

METABOLISMO SECUNDÁRIO

Lázaro E. P. Peres – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz -
lazaropp@esalq.usp.br

1. INTRODUÇÃO

2. COMPOSTOS FENÓLICOS

3. TERPENOS

4. ALCALÓIDES

5. IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA

6. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

7. BIBLIOGRAFIA

1. INTRODUÇÃO

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica. O metabolismo nada mais é do que o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário.

Entende-se por metabolismo primário o conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos. Os compostos envolvidos no metabolismo primário possuem uma distribuição universal nas plantas. Esse é o caso dos aminoácidos, dos nucleotídeos, dos lipídios, carboidratos e da clorofila.

Em contrapartida, o metabolismo secundário origina compostos que não possuem uma distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas. Como consequência prática, esses compostos podem ser utilizados em estudos taxonômicos (quimiosistemática). Um exemplo clássico são as antocianinas e betalainas, as quais não ocorrem conjuntamente em uma mesma espécie vegetal (Fig. 1). As betalainas são restritas a dez famílias de plantas, pertencentes a ordem Caryophyllales, que conseqüentemente não possuem antocianinas. Como a beterraba (*Beta vulgaris*) pertence a uma dessas famílias (Chenopodiaceae), a coloração avermelhada de suas raízes só pode ser atribuída à presença de betalainas, e não às antocianinas, como erroneamente costuma se pensar.

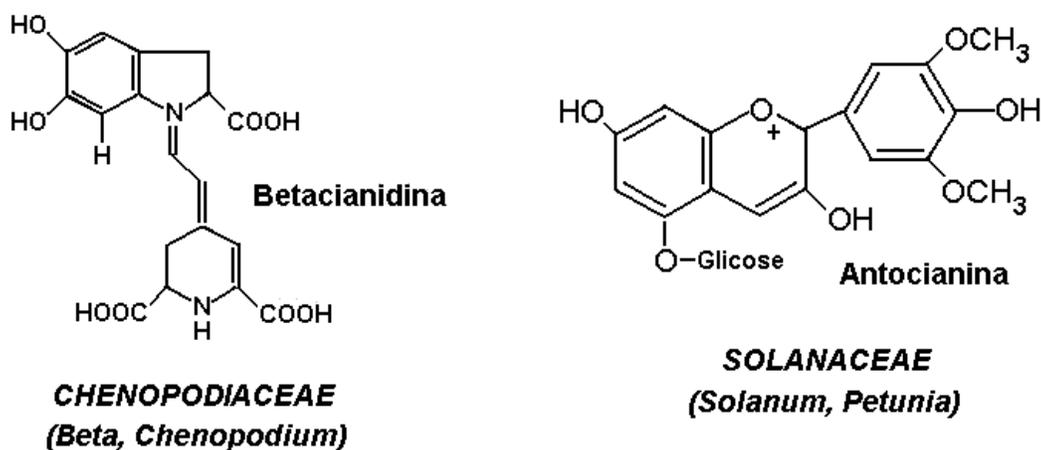


Figura 1. Exemplo de dois compostos do metabolismo secundário que podem ser utilizados em taxonomia. A betacianidina é um alcalóide com propriedades químicas (solubilidade em água) e físicas (coloração) semelhante às antocianinas. Contudo, as betacianidinas só ocorrem em famílias de plantas pertencentes a ordem Caryophyllales (Ex. Chenopodiaceae).

Embora o metabolismo secundário nem sempre seja necessário para que uma planta complete seu ciclo de vida, ele desempenha um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente. Um dos principais componentes do meio externo cuja interação é mediada por compostos do metabolismo secundário são os fatores bióticos. Desse modo, produtos secundários possuem um papel contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microorganismos simbiotes. Contudo, produtos secundários também possuem ação protetora em relação a estresses abióticos, como aqueles associados com mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição a UV e deficiência de nutrientes minerais.

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides (Fig. 2). Os terpenos são feitos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. Por fim, os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina).

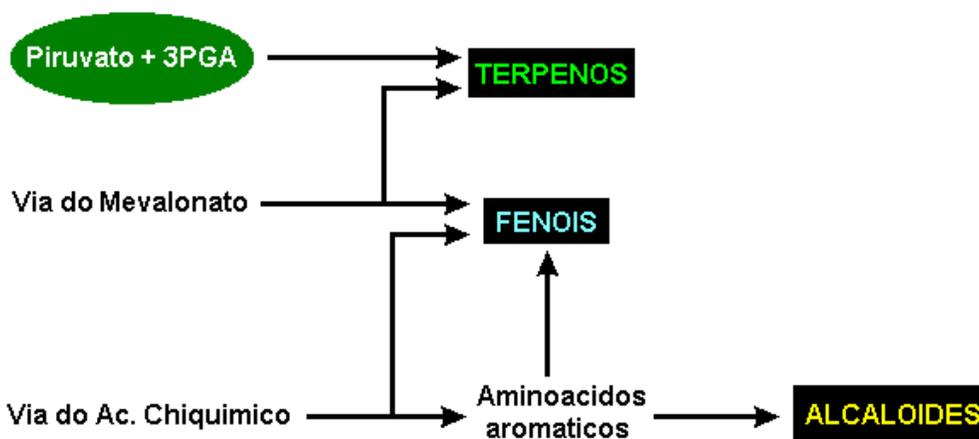


Figura 2. Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.

A seguir iremos considerar cada um dos três grandes grupos de compostos do metabolismo secundário.

2. COMPOSTOS FENÓLICOS

Os fenólicos são um grupo de compostos bastante presentes no nosso dia a dia, embora nem sempre nos demos conta disso. Desse modo, muito do sabor, odor e coloração de diversos vegetais que apreciamos são gerados por compostos fenólicos. Alguns desses compostos, como o aldeído cinâmico da canela (*Cinnamomum zeyllanicum*) e a vanilina da baunilha (*Vanilla planifolia*), são inclusive empregados na indústria de alimentos.

Os compostos fenólicos não são apenas atrativos para nós, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, esse grupo de compostos é importante para proteger as plantas contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias. Há inclusive certas espécies vegetais que desenvolveram compostos fenólicos para inibir o crescimento de outras plantas competidoras (ação alelopática). Exemplos de compostos fenólicos com ação alelopática são o ácido caféico e o ácido ferúlico.

