

INIBIDORES DE PROTEINASES VEGETAIS: AVANÇOS E PERSPECTIVAS

Data de submissão: 09/05/2023

Data de aceite: 03/07/2023

Luís Antônio de Souza Junior

Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Três Lagoas – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/0502347298944221>

Luzia Aparecida Pando

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Jequié - Bahia
<http://lattes.cnpq.br/9815065840455790>

Silvana Cristina Pando

Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Três Lagoas – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/2557613056024752>

RESUMO: Os inibidores de proteinases vegetais (IPs) são definidos como proteínas reguladoras com ampla distribuição em diferentes tecidos de várias espécies vegetais, que reduzem competitivamente e reversivelmente a atividade de proteinases alvo. Essas proteínas apresentam pontes dissulfeto e são resistentes a variações de pH, temperatura e proteólise. Devido a essas características físico-químicas, tem sido crescente os estudos sobre as propriedades antimicrobiana, anticoagulante e antitumoral

desses inibidores de proteinases vegetais, evidenciando a relevância dessas proteínas na agricultura, biotecnologia e medicina. As plataformas usadas como base para a pesquisa foram: BVS, Scielo e PubMed, com os descritores: *inibidor de tripsina vegetal, serino proteinase, atividade anticoagulante, atividade inseticida e atividade antimicrobiana*, filtrados em artigos disponíveis no período de 2017 a 2022, em que, dos 31 artigos encontrados, 3 apresentaram atividade anticoagulante, 7 descreveram a atividade inseticida e 14 apresentaram atividade antimicrobiana e antifúngica dos inibidores vegetais. Os 7 artigos que tratavam de pesquisas com enfoques não pretendidos para essa análise foram descartados. Os inibidores, em sua maioria, foram isolados de sementes de espécies leguminosas. Pelas análises, foi possível destacar a importância das pesquisas com os inibidores vegetais, visando a caracterização de novos inibidores de fontes naturais capazes de modular a atividade biológica de proteinases para o controle de patógenos e como agentes anticoagulantes e antitrombóticos.

PALAVRAS-CHAVE: Serino proteinase; inibidor; patógeno; coagulação sanguínea; planta.

PLANT PROTEINASE INHIBITORS: ADVANCES AND PROSPECTS

ABSTRACT: Plant proteinase inhibitors (PIs) are defined as regulatory proteins with wide distribution in different tissues of several plant species, which competitively and reversibly reduce the activity of target proteinases. These proteins have disulfide bridges and are resistant to variations in pH, temperature and proteolysis. Due to these physico-chemical characteristics, studies have been increasing on antimicrobial, anticoagulant and antitumor properties of plant proteinase inhibitors, evidencing the relevance of these proteins in agriculture, biotechnology and medicine. The platforms used as the basis for the research were: BVS, Scielo and PubMed, with the keywords: plant trypsin inhibitor, serine proteinase, anticoagulant activity, insecticidal activity e antimicrobial activity, filtered in articles available in the period from 2017 to 2022, in which, of the 31 articles found, 3 showed activity anticoagulant, 7 showed insecticidal activity and 14 showed antimicrobial and antifungal activity of the plant inhibitors. The 7 articles dealing with research with approaches not intended for this analysis were discarded. Most inhibitors were isolated from seeds of leguminous species. From the analyses, it was possible to highlight the importance of research with plant inhibitors, seeking to characterize new inhibitors from natural sources capable of modulating the biological activity of proteinases for the control of pathogens and as anticoagulant and antithrombotic agents.

KEYWORDS: Serine proteinase; inhibitor; pathogen; blood coagulation; plant.

INTRODUÇÃO

Os inibidores de proteinases (IPs) são proteínas ou peptídios com potencial de interação com proteinases endógenas de animais, microrganismos e de plantas, onde ocorrem, inibindo competitivamente e reversivelmente a atividade enzimática (serino, cisteino, aspártico e metaloproteinase), formando complexo 1:1 ou 1:2. Os estudos pioneiros com sementes de soja, aumentaram o interesse pelos inibidores de proteinases, que se intensificaram no isolamento dessas proteínas em outras espécies leguminosas e demais famílias. Estes inibidores são classificados em diferentes famílias de acordo com a massa molecular, número de pontes dissulfeto, homologia na estrutura primária e homologia na sequência de seus domínios inibitórios, sendo os inibidores mais estudados pertencentes às famílias do tipo Kunitz e Bowman-Birk (Gitlin-Domagalska, *et al.*, 2020). Os inibidores do tipo Kunitz são constituídos por um ou mais de um domínio inibitório. Sua massa molecular varia de 18 a 24 kDa, embora algumas proteínas dessa classe tenham apresentado massa molecular de aproximadamente 8 kDa. Dentre as serino proteinases inibidas, destacam-se: tripsina, quimotripsina, elastase, calicreína, FXIa, FXIIa. Os inibidores desse grupo atuam como reguladores de importantes processos fisiológicos como a digestão, coagulação sanguínea e fibrinólise com ênfase para os estudos sobre seus efeitos antinutricionais no controle de insetos-praga, bactérias e fungos. Os inibidores do tipo Bowman-Birk (BBI) são proteínas com menor massa molecular, variando entre 5 a 16 kDa, com único ou duplo domínio inibitório e a expressão desses inibidores é elevada mediante danos. O menor inibidor BBI descrito apresentou 14 resíduos de aminoácidos. A maioria das moléculas

