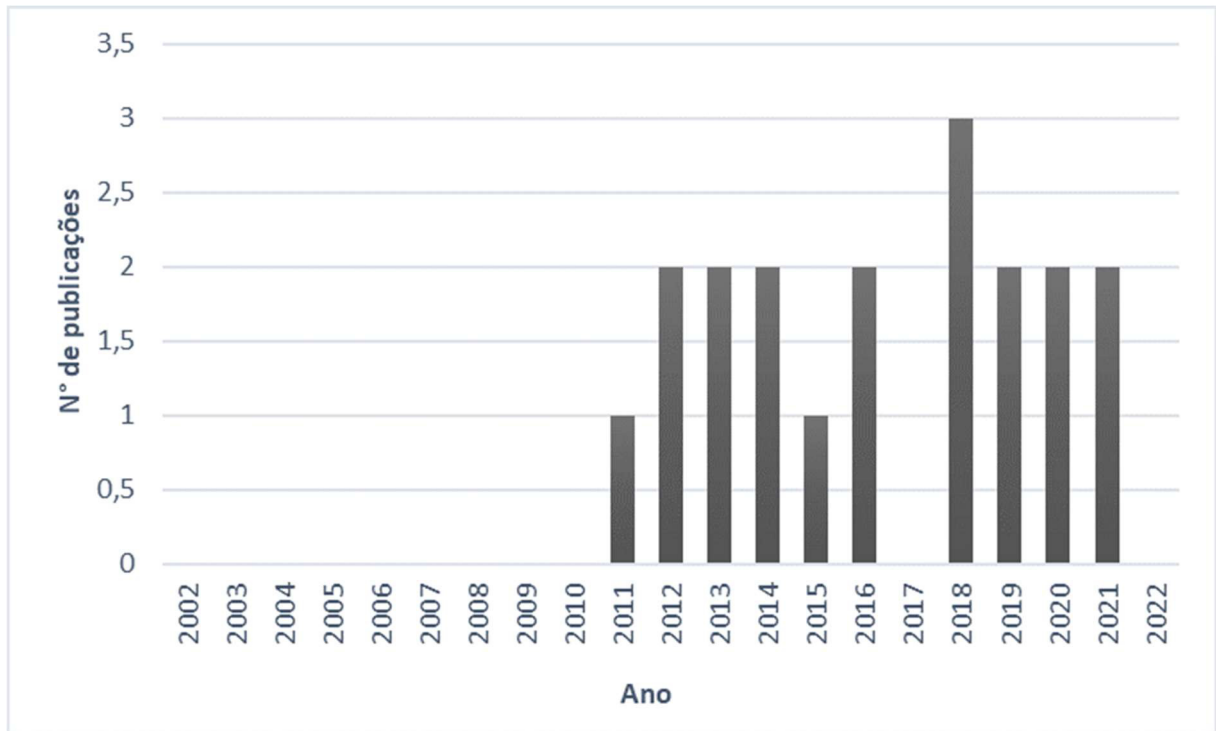
Tabela 1 – Trabalhos encontrados nas plataformas de pesquisa e o número de trabalhos incluídos.

<b>Plataforma de Pesquisa</b>	<b>Nº de trabalhos encontrados</b>	<b>Nº de trabalhos incluídos</b>
<b>Pubmed</b>	14	11
<b>Scielo</b>	11	3
<b>Portal de Periódicos CAPES</b>	3	1
<b>ScienceDirect</b>	317	4
<b>Total</b>	<b>347</b>	<b>19*</b>

\*Não representa o número real de trabalhos incluídos nesta revisão  
Fonte: Elaborado pela autora.

Os 19 trabalhos utilizados não representam o número real de trabalhos incluídos nesta revisão que foram publicados entre os anos de 2002 e 2022, com o número médio de publicações anuais de 0,95; o maior número de publicações ocorreu no ano de 2018 com três trabalhos publicados (Gráfico 1).