Além de sua importância na proteção das plantas contra fatores ambientais e bióticos adversos, acredita-se que os compostos fenólicos tenham sido fundamentais para a própria conquista do ambiente terrestre pelas plantas. Esse é o caso da lignina, a qual proporcional o desenvolvimento do sistema vascular, dando rigidez aos vasos. De modo coerente com essa hipótese, plantas primitivas que habitam principalmente ambiente úmidos, como briófitas e pteridófitas, são pobres em compostos fenólicos.

Quimicamente dizendo, os chamados compostos fenólicos são substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Esses compostos são sintetizados a partir de duas rotas metabólicas principais: a via do ácido chiquímico (Fig. 3) e a via do ácido mevalônico, a qual é menos significativa.

A via do ácido chiquímico é presente em plantas, fungos e bactérias, mas não em animais. Por isso, os aminoácidos triptofano e fenilalanina são considerados essenciais. Como a tirosina pode ser formada a partir da fenilalanina, ela não é considerada essencial na dieta humana. Uma importante enzima nessa via é 5-enolpiruvil-3-fosfochiquimato (EPSP sintase). O herbicida glifosato é um conhecido inibidor dessa enzima. Existe um gene que codifica uma forma mutante da enzima EPSP, a qual deixa de ser inibida pelo glifosato. Tal gene tem sido utilizado para produção de plantas transgênicas resistentes a herbicidas, como por exemplo a soja Roundup Ready®.

Contudo, a principal enzima da via do ácido chiquímico é a fenilalanina amônio liase (PAL). Essa enzima retira uma amônia da fenilalanina formando o ácido cinâmico. A PAL é regulada por fatores ambientais como o nível nutricional, a luz (pelo efeito do fitocromo) e infecção por fungos. Entre as substâncias formadas após a ação da PAL estão o ácido benzóico, o qual dá origem ao ácido salicílico, um importante composto na defesa das plantas contra patógenos (Fig. 4).

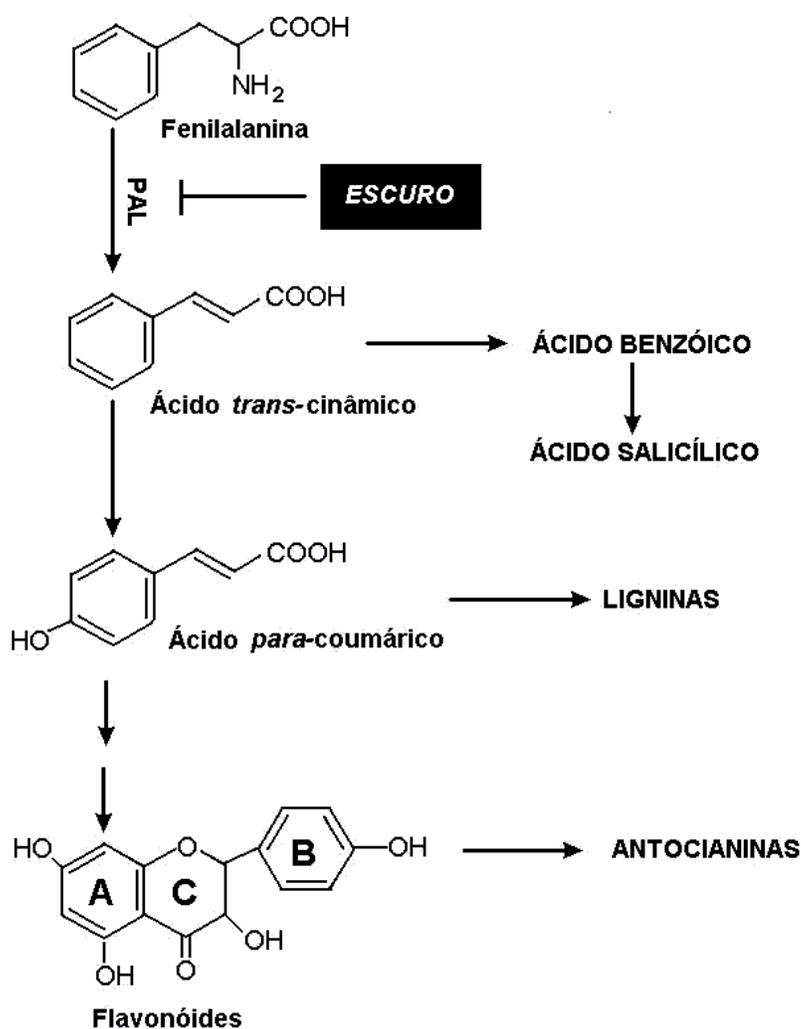


Figura 4. Principais compostos fenólicos derivados da enzima fenilalanina amônio liase (PAL).

Outra importante classe de compostos derivados da PAL é representada pelos flavonóides (Fig 4). Embora os flavonóides sejam quase ausentes em fungos, algas, briófitas e pteridófitas¹, sua importância nas angiospermas é muito grande. Esses compostos estão envolvidos principalmente na sinalização entre plantas e outros organismos e na proteção contra UV. No que se refere à sinalização entre plantas e outros organismos, pode se incluir nesse item a relação entre os vegetais e seus agentes polinizadores, sendo a coloração das flores um dos principais atrativos. Exemplos de compostos que as plantas utilizam para “colorir” suas flores são as antocianinas, uma classe de flavonóides. As antocianinas são glicosídeos de flavonóides (Fig. 1). A aglicona (molécula sem o açúcar) é conhecida como antocianidina. As antocianinas são bastante solúveis e se acumulam nos vacúolos das células das pétalas. Elas são transportadas para os vacúolos por intermédio de glutathiona-S-transferase (GST) e os transportadores ABC.

Além da ação da PAL, para que haja biossíntese de flavonóides, é necessária a atuação de uma outra importante enzima. Trata-se da chalcona sintase (CHS). Algumas espécies vegetais sofreram uma mutação nessa enzima, o que deu origem a acumulação de estilbenos, uma classe de compostos relacionados aos flavonóides (Fig. 5). O resveratrol é um estilbeno de grande importância, pois acredita-se que ele diminui o risco de doenças cardíacas. Fontes de resveratrol são a uva (*Vitis vinifera*) e o amendoim (*Arachis hypogea*).