descritas apresenta sete pontes dissulfeto para estabilizar a sua estrutura. Dentre as serino proteinases inibidas, destacam-se: tripsina, quimotripsina, elastase (Pandey *et al.*, 2021).

O alvo dos inibidores são as proteinases, enzimas essenciais para a regulação de processos vitais em todos os organismos vivos, atuando na regulação de processos fisiológicos específicos como a ativação de zimogênios, liberação de peptídeos biologicamente ativos, liberação de hormônios precursores, reaproveitamento de aminoácidos (“*turnover*” de proteínas), na ativação ou translocação através da membrana e na coagulação sanguínea (Gitlin-Domagalska, *et al.*, 2020).

Os IPs estão presentes em bactérias, fungos, plantas e humanos. Em plantas, tem sido demonstrado que os inibidores podem ocorrer em raízes, folhas, sementes, caules, tubérculos e sementes, destacando o seu papel na defesa da planta contra insetos, pragas e microrganismos patogênicos. Os níveis dessas proteínas são elevados em resposta a diferentes condições de estresse, como injúria por ataque de insetos e patógenos e devido a parâmetros ambientais (salinidade, metais pesados e temperatura). No entanto, estudos recentes demonstraram também que existem interações entre planta e inibidor de proteinase, em decorrência do efeito alelopático em resposta a estresses abióticos (Pandey *et al.*, 2021).

Nos últimos 20 anos, os IPs têm atraído a atenção de vários grupos para as pesquisas com plantas transgênicas, uma vez que os IPs estão envolvidos diretamente na defesa da planta contra o ataque de insetos e outros patógenos (Filho *et al.*, 2017). Além disso, é crescente o interesse dos estudos sobre a aplicação biotecnológica dos IPs na inibição de enzimas humanas, incluindo não somente as enzimas digestivas (tripsina e quimotripsina), mas também sobre as enzimas que atuam na cascata de coagulação sanguínea (FXIa, FXIIa, calicreína plasmática) e na fibrinólise (plasmina), além de seu potencial efeito anti-inflamatório, demonstrado por Soualmia & El Amri (2018).

O objetivo geral do trabalho foi realizar pesquisa bibliográfica sobre os avanços e perspectivas dos inibidores de proteinases vegetais nos últimos cinco anos.

METODOLOGIA

Para o presente trabalho foi realizada a pesquisa bibliográfica como forma de coleta de dados. Para o levantamento dos dados foram consideradas as bases: Scielo, PubMed (NCBI) e Biblioteca Virtual da Saúde (BVS), sendo obtidos 24 artigos de interesse para esse estudo, publicados nos últimos cinco anos, o que corresponde ao período de 2017 a 2022, incluindo duas publicações de 2023, disponibilizadas para acesso *on line*. Os artigos foram localizados com os seguintes descritores: *plant trypsin inhibitor*, *serine proteinase*, *anticoagulant activity*, *insecticidal activity* e *antimicrobial activity*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os inibidores de proteinases (IPs) são resistentes a variações de pH e temperatura, apresentando propriedades biotecnológicas como agentes promissores para aplicação em diferentes áreas. Podemos citar o seu potencial inseticida na agricultura, no desenvolvimento de fármacos bioativos na medicina e a sua ação antimicrobiana na aplicação biotecnológica. No âmbito da medicina, temos que os inibidores proteolíticos têm sido investigados pela sua diversidade estrutural e pelo mecanismo específico que revela a atividade biológica dessas proteínas ou peptídeos. De fato, ao analisar os artigos selecionados para a revisão, foi possível notar o crescente interesse pela demonstração do papel dos IPs como agentes antitrombóticos, anticoagulantes e sua atividade antimicrobiana, obtidos a partir sementes, especialmente de espécies leguminosas (Hamad *et al.*, 2017; Gogoi *et al.*, 2019; Cotabarren *et al.*, 2020).