Gráfico 1- Número de trabalhos publicados por ano sobre inibidores de proteases contra o mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Elaborado pela autora

A primeira publicação encontrada sobre o tema foi de autoria de Napoleão e colaboradores, no ano de 2011, na qual o seu estudo sobre o efeito do inibidor de protease presente em *Myracrodruon urudeuva* em larvas de *Ae. aegypti*, enquanto o trabalho mais recente de Pereira-Filho e colaboradores, publicados no ano de 2020, em que estuda a atividade anti-complemento intestinal do *Ae. aegypti*, como uma nova forma de controlar esse vetor.

Dentre os estudos utilizados para a elaboração dessa revisão bibliográfica, a atividade larvicida dos inibidores de protease contra o *Aedes aegypti* foi a mais intensamente estudada, como pode ser observada na Tabela 2, uma vez que, todos os trabalhos avaliaram principalmente a atividade inseticida dos IPs contra as larvas do vetor.

Tabela 2 – Inibidores de Proteases estudados nos trabalhos incluídos.

Inibidor de Protease	Espécies	Concentração	Efeitos no <i>Aedes aegypti</i>	Referências
MuLL	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	8,0 – 14,0 mg/mL	Inibiu as enzimas digestivas, o que resultou em desequilíbrio metabólico, comprometendo o crescimento e levando a mortalidade das larvas.	Napoleão <i>et al.</i> , 2011
MoFTI	<i>Moringa oleifera</i>	13,0 e 17,0 mg/mL	Promoveu a mortalidade das larvas recém-eclodidas e a interrupção do seu desenvolvimento.	Pontual <i>et al.</i> , 2014
ApTI	<i>Adenanthera pavonina</i>	0,12 e 1 mg/mL	Diminuiu as atividades proteolíticas no intestino médio das larvas e influenciou na degeneração das microvilosidades das células do epitélio da região posterior do intestino médio.	Sasaki <i>et al.</i> , 2015
RcTI	<i>Ricinus communis L.</i>	0,1 mg/mL	Inibiu as proteases intestinais, em cerca de 91%, provocando a mortalidade das larvas.	Silva <i>et al.</i> , 2015
sLITi	<i>Leucaena leucocephala</i>	1 mg/mL	Inibiu a eclosão do ovo em 50% e retardou na mudança de estágio larval.	Almeida Filho <i>et al.</i> , 2016
CITI	<i>Cassia leiandra</i>	0,025 mg/mL 0,175 mg/mL	Inibiu as proteases presentes no intestino médio, retardou o desenvolvimento larval e aumentou a taxa de mortalidade.	Dias <i>et al.</i> , 2016
LsCTI	<i>Lonchocarpus sericeus</i>	0,3 mg/mL-1	Inibiu 60% das proteases intestinais, retardando o desenvolvimento causando alta mortalidade larval.	Almeida Filho <i>et al.</i> , 2017
alocasina	<i>Alocasia macrorrhizos</i>	0,15mg/mL – 0,6 mg/mL	Obteve um aumento da mortalidade das larvas com o aumento das concentrações do inibidor.	Vajravijaian <i>et al.</i> , 2018
CgTI	<i>Cassia grandis</i>	0,5- 2,5 mg/mL	Não apresentou qualquer alteração nas larvas	Brandão-Costa <i>et al.</i> , 2018
EcTI	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	200, 100, 50 e 25 $\mu$ g/mL-1	Inibiu o desenvolvimento larval sem afetar a eclodibilidade.	Tabosa <i>et al.</i> , 2020

Fonte: Elaborado pela autora.

## 5.2 Ação dos inibidores de proteases contra o *Aedes aegypti*

Os inibidores de protease vegetal estão presentes em tecidos de armazenamento como sementes, folhas, flores e frutos e tubérculos, onde funcionam como proteínas de armazenamento e reguladores endógenos da atividade proteolítica (GROSSE-HOLZ *et al.*, 2016). Esses inibidores são caracterizados como inibidores de serina, cisteína, aspártico e metaloproteinase, de acordo com suas proteases alvo (FAN *et al.*, 2005); eles também são agrupados em famílias de acordo com suas relações de sequência e propriedades estruturais (RICHARDSON, 2010; OLIVA *et al.*, 2016). A família de IPs do tipo Kunitz e Bowman-Birk são as mais estudadas e caracterizadas.