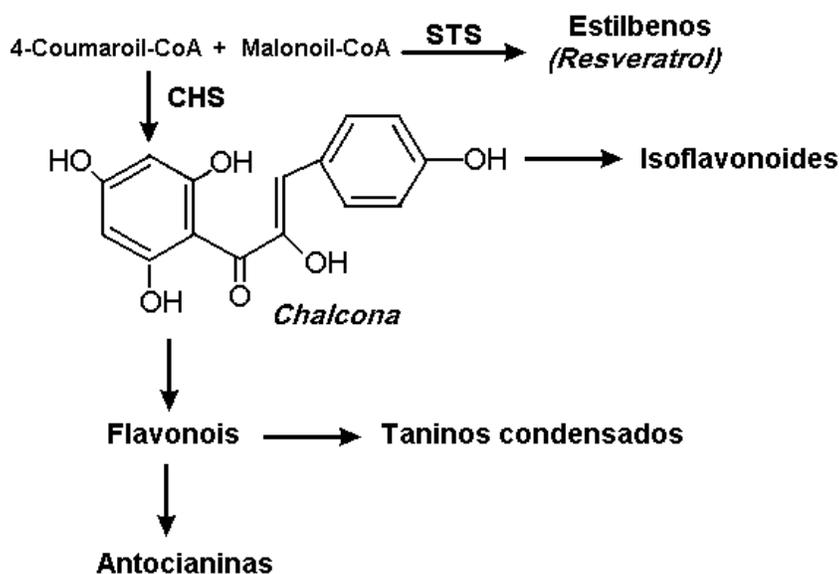


Figura 5. Biossíntese de flavonóides. A enzima chalcona sintase (CHS) é a principal enzima envolvida na biossíntese de antocianinas, isoflavonóides e taninos. Uma forma mutada da CHS é representada pela estilbeno sintase (STS), a qual dá origem ao resveratrol.

A enzima CHS é necessária para que haja formação de importantes flavonóides como as antocianinas, os flavonóis, os taninos condensados e os isoflavonóides (Fig. 5). Os flavonóis são os próprios precursores de antocianinas e dos taninos condensados. Contudo, os flavonóis, por si só, já desempenham um importante papel absorvendo a

¹ Embora pteridófitas possam acumular flavonóides, sua variabilidade estrutural é pequena nesse grupo vegetal.

radiação UVB (280-320 nm) para proteção das plantas. Um conhecido exemplo de flavonól é a quercetina (Fig. 13).

Os isoflavonóides são também conhecidos como fitoalexinas, ou seja, uma classe de compostos com ação antipatógenos (e.g. medicarpina) ou inseticida (e. g. rotenóides).

Os taninos condensados são compostos fenólicos solúveis em água com massa molecular entre 500 a 3.000 Daltons. Esses compostos são responsáveis pela adstringência de muitos frutos. Taninos são defesas contra pragas pois eles se ligam a proteínas digestivas dos insetos. Esses compostos também são denominados protoantocianidinas devido ao fato de produzirem pigmentos avermelhados (antocianidinas), após degradação.

3. TERPENOS

Pode se dizer que as plantas possuem dois tipos básicos de polímeros: os ácidos nucléicos (DNA e RNA) e as proteínas. Contudo existe uma terceira classe de compostos que se assemelham aos polímeros. Trata-se dos terpenos. Na verdade, cada unidade básica dos terpenos assemelha-se mais a uma peça de “lego”, do que propriamente um monômero. Aproveitando a analogia com esse conhecido brinquedo, o equivalente a cada peça de lego seria uma molécula de cinco carbonos denominada isopreno ou isopentenilpirofosfato. Desse modo, os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno que entraram em sua montagem (Tab. 1).

Tabela 1. Principais terpenóides encontrados nas plantas. Notar que os terpenóides são precursores de quatro classes hormonais: as citocininas (CKs), o ácido abscísico (ABA), as giberelinas (GAs), e os brassinoesteróides (BR).

# Isoprenos	# Átomos de C	Nome	Exemplos
1	5	Isopreno	Cadeia lateral das Cks
2	10	Monoterpeno	piretróides e óleos essenciais
3	15	Sesquiterpeno	ABA, lactonas
4	20	Diterpeno	GAs, taxol
6	30	Triterpeno	Esteróides (BR), saponinas
8	40	Tetraterpeno	Carotenóides
N	N	Polisopreno	Borracha

Como pode ser observado na tabela 1, muitos compostos vegetais importantes são terpenos ou possuem derivados de terpenos em partes de sua molécula. Entre esses compostos encontram-se, inclusive, quatro, das seis principais classes de hormônios vegetais.

Como mencionado anteriormente, os terpenos são “montados” através da justaposição sucessiva de unidades de cinco carbonos denominado isopentenilpirofosfato (IPP). O IPP é derivado do ácido mevalônico ou mevalonato e dá origem a todos os outros terpenos (Fig. 6). Contudo, é necessário salientar que enquanto os monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15) e diterpenos (C20) são montados pela adição de uma molécula C5 de cada vez, os triterpenos (C30) são o resultado da junção de duas moléculas C15 (FPP) e os tetraterpenos de duas moléculas C20 (GGPP).