Na base Scielo, foram considerados dois artigos, em que os autores isolaram um inibidor bifuncional de tripsina/alfa-amilase a partir do milho (*Zea mays* - Gramineae) e um novo inibidor termoestável de sementes da espécie *Geoffroea decorticans* (GdTI-Fabaceae). O inibidor bifuncional atuou inibindo seletivamente os fatores da cascata de coagulação sanguínea - FXIa e FXIIa. Já o inibidor GdTI prolongou a via intrínseca da cascata de coagulação. Em ambos estudos os inibidores foram considerados moléculas promissoras para o desenvolvimento de droga antitrombótica e anticoagulante. O processo de obtenção desses produtos naturais envolve procedimentos relativamente simples e com um custo menor do que os obtidos por processos de síntese química (Hamad *et al.* 2017; Cotabarren *et al.*, 2020).

Dentro da base de dados BVS foram encontrados 7 artigos, em que 5 descreveram dados sobre inibidores de proteinases isolados da família Fabaceae e 2 destacaram inibidores isolados de outras famílias (Solanaceae e Araceae). Entre os IPs caracterizados, três apresentaram atividade *in vitro* contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), sendo dois pertencentes à família Fabaceae e obtidos a partir de sementes: o EcTI (*Enterolobium contortisiliquum* trypsin inhibitor), e o LsCTI (*Lonchocarpus sericeus* trypsin-chymotrypsin inhibitor) e um pertencente à família Araceae, designado alocasin, obtido a partir de rizoma maduro de *Alocasia macrorrhizos* (L.), com estudos *in vitro* e *in vivo*. Cabe destacar que, além de seu efeito, o EcTI também aumentou a atividade da toxina de *Bacillus thuringiensis*, o mais conhecido bioinseticida obtido a partir da bactéria Gram positiva com atividade entomopatogênica (Vajravijayan *et al.*, 2018; Tabosa *et al.* 2020). Os inibidores EcTI e alocasin, apresentaram massa molecular aparente de 20 KDa e homologia com outros inibidores do tipo Kunitz. Já LsCTI é um representante da família Bowman-Birk, com massa molecular de 8870.45 Da em SDS-PAGE e foi destacado como uma ferramenta em potencial para o controle de *A. aegypti*, uma vez que causou alta mortalidade das larvas (77%) e resultou em atraso do desenvolvimento em 37% (Almeida Filho *et al.*, 2018).

Além disso, Ferreira *et al.* (2019), descreveram a atividade inseticida de dois inibidores tipo Kunitz, recombinantes isolados de sementes de *Bauhinia bauhinioides* (Fabaceae), o rBbKI (kallikrein inibitor) e rBbCI (cruzipain inibitor), esse último com atividade também para inibir cisteíno proteinase.

Na mesma base de busca (BVS) encontrou-se o inibidor isolado de *Solanum tuberosum* (L.), designado (oPTI), com massa molecular de 12 KDa, onde este chama atenção pelo fato de ter demonstrado efeito inibitório contra 11 linhagens de microrganismos: *Acinetobacter* sp., *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus stearothermophilus*, *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica* (Cisneros *et al.*, 2020).

Ademais, dos inibidores isolados da família Fabaceae, LfTI (*Libidibia ferrea trypsin inhibitor*) apresentou efeito inibitório sobre a via intrínseca da coagulação sanguínea e mostrou efeitos anti-inflamatório e antinociceptivo, possivelmente relacionado com a inibição de proteinases inflamatórias e/ou dificultando a ativação de receptores ativados por proteinases. As propriedades anti-inflamatórias de *L. ferrea* foram confirmadas por seu caule, extratos de frutas, folhas, cascas e sementes, porém pouco se sabe sobre os compostos naturais que podem estar associados a essa resposta (Carvalho *et al.*, 2023). O inibidor TTI (tamarindo *trypsin inhibitor*), é uma proteína com peso molecular de 20 KDa que apresentou peptídeos com atividade antimicrobiana (Oliveira *et al.*, 2022). Mohan *et al.* (2018) isolaram um inibidor de tripsina de sementes de *Macrotyloma uniflorum*, designado como MUPI com ação antifúngica e antimicrobiana. Outro inibidor de tripsina Kunitz, com atividade contra três espécies de *Candida*, foi isolado de sementes de *Enterolobium timbouva* (EtTI), o qual promoveu o desencadeamento de distúrbios na integridade da membrana plasmática e alterações morfológicas sucessivas, eventualmente mediadas por apoptose.