Em seu estudo Dias *et al.* (2016) pesquisaram a ação do inibidor de tripsina CITI, das sementes de *Cassia leiandra*, uma Fabaceae nativa da floresta amazônica, sobre as proteases do intestino médio do *Ae. aegypti* em seu desenvolvimento e na sobrevivência desse mosquito, em sua terceira fase larval. A maior parte dos IPs se liga às proteases intestinais de insetos em diferentes ordens (EL-LATIF, 2014).

O inibidor de tripsina CITI foi utilizado em concentrações de 0,025 mg/mL- 0,175 mg/mL, e observou-se que o mesmo não apresentou toxicidade no início larval, assim como relataram Brandão-Costa *et al.* (2018) em seu estudo com CgTI em que concentrações de 0,5-2,5 mg/mL não apresentaram qualquer toxicidade nesse estágio larval. No entanto o CITI retardou o desenvolvimento no 3º estágio larval e aumentou a taxa de mortalidade em 44,0%, no estudo de Dias *et al.* (2016), o que pode estar relacionado à diminuição da absorção de aminoácidos essenciais da dieta, resultando em fome e morte desse vetor (ZHU-SALZMAN *et al.*, 2015).

Outros IP mostraram efeito semelhante aos de CITI, como o ApTI, um inibidor de tripsina presente nas sementes de *Adenanthera pavonina*, uma Fabaceae originária do sudeste da Ásia e naturalizada no Brasil, utilizada no estudo de Sasaki *et al.* (2015). Além de reduzir a atividade proteolítica do *Ae. aegypti* do intestino médio, diminuiu o peso em 36,38% e a sobrevivência das larvas e, adicionalmente, as larvas alimentadas com dieta contendo ApTI mostraram degeneração das microvilosidades na região posterior das células epiteliais do intestino médio, hipertrofia das células cecais gástricas e aumento do espaço ectoperitrófico do *Aedes aegypti* (SASAKI *et al.*, 2015).

Pontual *et al.* (2014) buscaram analisar se o inibidor de tripsina MoFTI presente nas flores de *Moringa oleifera* interfere na sobrevivência e desenvolvimento de larvas de *Ae. aegypti*. Em seu estudo, estes autores investigaram o efeito do extrato de flores de *Moringa oleifera* sobre a eclosão de ovos, larvas recém eclodidas e pupas de *Ae. Aegypti*. Como resultado observaram que a taxa de eclosão foi significativamente reduzida quando ovos de *Ae. aegypti* foram incubados com o extrato em 8,5-17 mg/mL de concentração; em relação às larvas recém eclodidas exerceram baixa toxicidade, pois a taxa de mortalidade não ultrapassou 19,1%, mas deteve o seu desenvolvimento larval. Assim como mostrou o estudo de Silva *et al.* (2015), em que após a purificação do inibidor de proteases presente nas sementes de mamona *Ricinus communis L.*, o inibidor RcTI promoveu 91% de inibição das proteases intestinais de *Ae. aegypti*, nesse sentido, a mortalidade dessas larvas está ligada ao bloqueio de enzimas semelhantes à tripsina ou a outras proteases essenciais para a nutrição da larva, ou seja, os inibidores de tripsina presentes, exibem um resíduo de lisina em seu sítio reativo e enzimas semelhantes à tripsina de inseto hidrolisam ligações peptídicas envolvendo resíduos de arginina (LOPES *et al.*, 2004), devido a isso, permite que o sítio reativo do inibidor interaja com o sítio ativo da enzima, sem sofrer hidrólise, fazendo com que a ingestão de inibidores de tripsina levem ao bloqueio de enzimas digestivas, prejudicando a absorção de aminoácidos essenciais (PAIVA *et al.*, 2013).

Já nas pupas dos insetos, o extrato não causou qualquer alteração, não afetando sua sobrevivência. Isso ocorreu devido o *Ae. aegypti* precisamente nesse estágio não se alimentar (LUCAS; ROMOSER, 2001), assim o extrato com o inibidor não atingiu seus alvos de ação, além de que a ausência de alimentação leva a uma diminuição da atividade de tripsina entre as ecdises larva-pupa e pupa-adulto (YANG, DAVIES, 1971). Portanto o princípio larvicida do inibidor de tripsina presente no extrato da flor de *Moringa oleifera*, o MoFTI, é em larvas recém-eclodidas, sendo capaz de promover mortalidade e interrupção do desenvolvimento larval.