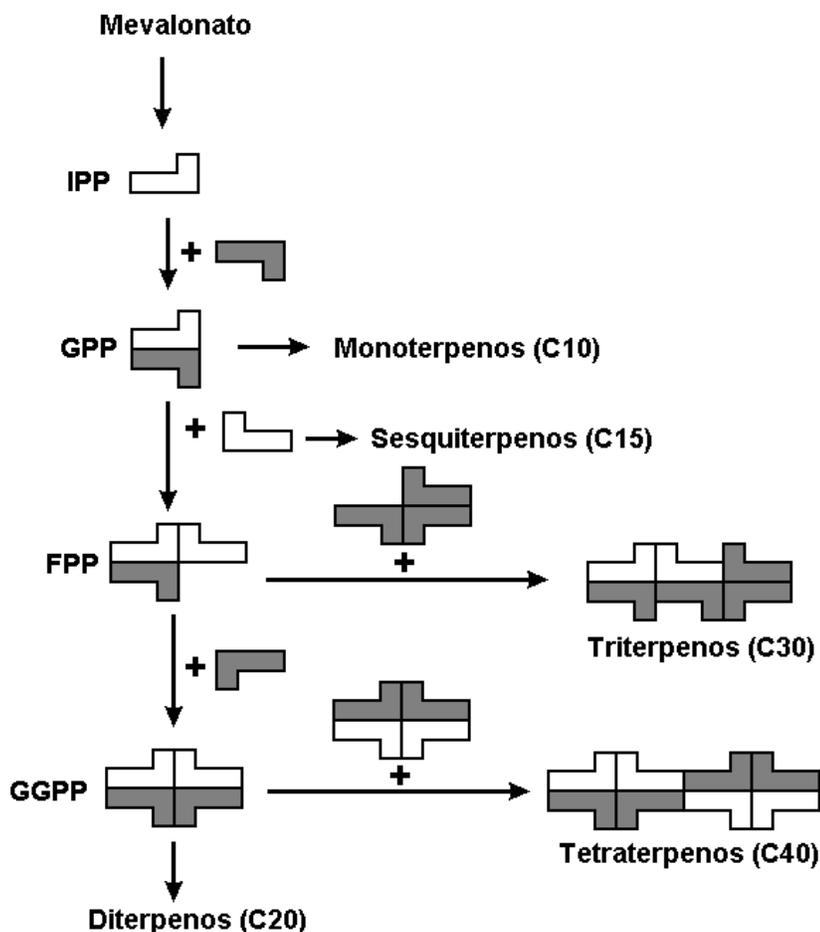


Figura 6. Biossíntese de terpenos. O isopreno é representado aqui como uma unidade básica, semelhante aos bloquinhos do brinquedo “lego”. A junção de duas unidades de isopreno ou isopentenilpirofosfato (IPP) forma o geranylpirofosfato (GPP), o qual é precursor dos monoterpenos. A adição de mais um IPP gera o farnesilpirofosfato (FPP), o qual origina os sesquiterpenos. A adição de mais um IPP a um FPP origina o geranylgeranylpirofosfato (GGPP), sendo este o precursor dos diterpenos. A junção de dois FPPs dá origem aos triterpenos. De modo semelhante, são precisos dois GGPPs para obtermos um tetraterpeno.

A seguir iremos considerar cada um dos principais grupos de terpenos dando ênfase aos compostos vegetais mais importantes que fazem parte de cada grupo.

Os monoterpenos, devido ao seu baixo peso molecular, costumam ser substância voláteis, sendo portanto denominados óleos essenciais ou essências. Contudo nem todos os óleos voláteis são terpenóides; alguns podem ser compostos fenólicos (fenilpropanóides). Os monoterpenos podem ocorrer em pêlos glandulares (Lamiaceae), células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae); canais oleíferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae). Eles podem estar estocados em flores (laranjeira), folhas (capim-limão, eucalipto, louro) ou nas cascas dos caules (canelas), madeiras (sândalo, pau-rosa) e frutos (erva-doce).

A função dos óleos essenciais nas plantas pode ser tanto para atrair polinizadores (principalmente os noturnos) quanto para repelir insetos (pragas). Entre o primeiro grupo estão o limoneno e o mentol (Fig 7), os quais possuem cheiro agradável também para nós. Um exemplo clássico do segundo grupo são os piretróides (Fig 7). Esses compostos são inseticidas naturais derivado do cravo-de-defunto (*Chrysanthemum* spp).

A volatilidade desse inseticida tem sido bastante útil para o desenvolvimento dos conhecidos inseticidas domésticos para repelir pernilongos.

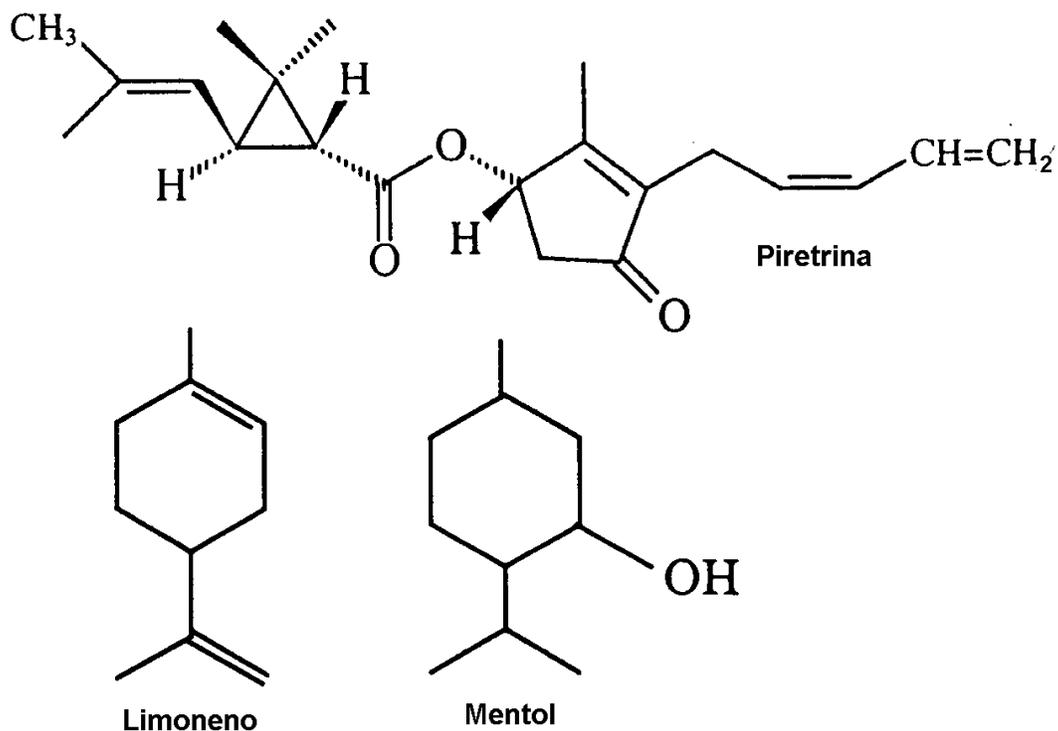


Figura 7. Estrutura de alguns óleos voláteis.

Muitos sesquiterpenóides também são voláteis e, assim como os monoterpenos, estão envolvidos na defesa contra pragas e doenças. Dois exemplo são o gossypol (dímero de C₁₅), o qual está associado à resistência a pragas em algumas variedades de algodão, e as lactonas, presentes na família Compositae e responsáveis pelo gosto amargo de suas folhas. Alguns sesquiterpenos são considerados fitoalexinas, como a “rishitina” de tomateiro. Contudo, a maior parte das fitoalexinas são na verdade compostos fenólicos (isoflavonóides).