Na base de dados PubMed (NCBI), foram obtidos 15 artigos destacando inibidores Kunitz e Bowman-Birk, com atividades anticoagulante (2), inseticida (3) e antimicrobiana (10). Orfali *et al.* (2020), demonstraram atividade inseticida de inibidores de proteinases contra o inseto *Rhynchophorus ferrugineus*. Os estudos sobre a atividade inseticida dos IPs têm impacto econômico, ambiental e social em todo o mundo. Ainda sobre a atividade inseticida dos IPs, cabe destacar os estudos de Sallai *et al.* (2020), que testaram a atividade inseticida do inibidor de cisteíno proteinase (AaCI-2S), presente em sementes de *Araucaria angustifolia*, contra *C. maculatus*, um inseto coleóptero. Segundo os autores, AaCI-2S, pode ser qualificado como uma proteína com propriedade inseticida natural. Segundo Pandey *et al.* (2021), os IPs são metabólitos naturais que defendem a planta contra o ataque de insetos e patógenos e são caracterizados como metabólitos de defesa estáveis há pelo menos quatro décadas. Os autores destacaram sobre a capacidade de resistência da planta contra o efeito antinutricional dos inibidores, em uma relação de veto proteico pelos inibidores das vias metabólicas da própria planta. Ferreira *et al.* (2019), demonstraram o efeito de dois inibidores de *Bauhinia bauhinioides* com diferentes especificidades para

enzimas intestinais de *Nasutitermes corniger* (order: Isoptera; family: Termitidae), em que este cupim assola a estrutura de residências ao consumir a madeira das edificações e mobiliários internos. Com relação à atividade antimicrobiana, foram encontrados no PubMed os seguintes dados mais relevantes: o inibidor de proteinase isolado de *Conyza dioscoridis* mostrou-se eficaz, inibindo o crescimento de bactérias Gram + e Gram -, e a tendência de atividade foi a seguinte (da menor concentração do extrato para a maior): *E. faecalis* (14 µg/mL) > *Salmonella entérica* (14,8 µg/mL) > *Klebsiella pneumoniae* (17,3 µg/mL) > *B. cereus* (19 µg/mL) e *S. epidermidis* (20 µg/mL). (Karray *et al.*, 2020).

O inibidor LfT1, isolado de sementes de *Libidibia ferrea*, não apresentou efeito inibitório no crescimento dos patógenos bacterianos Gram positivos e Gram negativos testados: *Staphylococcus aureus* (+), *Streptococcus agalactiae* (+), *Escherichia coli* (-) e *Klebsiella pneumoniae* (-). Ademais, a espécie *Candida albicans*, também testada, não teve efeito inibitório na presença do inibidor. (Rosseneger *et al.*, 2017).

A maioria dos inibidores testados contra atividade antimicrobiana são específicos para serino proteinases e foram isolados das famílias Solanaceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Poaceae e Cucurbitaceae. Com base nesse estudo podemos incluir a família Rhamnaceae (Bacha *et al.*, 2017), em que os autores selecionaram cascas, frutas, folhas, raízes e sementes para isolar o inibidor de tripsina tipo Kunitz (RfIP1), o qual apresentou atividade inibitória mais expressiva contra bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus* do que Gram negativas. Os demais artigos encontrados também apresentaram estudos sobre o efeito de outros inibidores de tripsina e quimotripsina, sendo a maioria tipo Kunitz, contra bactérias Gram positivas e negativas e também com atividade contra fungos patogênicos e fitopatogênicos. (Nabi *et al.*, 2018)

Após a análise das publicações nas três bases de dados (SciELO, PubMed, BVS) e no período proposto para esse trabalho, foi possível agrupar os principais enfoques destacados na literatura sobre os estudos de atividade biológica dos inibidores de proteinases, especialmente, Kunitz e Bowman-Birk (**Figura 1**).

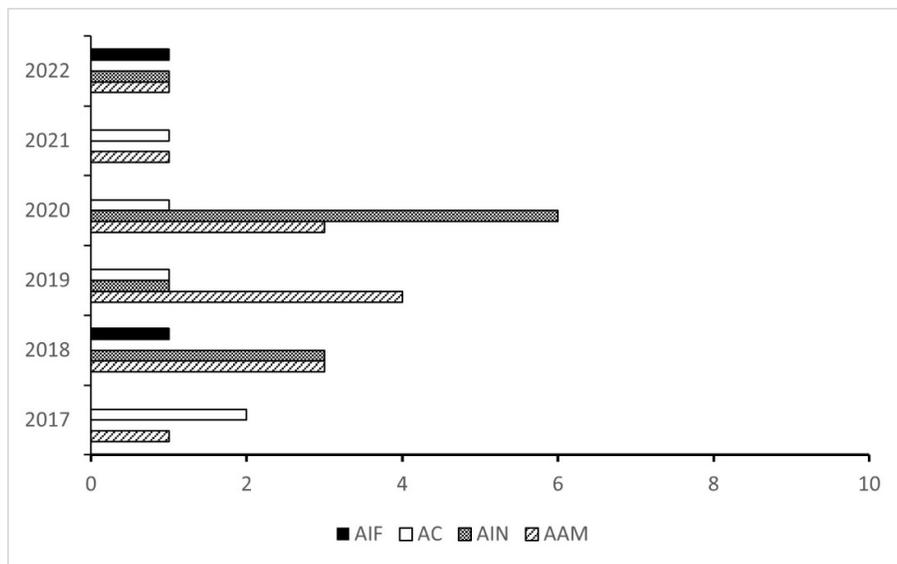


Figura 1 – Número de publicações por abordagem de estudo, em que temos: AIF (Atividade Anti Inflamatória), AC (Atividade anticoagulante), AIN (Atividade inseticida) e AAM (Atividade antimicrobiana) no período entre 2017-2022.