Tabosa *et al.* (2020) utilizaram o inibidor de protease (EcTI), encontrado em sementes de *Enterolobium contortisiliquum*, para analisar seu efeito no desenvolvimento do *Ae. aegypti*, em seus resultados o inibidor não apresentou toxicidade aguda nas larvas, no entanto sua atividade inibitória levou à investigação de sua capacidade de inibir proteases intestinais das larvas. Este foi capaz de inibir *in vitro* a atividade proteolítica no homogenato do intestino médio das larvas, tal como no estudo de Almeida Filho *et al.* (2016), no qual sLITi de *Leucaena leucocephala* inibiu 70% da atividade das proteases do intestino médio.

Portanto, ao analisar os estudos e artigos pesquisados para analisar a ação dos inibidores de protease presente em plantas contra o *Ae. aegypti*, entende-se que essas moléculas apresentam um grande potencial para seu uso no controle desse vetor.



## 6 CONCLUSÃO

A partir do levantamento bibliográfico foi verificado que os inibidores de proteases de plantas possuem potencial biotecnológico como agente alternativo para controlar o desenvolvimento larval de *Ae. aegypti*. Os inibidores de tripsina são os mais frequentemente estudados de acordo com o levantamento realizado por esse estudo, sendo eficazes devido sua ação larvicida, entretanto, mais estudos são necessários para o desenvolvimento de métodos corretos de uso desses inibidores no combate ao *Ae. aegypti*.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA FILHO, L. C. P.; TABOSA, P.M.S.; HISAB, D.C.; VASCONCELOS, I.M.; CARVALHO, A.F.U. A New Bowman-Birk inhibitor purified from *Lonchocarpus sericeus* seeds has insecticidal activity against *Aedes aegypti*. **Pest Management Science**. v.74, n.6, p.1362-1373, 2017.
- ALMEIDA FILHO, L.C.; DE SOUZA, T.M.; TABOSA, P.; SOARES, N.G.; ROCHA-BEZERRA, L.C. VASCONCELOS, I.M.; CARVALHO, A.F. Trypsin inhibitor from *Leucaena leucocephala* seeds delays and disrupts the development of *Aedes aegypti*, a multiple-disease vector. **Pest Management Science**. v.73, n.1, p.181-187, 2016.
- BALDACCHINO, F., CAPUTO, B., CHANDRE, F., DRAGO, A., DELLA TORRE, A., MONTARSI, F. AND RIZZOLI, A. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. **Pest Management Science**, v.71, n.11, p.1471-1485, 2015.
- BENNETT KE, OLSON KE, MUÑOZ MDE L. Variation in vector competence for Dengue virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. **Am J Trop Med Hyg**. v.67, n.1, p.85-92, 2002
- BISSET, J.A. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v.54, n.3. p.202-219.2002.
- BRASIL Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Saúde Brasil 2015/2016: uma análise da situação de saúde e da epidemia pelo vírus Zika e por outras doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*. 1ª edição. Brasília. 2018.
- BRAGA, I.A.; GALARDO, A.K.R. MACHADO FILHO, M.R. ZIMMERMAN, R.; BRAGA, I.L. Controle seletivo de vetores da Malária: guia para o nível municipal. Brasília: **Ministério da Saúde**; 1999.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.4, n.16, p.279-293, 2007.
- BRANDÃO-COSTA, R.M.P.; ARAÚJO, V.F.; PORTO, A.L.F. CgTI, a novel thermostable Kunitz trypsin-inhibitor purified from *Cassia grandis* seeds: Purification, characterization and termiticidal activity. **Int J Biol Macromol**. v.118, p.2296-2306, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue. **Brasília: Ministério da Saúde**, 2012.