Os diterpenos normalmente estão associados às resinas de muitas plantas. Um exemplo é a resina cicatrizante de *Hymenaea courbaril*. Contudo, talvez o principal papel desempenhado por um diterpeno seja o das giberelinas, as quais são importantes hormônios vegetais responsáveis pela germinação de sementes, alongamento caulinar e expansão dos frutos de muitas espécies vegetais.

Entre os triterpenos está uma importante classe de substâncias tanto para vegetais quanto para animais. Trata-se dos esteróides, os quais são componentes dos lipídios de membrana e precursores de hormônios esteróides em mamíferos (testosterona, progesterona), plantas (brassinosteróides) e insetos (ecdiesteróides).

Uma outra classe importante de triterpenos são as saponinas. Como o próprio nome indica, as saponinas são prontamente reconhecidas pela formação de espuma em certos extratos vegetais. Essas substâncias são semelhantes ao sabão porque possuem uma parte solúvel (glicose) e outra lipossolúvel (triterpeno). Nas plantas, as saponinas desempenham um importante papel na defesa contra insetos e microorganismos. Isso pode ocorrer de diversos modos. Uma delas é a complexação das saponinas com esteróides dos fungos, tornando-os indisponíveis. As plantas também podem

desenvolver saponinas como análogos de hormônios esteróides de insetos. Esses análogos, denominadas fitoecdisonas, interferem no desenvolvimento dos insetos, tornando-os estéreis. Há inclusive a possibilidade de sintetizar hormônios animais a partir de saponinas. Isso tem ocorrido com a saponina diosgenina, derivada de *Dioscorea macrostachya*, para produção industrial da progesterona (Fig. 8). A produção industrial de hormônios animais a partir de saponinas vegetais causou uma significativa mudança no comportamento da sociedade contemporânea, pois foi a base da produção dos anticoncepcionais (Djerassi, 1970).

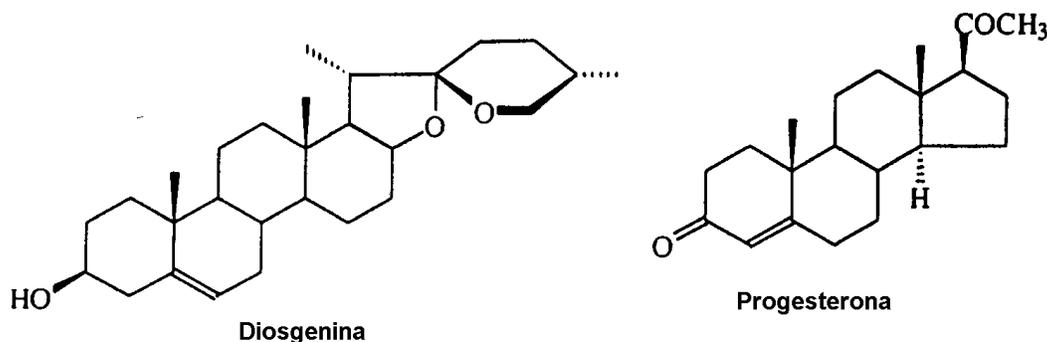


Figura 8. Estrutura química da saponina diosgenina e do hormônio esteróide progesterona. A diosgenina costuma ser extraída do inhame (*Dioscorea macrostachya*) e empregada industrialmente para fabricação de progesterona.

Um outro triterpeno que tem mudado o comportamento da sociedade, ou pelo menos seus hábitos alimentares é o colesterol. Embora o colesterol seja um importante componente de membrana e precursor de hormônios esteróides, sua acumulação tem sido associada com doenças cardíacas. Tal constatação fez com que a população passasse a buscar alimentos com baixos níveis desses compostos. É comum encontrarmos em diversos produtos de origem vegetal, tais como óleos, azeites e margarinas, a indicação de que eles não contém colesterol. Nem poderia ser diferente, já que as plantas normalmente acumulam pouco colesterol devido a ação da enzima esterol metiltransferase. Essa enzima adiciona metil ou etil ao carbono 24 dos esteróides levando à acumulação de outros esteróides (sitosterol, campesterol) e não do colesterol, pois esse último não possui CH_3 no carbono 24 (Diener et al., 2000).

Outras saponinas que merecem destaque são a azadiractina, uma saponina do tipo limonóide presente no neem (*Azadirachta indica*), a tomatidina (um alcalóide esteroidal), a glicirrizina presente no alcaçuz (*Glycyrrhiza blabra*) e o protopanaxodiol extraído do ginseng (*Panax ginseng*). Embora essas saponinas tenham sido desenvolvidas pelas plantas para sua proteção, elas vem sendo utilizadas pelo homem em diferentes aplicações como inseticidas naturais (azadiractina) e remédios (protopanaxodiol e glicirrizina).

Os tetraterpenos mais famosos são sem dúvidas os carotenos e as xantofilas. Esses compostos lipossolúveis desempenham um importante papel tanto nas plantas quanto nos animais. Nas plantas, basta dizer que os carotenóides fazem parte das antenas de captação de luz nos fotossistemas. Sem os carotenóides não haveria portanto a fotossíntese. Além disso, esses compostos são importante antioxidantes e dissipadores de radicais livres gerados pela fotossíntese.

Embora os vertebrados não sejam capazes de sintetizar carotenóides, esses compostos desempenham importantes papéis no metabolismo animal. Além do beta-caroteno ser precursor da vitamina A (retinal), outros carotenóides como o licopeno são importantes dissipadores de radicais livres nos animais.

A primeira enzima da biossíntese de carotenóides é a fiteno sintetase (PSY, Fig. 9). Em tomateiro existe uma isoforma dessa enzima específica de frutos. Enquanto em muitas espécies de frutos a aquisição de coloração é quase que somente devido a degradação da clorofila que camuflava os carotenóides, no tomate há uma biossíntese *de novo* desses compostos durante a maturação. Mutantes de tomateiro defectivos para a isoforma de PSY específica de frutos acumulam pouco carotenóides nesses órgão, tornando-os apenas amarelados (Fig. 9), ao invés de vermelhos, quando maduros. Curiosamente, quando plantas transgênicas superexpressando essa enzima foram produzidas, as mesmos mostraram um inesperado fenótipo anão. Esses resultados foram interpretados como sendo causados por uma diminuição nos níveis endógenos de giberelinas devido à competição por cadeias terpênicas (Fray et al., 1995).