Foi possível observar o grande interesse dos grupos de pesquisa, nacional e internacional, na avaliação da atividade antimicrobiana dos inibidores de proteinases vegetais, isolados de diferentes espécies e famílias de plantas, com publicações em todo o período pesquisado. Em seguida, observou-se o interesse pelas pesquisas sobre a atividade anticoagulante e inseticida dos IPs. Entre 2018 e 2022, obtivemos publicações sobre a atividade dos IPs no processo inflamatório, em modelo animal.

Na **tabela 1** estão apresentados todos os trabalhos utilizados para análise e registro com informações estruturais e funcionais dos inibidores de proteinases de diferentes espécies vegetais.

Inibidores de proteinase	Espécie	Informações relevantes	Referências
CTI	<i>Zea mays</i> L	Primeiramente isolado na década de 70. Inibidor bifuncional (tripsina/alfa amilase) com ação anticoagulante.	(Hellum <i>et al.</i> 2017)
GdTI	<i>Geoffroea decorticans</i> (Gill. ex Hook. et Arn.)	Possui um peso molecular de 20 KDa, pertencente à superfamília BBI (Bowman-Birk Inhibitor). Testes hipoglicemiantes com GdTI demonstraram forte inibição da enzima α -glicosidase e ação do inibidor na regulação dos níveis de glicose no sangue. Possui atividade anticoagulante.	(Cotabarren <i>et al.</i> 2020)

EtTI	<i>Enterobium timbouva</i>	Possui duas cadeias polipeptídicas com um peso molecular de 20 KDa, tipo Kunitz, sendo específico para a inibição da tripsina com ação antimicrobiana.	(de Oliveira <i>et al.</i> 2018)
MuIP	<i>Macrotyloma uniflorum</i>	Tal inibidor tem a presença de serina no sítio reativo do IP que desempenha papel fundamental no mecanismo de inibição da protease. Possui peso molecular de 25 KDa. Apresenta ação antimicrobiana.	(Mohan <i>et al.</i> 2018)
TTI	<i>Tamarindus indica L.</i>	Possui 184 resíduos de aminoácidos, com um peso molecular de 20 KDa. Apresenta atividade antimicrobiana	(Oliveira <i>et al.</i> 2023) (Disponível on line - 2022)
LFTI	<i>Libidibia ferrea</i>	O inibidor possui massa molecular de 18 KDa, fazendo parte da família Kunitz. Testes recentes avaliaram o efeito anti-inflamatório e antinociceptivo do inibidor.	(Carvalho <i>et al.</i> 2023) (Disponível on line - 2022)
OpTI	<i>Solanum tuberosum L.</i>	Inibidor com um pró-segmen- to N-terminal de 13 aminoácidos seguido por 71 resíduos da proteína. Sua massa molecular foi determinada em 12, 090.05 Da. Sua estrutura é rica em regiões de leucina, glutamato, isoleucina e valina; Esta proteína é altamente conservada, desde sua sequência genética até sua semelhança com o inibidor de tripsina de outra variedade, a <i>S. tuberosum subsp. andigenum var. overa</i> . Apresenta atividade antimicrobiana.	(Cisneros <i>et al.</i> 2020)
BbKI BbCI	<i>Bauhinia bauhinoides</i>	BbCI é um inibidor de cisteino proteinase similar a inibidores do tipo Kunitz, mas sem resíduos de cisteína e metionina, por isso tal proteína apresenta maior resistência. A diferença entre a estrutura dos inibidores BbKI e BbCI é de suma importância no mecanismo de ação sobre o trato digestivo de cupins e os meios de impedir seu ciclo reprodutivo como método inseticida. Apresenta atividade inseticida.	(Ferreira <i>et al.</i> 2019)
LsCTI	<i>Lonchocarpus sericeus</i> (Poir.) Kunth ex DC	Contém uma massa molecular de aproximadamente 9 KDa. A estrutura desse inibidor varia entre 4 isoformas, pertencentes ao grande grupo dos BBI (Bowman-Birk Inhibitor). Apresenta atividade inseticida.	(Almeida Filho <i>et al.</i> 2018)
Alocasin	<i>Alocasia macrorrhizos</i> (L.) G. Don	A estrutura desse inibidor é estabilizada por três ligações dissulfeto (Cys39–Cys84, Cys154–Cys169 and Cys156–Cys165.). Tal proteína é semelhante ao grupo da família Kunitz. Apresenta atividade inseticida.	(Vajravijayan <i>et al.</i> 2018)