CÂNDIDO, S. E.; PINTO, S. F. M. PELEGRINI, B. P.; LIMA, B. T.; SILVA, N. O.; POGUE, R.; GROSSI-DE-SÁ, F. M. FRANCO, L. O. Plant storage proteins with antimicrobial activity: novel insights into plant defense mechanisms. **FASEB J.** v. 25, p. 3290-3302. 2011.

CARVALHO, D. O. **Estudo de dispersão de machos da linhagem transgênica OX513A de *Aedes aegypti***. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

CHAPMAN, R. F. The insects: structure and function. 5ª Edição. **Cambridge University Press**, New York. v.9, p.521-542, 2013.

CORRÊA, P. G.; PIMENTEL, R. M. M.; CORTEZ, J. S. A.; XAVIER, H. S. Herbivoria e anatomia foliar em plantas tropicais brasileiras. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.60, n.3, p. 54-57, 2008.

DANTZGER, M. VASCONCELOS, I.M.; SCORSATO, V.; APARICIO, R.; MARANGONI, S.; MACEDO, M.L.R. Bowman–Birk protease inhibitor from *Clitoria fairchildiana* seeds: Isolation, biochemical properties and insecticidal potential. **Phytochemistry**, v.118, p.224-235, 2015.

DEGALLIER, N. SÁ FILHO, G.C. Os mosquitos (Díptera, Culicidae): generalidades Classificação e importância vetorial. Brasília: DF; 2000.

DIAS, L.P.; OLIVEIRA, J.T.; ROCHA-BEZERRA, L.C.B.; SOUSA, D.O.B.; COSTA, H.P.S.; ARAUJO, N.M.S.; CARVALHO, A.F.U.; TABOSA, P.M.S.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O.; WOLF, D.P.; MORENO, F.B.M.B.; ROCHA, B.A.M.; LOPES, J.L.S.; BELTRAMINI, L.M.; VASCONCELOS, M.L. A trypsin inhibitor purified from *Cassia leiandra* seeds has insecticidal activity Against *Aedes aegypti*. **Process Biochemistry**. v.57, p.228-238, 2016.

EL-LATIFF, A.O.A. In vivo and in vitro inhibition of *Spodoptera littoralis* gut-serine protease by protease inhibitors isolated from maize and sorghum seeds, **Pestic Biochem. Physiol.** v.116, p.40-48, 2014.

FAN, S.; WHU, G. Characteristics of plant proteinase inhibitors and their applications in combating phytophagous insects. **Bot.Bull.Acad.Sin.** v.46, p.273-292, 2005.

FERNANDES, D. R.; SANTOS, E. A.; ARAÚJO, A. F. D. V. A.; ZANNONI, C.; SARDINHA, A. H. L.; RODRIGUES, Z. M. R. Epidemiologia da dengue em São Luís, Maranhão, Brasil, 2000 a 2007. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v.20, n.2, 2013.

FRANCO, O.L.; RIGDEN, D.J., MELO, F.R.; BLOCH, C.Jr.; SILVA, C. P.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Activity of Wheat  $\alpha$ -Amylase Inhibitors Towards Bruchid  $\alpha$ -Amylase and Structural Explanation of Observed Specificities. **European Journal of Biochemistry**. Oxford, v.195. p.2166-2173, 2000.

GIL, A. C. Métodos e técnicas de pesquisa social. 6. ed. São Paulo: **Editora Atlas SA**, 2008.

GONÇALVES, C.M., MELO, F.F. et al. Distinct variation in vector competence among nine field populations of *Aedes aegypti* from a Brazilian dengue endemic risk city. **Parasites Vectors** v.7, p.320, 2014.

GOVINDARAJAN, M.; BENELLI, G. Eco-friendly larvicidas from Indian plants: Effectiveness of lavenderyl acetate and bicyclogermacrene on malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, USA, v. 133, p. 395-402, 2016.

GROSSE-HOLZ, F.M.; HOORN, R.A.V. Juggling Jobs: roles and mechanisms of multifunctional protease inhibitors in plants. **New Patrol**. v.210, p.794-807, 2016.

GUBB, DAVID. SANZ-PARRA, ARANTZA. BARCENA, LAURA. TROXLER, LAURENT. FULLAONDO, ANE. Protease inhibitors and proteolytic signalling cascades in insects. **Biochimie** v.92 p.1749-1759, 2010.