Após a formação do fiteno, o mesmo é reduzido a licopeno pela ação de diferentes dessaturases (PDS e ZDS, Fig. 9). O licopeno, por sua vez, é prontamente convertido a β -caroteno pela ação de uma β -ciclase. Contudo, a quase ausência dessa enzima em frutos como o tomate, a goiaba e a melancia faz com eles acumulem licopeno e adquiram uma coloração vermelha característica. Mutantes de tomateiro com a presença de beta-ciclases nos frutos podem acumular β -caroteno ou δ -caroteno ao invés de licopeno. No primeiro caso, os frutos ficam com uma coloração alaranjada, parecido com a da cenoura (Fig. 9). No segundo caso, o acúmulo de delta-caroteno produz frutos de coloração vermelho alaranjado (Fig. 9). Como o tomate é uma importante fonte de licopeno², o qual, como se verá adiante, é um eficiente antioxidante para a dieta humana, as mutações que convertem o licopeno em outros carotenóides têm pouca aplicação prática. Há no entanto um mutante de tomateiro com total ausência de atividade de beta-ciclase no fruto. Esse mutante, denominado *old gold crimson* (*og*) possui mais licopeno do que o tomate comum (não mutante). É provável que no futuro essa mutação seja incorporada na maioria das variedades comerciais de tomateiro.

A oxidação de carotenos dá origem a xantofilas como a luteína e a zexantina (Fig. 9). Essa última é precursora do hormônio ácido abscísico (ABA). A principal enzima envolvida na quebra da xantofila para produção de um precursor de ABA é uma dioxigenase conhecida como VP14 em milho ou NOTABILIS em tomateiro. Curiosamente, a quebra do caroteno para formação de retinal é feita por uma enzima semelhante nos animais.

² O tomateiro possui mais de 10 mg de licopeno por 100 g de peso fresco.

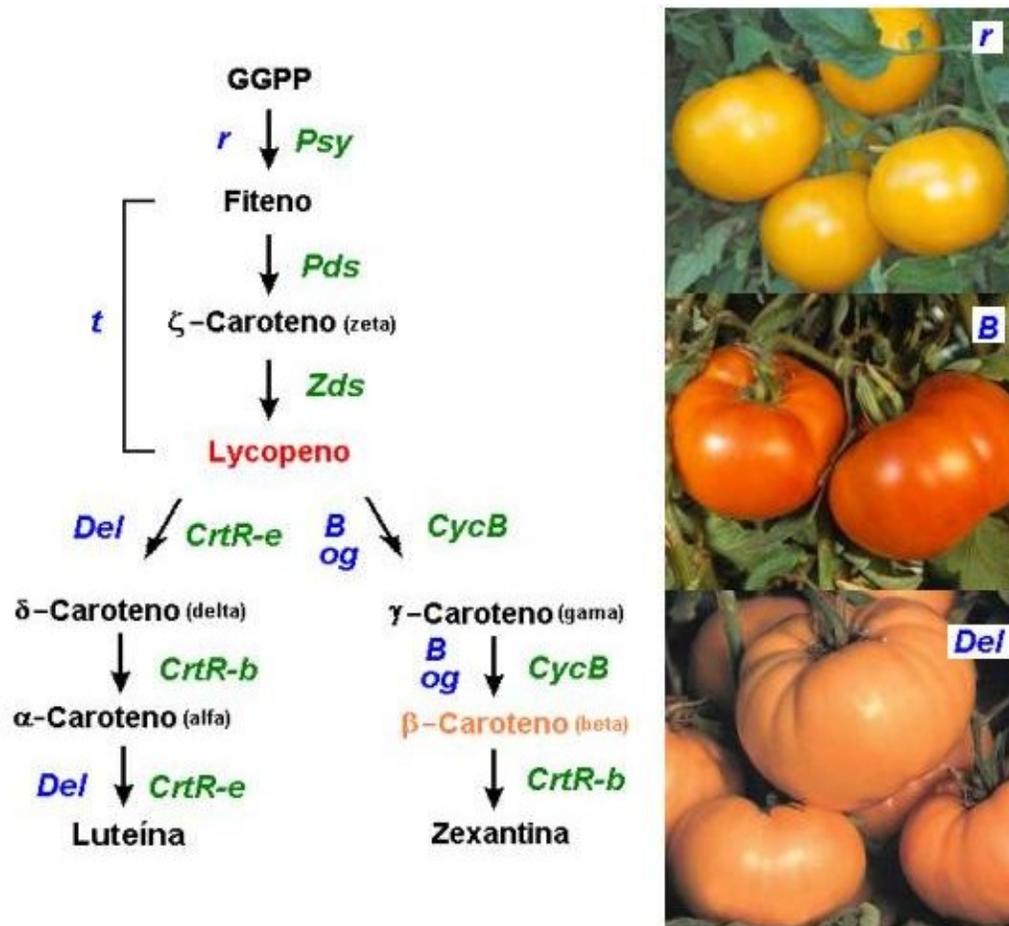


Figura 9. Biossíntese de carotenóides em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*). Em verde estão representados os genes que codificam as principais enzimas envolvidas. Em azul estão representadas mutações conhecidas para alguns dos referidos genes. O mutante *yellow flesh* (*r*) corresponde à ausência de uma fiteno sintase (PSY) específica de frutos. Os mutantes *Beta* (*B*) e *old god crimson* (*og*) correspondem a dois extremos, ou seja, a alta atividade de uma beta-ciclase (*B*) e a não atividade da mesma (*og*). O mutante *Del* codifica para uma beta-ciclase alternativa, a qual produz delta caroteno. A mutação *tangerine* (*t*) corresponde a uma isomerase necessária para a ação das enzimas fiteno dessaturase (PDS) e zeta-caroteno dessaturase (ZDS).

Por fim, o último grupo de terpenóides é composto pelos polisoprenos. Entre esses compostos está a borracha: um terpeno formado por 1.500 a 15.000 unidades de isopreno. A borracha está presente no látex de diversas plantas, sendo a mais importante a seringueira (*Evea brasiliensis*).

4. ALCALÓIDES

Os alcalóides são compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel (Fig. 10). Na sua grande maioria os alcalóides possuem caráter alcalino, já que a presença do átomo de N representa um par de elétrons não

compartilhados. Contudo, existem alcalóides de caráter ácido, como por exemplo a colchicina. Os alcalóides são sintetizados no retículo endoplasmático, concentrando-se, em seguida, nos vacúolos e, dessa forma, não aparecem em células jovens.