EcTI	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	O inibidor apresenta propriedade bioinseticida causando a morte, interferindo no crescimento ou desenvolvimento de insetos. Sua estrutura conta com 28 resíduos de aminoácidos 100% parecido com a ponta N terminal do inibidor de tripsina do tipo Kunitz. Apresenta atividade inseticida.	(Tabosa <i>et al.</i> 2020)
STI	Soybean trypsin inhibitor	Proteína monomérica composta por 181 aminoácidos com duas pontes dissulfeto de massa molecular de 20,1 kDa. Apresenta atividade antimicrobiana	(Islam <i>et al.</i> 2019)
IITI	<i>Inga laurina</i>	Este inibidor pode ser utilizado em associação a filmes polissacarídeos/PVA na atenuação do efeito medicamentoso para recuperação de tecidos, em que este inibidor, devido a sua propriedade bioquímica, é retido inicialmente e liberado ao organismo de maneira gradual. Essa análise é promissora para o desenvolvimento de protocolos refinados. Apresenta atividade antimicrobiana	(Cruz <i>et al.</i> 2019)
AcIT (SPI's)	<i>Amburana cearensis</i>	A associação do inibidor a antibióticos potencializa a sua ação, evitando a formação de resistências bacterianas como de <i>E. coli</i> , por exemplo. Este é de relevância no desenvolvimento de medicamentos antimicrobianos.	(Oliveira <i>et al.</i> 2020)
CICI	<i>Coix lacryma-jobi</i> L.	O inibidor possui massa molecular de 7.9 kDa com a sequência N-terminal (KTSWPE) e a sequência C-terminal (RVRIF) determinadas. Apresenta atividade antimicrobiana	(Ruan <i>et al.</i> 2019)
SjPi- 1 e SjPi 2	<i>Sophora japonica</i>	Inibidor de proteinase (PI), SjPi-1 possui massa molecular de 15 KDa e a SjPi-2 possui 31 KDa. Dessa maneira, temos que SjPi 1 é classificada na família Bowman-Birk e a SjPi-2 na família Kunitz. Apresenta atividade antimicrobiana	(Nabi <i>et al.</i> 2018)
MuPi	<i>Macrotyloma uniflorum</i>	A presença de serina no sítio reativo do PI desempenha papel chave no mecanismo de inibição da proteinase. Apresenta atividade antimicrobiana	(Mohan <i>et al.</i> 2018)
RfIP1	<i>Rhamnus frangula</i>	O inibidor possui massa molecular de 22.5 Kda, sendo então classificado na família de inibidores de serino proteinase Kunitz. Sua sequência NH2-terminal dos primeiros 33 resíduos foi determinada, sustentando um significativo grau de homologia com a família Kunitz. Apresenta atividade antimicrobiana	(Bacha <i>et al.</i> 2017)

oPTI	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Foi comprovada a ação antimicrobiana do inibidor para uma gama de patógenos, sendo previsto estudos futuros para desenvolvimento de antibióticos e conservantes com oPTI. Seu peso molecular é de 20 KDa. Apresenta atividade antimicrobiana	(Cisneros <i>et al.</i> 2020)
CCTI	<i>Cajanus cajan</i>	O inibidor demonstrou ação antimicrobiana persistente, inibindo crescimento bacteriano. Espécies fúngicas não demonstram ação inibitória na presença de tal proteína. Ademais, este inibidor demonstrou capacidade de inibir doenças causadas por estresse oxidativo e inflamação. Seu peso molecular foi elucidado (14 Kda). Apresenta atividade antimicrobiana	(Shamsi <i>et al.</i> 2018)
PDInibitor	<i>Conyza dioscoridis</i>	O inibidor de proteinase possui massa molecular de 25 kDa, pertencendo a família Kunitz. Apresentou atividade antibacteriana (tanto para as gram positivas, quanto as gram negativa) e antifúngica acentuada, além de afetar linhas de células cancerosas humanas (HCT-116, MDA-MB-231, e Lovo), sendo uma proteína promissora. Apresenta atividade antimicrobiana	(Karray <i>et al.</i> 2020)
MoPI	<i>Moringa oleifera</i>	Caracterização da primeira fitocistatina em <i>Moringa oleifera</i> , em que se elucidou seu peso molecular (19 kDa), sua forte ação antimicrobiana contra patógenos humanos (<i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>) e ação anticoagulante. Ademais, tal estrutura apresenta alta resistência às mudanças de pH e temperatura. Apresenta atividade antimicrobiana	(Cotabarren <i>et al.</i> 2021)
AaCI-2S	<i>Araucaria angustifolia</i>	Este inibidor de cisteína apresenta potencial efeito inseticida contra <i>Nasutitermes corniger</i> com um peso molecular de 18 KDa e resistência a mudança nos valores de pH e temperatura. A proteína inibiu o desenvolvimento de linhas de células de câncer gástrico e de próstata. Apresenta atividade inseticida	(Sallai <i>et al.</i> 2020)
DKEIP's	Inibidores de proteases presentes em folhas de palmeira, tâmaras e caroço de tâmaras	DKE inibiu alguns tipos de enzimas proteases digestivas do intestino médio de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> , indicando potencial no desenvolvimento de pesticidas sustentáveis. Apresenta atividade inseticida	(Orfali <i>et al.</i> 2020)