GULLEY, MELISSA M. ZHANG, XIN and MICHEL, KRISTIN. The roles of serpins in mosquito immunology and physiology. **Journal of Insect Physiology**. v.59. p.138-147, 2013.

GUBLER, D. J. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n.5, p. 319-330, 2004.

JABER, K.; HAUBRUGE, E.; FRANCIS, F. Development of entomotoxic molecules as control agents: illustration of some protein potential uses and limits of lectins. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ**. v.14, n.1, p. 225-241, 2010.

KANTOR, I. Dengue, Zika and Chikungunya. **Medicina** (Buenos Aires), v.76, n.2, p.93-97, 2016.

KRAEMER, M.; SINKA, M.; DUDA, K.; MYLNE, A.; SHEARER, F.; BARKER, C.; MOORE, C.; CARVALHO, R.; COELHO, G.; BORTEL, W.; HENDRICKX, G.; SCHAFFNER, F.; ELYAZAR, I.; TENG, H.; BRADY, O.; MESSINA, J.; PIGOTT, D.; SCOTT, T.; SMITH, D.; WINT, GR.; GOLDING, N.; HAY, S. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. **eLife Sciences**, v.4, p.1-18, 2015.

KRISHNAPPA, K., et al., Larvicidal and repellent effects of *Jussiaea repens* (L.) leaf ethanol extract and its major phytoconstituent against important human vector mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Environ. Sci. Pollut. Res.** v.27, p-23054–23061, 2020.

KURANE I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. **Comp Immunol Microbiol InfectDis.** v.30, p. 329-40, 2007.

LIMA-CAMARA, T.N. Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 50, n. 36, p. 1-7, 2016.

LINGARAJU, M. H.; GOWDA, L. R. A. Kunitz trypsin inhibitor of *Entada scandens* seeds: Another member with single disulfide bridge. **Biochimica et Biophysica Acta**, n. 1784, v. 5, p. 850–855. 2008.

LOZOVEI, A.L.; MARCONDES, C.B.; Culicídeos (mosquitos). **Entomologia médica e veterinária**. 1ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001.

LOPES, A.R.; JULIANO, M.A.; JULIANO, L.; TERRA, W.R. Coevolution of insect trypsins and inhibitors, **Arch Insect Biochem Physiol.** v.55, p.140-152, 2004.

LUCAS, E.A.; ROMOSER, W.R. The energetic costs of diving *Aedes aegypti* na *Aedes albopictus* pupae. **J Am Mosq Control Assoc.** v.17, p.56-60, 2001.

MARCIEL, M. V. *et al.* Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Rev. bras. plantas med.** v.12, n.1, Botucatu, 2010.

MAZHAWIDZA, E., MVUMI, B. M. Field evaluation of aqueous indigenous plant extracts against the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. and the rape aphid, *Brevicoryne brassicae* L. in brassica production. **Ind. Crops Prod.** v.110, p. 36–44, 2017.

MACEDO, M. L. R.; OLIVEIRA, C. F. R.; COSTA, P. M.; CASTELHANO, E. C.; SILVA-FILHO, M. C. Adaptive mechanisms of insect pests Against plant protease inhibitors and future prospects related to crop protection. **Protein Pept Lett.** v. 22, p. 149-163, 2015.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-Insect Intections: na Evolutionary Arms Race Between two Distinct Defense Mechanisms. **Brazilizn Journal of Plant Physiology**. Londrina, v. 14, p. 71-81, 2002.

MOHER, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN, D.G. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses. **Epidemiol. Serv. Saúde**. v.24, n.2, p.335-342, 2015.

MULENGA, A.; KIM, T. and IBELLI, A. M. G. Amblyomma americanum tick saliva serine protease inhibitor is a cross-class inhibitor of serine proteases and papain-like cysteine proteases that delays plasma clotting and inhibits platelet aggregation. **Insect Molecular Biology**. v.22, n.3, p.306-319, 2013.

MUSTAFA, M.S.; RASOTGI, V.; JAIN, S.; GUPTA, V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 71, n.1, p.67-70, 2015.