Essa classe de compostos do metabolismo secundário é famosa pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos. Já na antiguidade há referência ao uso dessa classe de compostos. Talvez o caso mais famoso seja a execução do filósofo grego Sócrates, condenado a ingerir cicuta (*Conium maculatum*), uma fonte do alcalóide coniina. Os romanos também faziam uso de alcalóides em homicídios. Os principais alcalóides em questão eram a hiosciamina, a atropina e a baladonina, todos derivados de *Atropa belladonna*. Tal uso fez com que mais tarde essa e outras plantas da família solanaceae ficassem conhecidas na Europa como “plantas da sombra da noite” ou “night shade”.

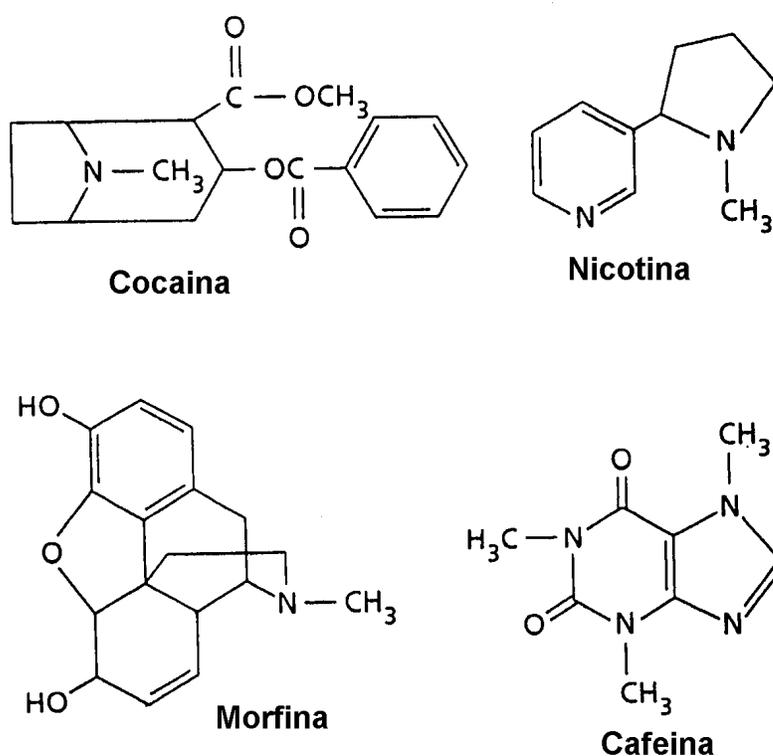


Figura 10. Exemplos de alcalóides. Notar que uma característica comum dos alcalóides é a presença de nitrogênio no anel carbônico. Essa estrutura indica que os alcalóides são derivados de aminoácidos. Desse modo, a cocaína é um alcalóide tropânico derivado de ornitina. A nicotina é um alcalóide pirrolidínico derivado de lisina. A morfina é um alcalóide isoquinolínico derivado de tirosina. A cafeína é um alcalóide purínico, a qual por sua vez é derivada de aminoácidos tais como glicina, ácido L-aspártico e L-glutamina.

Além dos gregos e romanos, muitas outras culturas antigas usavam e ainda usam alcalóides como venenos, principalmente para o envenenamento de setas empregadas em caçadas e guerras. Exemplos disso são o extrato seco do curare (*Chondodendron tomentosum*), contendo o alcalóide tubocurarina, utilizado pelos índios da Bacia

Amazônica, e a famosa estricnina extraída de *Strychnos nux-vomica* por nativos asiáticos.

As sociedades modernas continuam fazendo largo uso dos alcalóides, inclusive em aplicações não lícitas como é o caso das drogas comercializadas no narcotráfico. Dois casos notáveis são o LSD e a cocaína. Embora o LSD tenha sido sintetizado a partir do ácido lisérgico em 1943 para fins terapêuticos, hoje ele é largamente utilizado como alucinógeno. No caso da cocaína, apesar dela já ter feito parte da formulação de alguns refrigerantes até 1904, quando seu uso foi proibido, hoje ela é uma droga bastante nociva para a sociedade. Vale lembrar que a cocaína e seus derivados é a causa direta da morte de um razoável número de usuários todos os anos e é também a causa indireta de um número de vítimas maior ainda devido à guerra do narcotráfico.

Contudo, como se verá adiante, os alcalóides também podem ser muito úteis para a sociedade. Talvez o exemplo mais marcante seja a descoberta de que os alcalóides vincristina e vimblastina, presentes em vinca (*Vinca rosea*), podem ser utilizados na cura de certos tipos de câncer. Além disso, como os alcalóides possuem um pronunciado efeito no sistema nervoso de mamíferos, muitos remédios para distúrbios emocionais, um mal crescente nas sociedade moderna, são derivados deles.

Como dito anteriormente, os alcalóides são caracterizados pela presença de átomos de N em moléculas orgânicas. Tal característica indica de certa forma sua origem química. Desse modo, quase a totalidade dos alcalóides é derivada de aminoácidos, como a ornitina, a lisina, a tirosina e o triptofano. Enquanto a ornitina é precursora dos alcalóides pirrolidínicos e tropânicos, a lisina dá origem aos alcalóides piperidínicos. A tirosina e o triptofano são formados na via do ácido chiquímico e dão origem aos alcalóides isoquinolínicos e indólicos, respectivamente. A seguir daremos exemplos significantes em cada grupo de alcalóides.

Talvez o alcalóide pirrolidínico mais famoso seja a nicotina. A nicotina é formada nas raízes do tabaco (*Nicotiana tabacum*) e posteriormente translocada para as folhas nas quais é armazenada. Nas raízes, a biossíntese de nicotina envolve a junção do ácido nicotínico com uma molécula de ornitina (Fig. 11). É interessante notar que o ácido nicotínico também é precursor de uma importante molécula do metabolismo primário. Trata-se do ácido nicotínico mononucleotídeo³ (NADP⁺). O NADP⁺ é o aceptor final de elétrons da fotossíntese, a qual ocorre nas membrana do tilacóides. Mais tarde, o NADPH formado é utilizado para reduzir o CO₂ formando triose fosfato no ciclo de Calvin. Embora não tão fundamental quanto o NADPH, a nicotínica, juntamente com a cafeína, é um dos alcalóides mais consumidos no mundo. Apesar de já ser bem conhecido o seu efeito na indução de câncer de pulmão, seu uso está longe de ser banido da sociedade. Contudo, a nicotina também pode ser utilizada de modo benéfico. Como nas plantas sua função é a defesa contra herbívoros, ela pode ser utilizada como inseticida natural, nas conhecidas caldas de fumo empregadas na agricultura.