Tabela 1. Relação de pesquisas sobre inibidores de proteinases, resultante das buscas nas bases de dados SciElo, PubMed e BVS.

CONCLUSÃO

A partir do levantamento bibliográfico realizado conclui-se que há um interesse crescente pela investigação das propriedades físico-químicas, estruturais e aplicações de inibidores de proteinases vegetais, especialmente na sua purificação, caracterização e avaliação dos efeitos contra insetos/pragas, microrganismos patogênicos e sua ação anticoagulante. Tal estudo constata que a obtenção de novos compostos sintéticos a partir de compostos naturais termoestáveis obtidos de sementes de espécies leguminosas, é relevante para a descoberta de bioinseticidas, antifúngicos e novos fármacos para o tratamento de diversas doenças humanas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA FILHO LCP, TABOSA PMS, HISSA DC, VASCONCELOS IM & CARVALHO AFU. 2018. **First insights into insecticidal activity against *Aedes aegypti* and partial biochemical characterization of a novel low molecular mass chymotrypsin-trypsin inhibitor purified from *Lonchocarpus sericeus* seeds.** Pest Manag Sci 74: 1362–1373.
- BACHA A ben, JEMEL I, MOUBAYED NMS & ABDELMALEK I ben. 2017. **Purification and characterization of a newly serine protease inhibitor from *Rhamnus frangula* with potential for use as therapeutic drug.** 3 Biotech 7.
- CARVALHO R, BONFÁ IS, DE ARAÚJO ISÁÍAS MULLER J, PANDO SC & TOFFOLI-KADRI MC. 2023. **Protease inhibitor from *Libidibia ferrea* seeds attenuates inflammatory and nociceptive responses in mice.** J Ethnopharmacol 300.
- CISNEROS JS, COTABARREN J, PARISI MG, VASCONCELOS MW & OBREGÓN WD. 2020. **Purification and characterization of a novel trypsin inhibitor from *Solanum tuberosum* subsp. andigenum var. overa: Study of the expression levels and preliminary evaluation of its antimicrobial activity.** Int J Biol Macromol 158: 1279–1287.
- CLEMENTE, M., CORIGLIANO, M. G., PARIANI, S. A., SÁNCHEZ-LÓPEZ, E. F., SANDER, V. A., & RAMOS-DUARTE, V. A. (2019). **Plant serine protease inhibitors: Biotechnology application in agriculture and molecular farming.** In International Journal of Molecular Sciences (Vol. 20, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20061345>.
- COTABARREN J, BROITMAN DJ, QUIROGA E & OBREGÓN WD. 2020. **GdTI, the first thermostable trypsin inhibitor from *Geoffroea decorticans* seeds.** A novel natural drug with potential application in biomedicine. Int J Biol Macromol 148: 869–879.
- COTABARREN J, CLAVER S, PAYROL JA, GARCIA-PARDO J & OBREGÓN WD. 2021. **Purification and characterization of a novel thermostable papain inhibitor from *moringa oleifera* with antimicrobial and anticoagulant properties.** Pharmaceutics 13.
- COTABARREN J, LUFRANO D, PARISI MG & OBREGÓN WD. 2020. **Biotechnological, biomedical, and agronomical applications of plant protease inhibitors with high stability: A systematic review.** Plant Science 292.

FERREIRA RS, BRITO M v., NAPOLEÃO TH, SILVA MCC, PAIVA PMG & OLIVA MLV. 2019. **Effects of two protease inhibitors from *Bauhinia bauhinoides* with different specificity towards gut enzymes of *Nasutitermes corniger* and its survival.** Chemosphere 222: 364–370.

GITLIN-DOMAGALSKA A, MACIEJEWSKA A & DĘBOWSKI D. 2020. **Bowman-birk inhibitors: Insights into family of multifunctional proteins and peptides with potential therapeutical applications.** Pharmaceuticals 13: 1–40.