NAPOLEÃO, T. H., PONTUAL, E. V., ALBURQUERQUE, L. T., DE LIMA S., N. D., SÁ, R. A., COELHO, L. C., AMARAL, F. N., D. M. Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. **Parasitology research** v. 110, n.2, p.609-616, 2011.

NORMAN, G. G. Emerging and resurging vector-borne diseases. 44. ed. **Ver. Entomol.** p.51-75, 1999.

NICOLETTI, M. Three scenarios in insect-borne diseases. **Insect-Borne Diseases in the 21st Century** p.99-105, 2020.

NELSON, M.J. *Aedes aegypti*: biologia y ecologia. Washington, DC, **Organización Panamericana de la Salud**, 1986.

NEVES, D.P. et al. **Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu. p. 494, 2005.

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

OLIVEIRA, A. P. S.; AGRA-NETO, A. C.; PONTUAL, E. V. LIMA, T. A.; CRUZ, K. C. V.; MELO, K. R.; OLIVEIRA, A. S.; COELHO, L. C. B. B.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L. NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G. Evaluation of the insecticidal activity of *Moringa oleifera* seed extract and lectin (WSMoL) against *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**. v.87, p. 101-615, 2020.

OLIVA, M.L.; SILVA, M.C.C.; SALLAI, R.C.; BRITO, M.V.; SAMPAIO, M.U. A novel subclassification for Kunitz proteinase inhibitors from leguminous seeds, **Biochimie**. v.92, p.1667-1673, 2010.

PAILAN, S., GUPTA, D., APTE, S., KRISHNAMURTHI, S., SAHA, P. Degradation of organophosphate insecticide by a novel *Bacillus aryabhatai* strain SanPS1, isolated from soil of agricultural field in Burdwan, West Bengal, India. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.103, p.191-195, 2015.

PAIVA, P.M.G.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; COELHO, L.C.B.B. Lectins and trypsin inhibitors from plants: biochemical characteristics and adverse effect on insect larvae. **Nova Science**, New York, p.52, 2013.

PEREIRA-FILHO, A.A.; PEREIRA, R.H.M.; SILVA, N.; MALTA, F.L.G.; SERRAVITE, A.M.; ALMEIDA, C.C.G.; FUJIWARA, R.T. BARTHOLOMEU, D.C.; GIUNCHETTI, R.C.; PESSOA, D.G.C.; KOERICH, L.B.; PEREIRA, M.H.; ARAUJO, R.N.; GONTIJO, N.F.; VIANA, S.M.R. The gut anti-complement activity of *Aedes aegypti*: Investigating new ways to control the major human arboviruses vector in the Americas. **Insect biochemistry and molecular biology**, v.120, p.103-338, 2020.

PIZZO, E., ZANFARDINO, A., DI GIUSEPPE, A., BOSSO, A., LANDI, N., RAGUCCI, S., VARCAMONTI, M., NOTOMISTA, E., DI MARO, A. A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating protein of *Phytolacca dioica* L.: A new function of RIPs for plant defence? **FEBS Letters**, v.5, p.2812-2818, 2015.

PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; DIAS DE ASSIS, C. R.; DE SOUZA BEZERRA, R.; XAVIER, H. S.; NAVARRO, D. M.; COELHO, L. C.; PAIVA, P. M. Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**. v.79, n.3, p.135-152, 2012.

PONTUAL, E. V.; LIMA SANTOS N.D.; MOURA, M.C.; COELHO, L.C.; AMARAL FERRAZ, N.D.M.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M. Trypsin Inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut. **Parasitology research**. v.113, n.2, 2014.

PUSZTAI, A. EWEN, S. W. B.; GRANT, G; PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M.; RUBIO, L.; BARDOCZ, S. The Relationship Between Survival and Binding of Plant Lectins During Small Intestine Passage and their Effectiveness as Growth Factors, Digestion, **Basel**, v.46, p.308-316, 1990.

REY, L. Bases da Parasitologia Médica. 4ª edição. São Paulo: **Guanabara Koogan**, p.410, 2011.