GOGOI D, RAMANI S, BHARTARI S, CHATTOPADHYAY P & MUKHERJEE AK. 2019. **Characterization of active anticoagulant fraction and a fibrin(ogen)olytic serine protease from leaves of *Clerodendrum colebrookianum*, a traditional ethno-medicinal plant used to reduce hypertension.** J Ethnopharmacol 243.

HAMAD BK, PATHAK M, MANNA R, FISCHER PM, EMSLEY J & DEKKER L v. 2017. **Assessment of the protein interaction between coagulation factor XII and corn trypsin inhibitor by molecular docking and biochemical validation.** Journal of Thrombosis and Haemostasis 15: 1818–1828.

KARRAY A, ALONAZI M, SMAOUI S, MICHAUD P, SOLIMAN D & BACHA A ben. 2020. **Purification and Biochemical Characterization of a New Protease Inhibitor from *Conyza dioscoridis* with Antimicrobial, Antifungal and Cytotoxic Effects.** Molecules 25.

MOHAN M, KUMARI M & ELYAS KK. 2018. **Antifungal and Antimicrobial Properties of a Purified Protease Inhibitor from *Macrotyloma Uniflorum* Seeds.** Curr Top Med Chem 18: 2491–2501.

NABI M, BHAT A, RASOOL SUA, ASHRAF S, MAQBOOL R, GANIE SA & AMIN S. 2018. **Physio-chemical characterization and anti-microbial activity of serine protease inhibitors purified from the *Sophora japonica* seeds.** Pakistan Journal of Biological Sciences 21: 432–440.

OLIVEIRA GS de, NASCIMENTO AM de S, LUZ ABS, AGUIAR AJFC, LIMA MSR, MATIAS LLR, AMADO IR, PASSOS TS, DAMASCENO KSF da SC, MONTEIRO N de KV, MOREIRA SMG, PASTRANA L & MORAIS AH de A. 2022. **Prospecting in silico antibacterial activity of a peptide from trypsin inhibitor isolated from tamarind seed.** J Enzyme Inhib Med Chem 38: 67–83.

OLIVEIRA MTA, MOURA GMM, DA CRUZ JIO, LIMA RVC, DOS SANTOS EA, ANDRADE JC, ALENCAR MVOB, LANDIM VPA, COUTINHO HDM & UCHOA AF. 2020. **Serine protease inhibition and modulatory-antibiotic activity of the proteic extract and fractions from *Amburana cearensis*.** Food and Chemical Toxicology 135.

ORFALI R, BINSUWAILEH A, ABU AL-ALA'A H, BANE-GAMEA S, ZAIDAN N, ABDELAZIM M, ALHASAN ISMAEL M, PERVEEN S, MAJRASHI N, ALLUHAYB K & ORFALI RS. 2020. **Production of a biopesticide on host and Non-Host serine protease inhibitors for red palm weevil in palm trees.** Saudi J Biol Sci 27: 2803–2808.

PANDEY A, YADAV R & SANYAL I. 2021. **Evaluating the pesticidal impact of plant protease inhibitors: lethal weaponry in the co-evolutionary battle.** Pest Manag Sci 78: 855–868.

ROSENEGGER PF, FALCÃO LS, BERNARDES LG, OLIVEIRA MD, MACHADO AM, MACHADO ARSR 2017. **Investigation of antimicrobial and anticoagulant effects of trypsin inhibitor from *Caesalpinia ferrea* var. *cearensis*.** Journal of Medical and Biological Sciences. 4:1.

SALLAI RC, SALU BR, SILVA-LUCCA RA, ALVES FL, NAPOLEÃO TH, PAIVA PMG, FERREIRA R da S, SAMPAIO MU & OLIVA MLV. 2020. **Biotechnological potential of *araucaria angustifolia* pine nuts extract and the cysteine protease inhibitor AaCi-2S.** Plants 9: 1–19.

TABOSA PMS, ALMEIDA FILHO LCP, FRANCA RX, ROCHA-BEZERRA LCB, VASCONCELOS IM & CARVALHO AFU. 2020. **Trypsin inhibitor from *Enterolobium contortisiliquum* seeds impairs *Aedes aegypti* development and enhances the activity of *Bacillus thuringiensis* toxins.** Pest Manag Sci 76: 3693–3701.

VAJRAVIJAYAN S, PLETNEV S, PLETNEV VZ, NANDHAGOPAL N & GUNASEKARAN K. 2018. **Crystal structure of a novel Kunitz type inhibitor, alocasin with anti-*Aedes aegypti* activity targeting midgut proteases.** Pest Manag Sci 74: 2761–2772.