RICHARDSON, M. Seeds storage proteins: the enzyme inhibitor in: D.P.S. Verma, T.H.Hohn. Methods in Plant Biochemistry. **Academic Press**, New York, 1991.

ROSE, R.I. Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management. **Emerging Infectious Diseases** v.7, p.17-23, 2001.

ROCHA, D. R.; PAIVA, M. H. S.; SILVA, N. M.; ARAÚJO, A. P.; CAMACHO, D. R. R. A.; MOURA, A. J. F.; GÓMEZ, L. F.; AYRESA, C. F. J.; SANTOS, M. A. V. M. Susceptibility profile of *Aedes aegypti* from Santiago Island, Cabo Verde, to insecticides. **Acta Tropica**, Miami (USA), v.152, p.66-73, 2015.

SANTOS, V. S. V.; CUNHA, J. R., SILVA, P. H. S. Atividade ovicida e repelente de pó de citronela sobre o caruncho do feijão-caupi. **Rev Verde Agroecol Desenv Sust.** v.13, p.146-149, 2018.

SASAKI, D.Y.; JACOBOWSKI, A.C.; SOUZA, A.P.; CARDOSO, M.H.; FRANCO, O.L.; MACEDO, M.L.R. Effects of proteinase inhibitor from *Adenanthera pavonina* seeds nos short-and long term larval development of *Aedes aegypti*. **Biochimie.** v.112, p.172-186, 2015.

SILVA, R.G.G.; VASCONCELOS, I.M.; ACRÍSIO FILHO, J.U.B.; CARVALHO, A.F.U.; SOUZA, T.M.; GONDIM, D.M.F.; VARELA, A.L.N.; OLIVEIRA, J.T.A. Castor bean cake contains a trypsin inhibitor that displays antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides* and inhibits the midgut proteases of the dengue mosquito larvae. **Industrial Crops and Products**, v.70, p.48-55, 2015.

TAMBURINO, R., PIZZO, E., DI MARO, A., TEDESCHI, F., FICCA, A. G., POERIO, E. High cytotoxic activity of a bifunctional chimeric protein containing a ribosome inactivating protein (RIP) and a serine protease inhibitor (WSCI). **Journal of Biotechnology**, v.150, p.498, 2010.

TABOSA, P.M.M.; ALMEIDA-FILHO, L.C.P; FRANCA, R.X.; ROCHA-BEZERRA, L.C.B.; VASCONCELOS, I.M.; CARVALHO, A.F.U. Trypsin inhibitor from *Enterolobium contortisiliquum* seeds impairs *Aedes aegypti* development and enhances the activity of *Bacillus thuringiensis* toxins. **Pest Manag Sci.** v.76, n.11 p,3693-3701, 2020.

TSAI, W. T. Organochlorine insecticides. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), v.3, p 301–302, 2014.



VALLE, D.; PIMENTA, D.N.; CUNHA, R.V. *Dengue: teorias e práticas*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. p.450, 2015.

VANDENBORRE, G.; SMAGGHE, G.; VAN DAMME, E. J. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. **Phytochemistry**, v.72, p.1538-1550, 2011.

VAJRAVIJAYAN, S.; PLETNEV, S.; PLETNEV, V.Z.; NANDHAGOPAL, N.; GUNASEKARAN, K. Crystal structure of a novel Kunitz type inhibitor, allocasin with anti-*Aedes aegypti* activity targeting midgut proteases. **Pest Manag Sci.** v.74, n.12, p.2761-2772, 2018.

WARE, G.W.; WHITACRE, D.M. *An Introduction to Insecticides*. 4th Willoughby, Ohio: MeisterPro **Information Resources**, p. 225-247, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Dengue: Guidelines for treatment, prevention and control*. Geneva: Department Of Control Of Neglected **Tropical Diseases**, p. 270, 2016.

YANG, Y.J.; DAVIES, D.M. Tripsin and chymotrypsin during metamorphosis in *Aedes aegypti* and properties of the chymotrypsin. **J Insect Physiol.** v.17, p.117-131, 1971.

ZHUM-SALZMAN, K.; ZENG, R. Insect response to plant defensive proteases inhibitors, *Annu. Rev. Entomol.* v. 60, p.233-252, 2015.