³ O mononucleotídeo de ácido nicotínico (NADP) é formado pela junção desse a um fósforo e uma molécula de ribose.

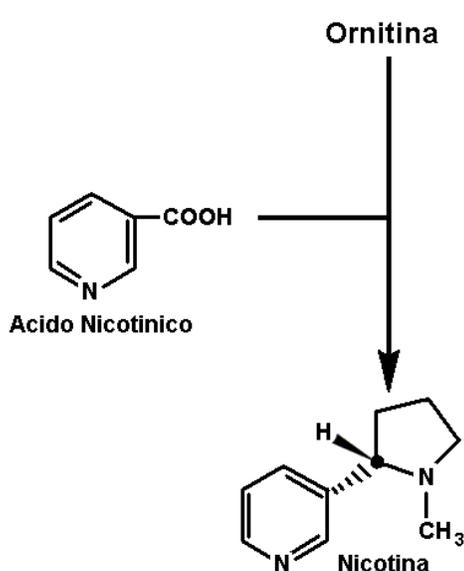


Figura 11. Biossíntese de nicotina.

Outra classe de alcalóides derivada da ornitina são os tropânicos. Entre essa classe de alcalóides está a cocaína extraída de *Erythroylon coca*. Na verdade, existem pelo menos duas espécies vegetais produtoras de cocaína. Uma delas é a chamada coca do Peru (*E. coca*) e a outra é a coca da Colômbia (*E. novogranatense* var *truxillense*). Ambas espécies são consideradas plantas domesticadas e suas formas silvestres já não ocorrem na região de origem. A cocaína se acumula nas folhas de *Erythroylon*, as quais são mascaradas pelas populações nativas dos Andes desde o Império Inca, ou mesmo antes dele. Tal uso é apenas um estimulante para amenizar as fadigas do ambiente inóspito dos Andes. O grande problema associado à cocaína está no seu refino, o qual produz uma droga concentrada que rapidamente provoca dependência química em seus usuários. Um outro representante dessa classe de alcalóides é a própria atropina. Essa substância era utilizada na Itália antiga para dilatar as pupilas, o que se acreditava tornar as mulheres mais atraentes (daí o nome *Bella Donna*). Até hoje a atropina é utilizada como um dilatador de pupilas em exames de oftalmologia.

Exemplo de alcalóides derivados de tirosina (isoquinolínicos) são a mescalina, a morfina e a codeína. A mescalina é um alcalóide alucinógeno presente no cactus *Lophophora williamsii* (Cactaceae), conhecida popularmente como peiote. Tanto a codeína quanto a morfina são alcalóides com ação analgésica.

O representante mais famoso dos alcalóides piperidínicos é aconiína, extraída da cicuta, sobre a qual já comentamos anteriormente. De igual modo, a já mencionada estricnina é um representante dos alcalóides do tipo indólico, os quais são derivados do aminoácido triptofano.

Alguns alcalóides não são derivados de aminoácidos e sim de uma base nitrogenada. Esse é o caso da cafeína (1,3,7 – trimetilxantina), uma xantina produzida a partir de uma purina. Contudo, as purinas por sua vez derivam de aminoácidos tais como glicina, ácido L-aspártico e L-glutamina. A cafeína e seu precursor teobromina são produzidas por mais de 60 espécies subtropicais (Ashihara et al., 1996), incluindo o café (*Coffea arabica*), o chá (*Camellia sinensis*), o mate (*Ilex paraguayensis*), o guaraná (*Paullinia cupana*), a cola (*Cola nitida*) e o cacão (*Theobroma cacao*).

Três N-metiltransferases estão envolvidas na biossíntese de cafeína, entre elas estão a teobromina sintase e a cafeína sintase (Mazzafera et al., 1994), as quais

adicionam grupos metil à xantoxina para convertê-la em cafeína (Fig. 12). Além das metilações, um dos passos da biossíntese de cafeína envolve a remoção de um resíduo de ribose.

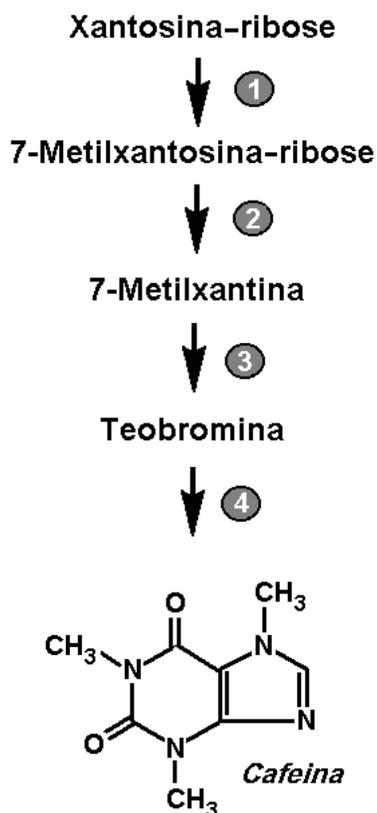


Figura 12. Biossíntese da cafeína. Quatro reações estão envolvidas na biossíntese de cafeína. As reações 1, 3 e 4 são metilações catalisadas por N-metiltransferases. A reação 2 é uma remoção de uma molécula de ribose. Os genes que codificam as N-metiltransferases 1, 3 e 4 já foram isolados e podem ser utilizados para produção de plantas com níveis alterados de cafeína. Modificado de Uefuji et al. (2003).

A cafeína é provavelmente o alcalóide mais consumido no mundo moderno. Esse consumo muitas vezes se dá de modo involuntário, já que está presente nos grãos de café e acompanha sempre essa popular bebida. Há contudo a possibilidade de eliminá-la por processos industriais, produzindo o chamado café descafeinado. Como se verá adiante, a recente descoberta dos genes que codificam para as enzimas-chaves da biossíntese de cafeína (Uefuji et al., 2003) irá facilitar a manipulação do conteúdo desse alcalóide na própria planta. Como nas plantas o principal papel da cafeína parece ser a defesa contra herbivoria, a manipulação de seu conteúdo em plantas transgênicas poderá abrir duas vertentes. A primeira delas seria fazer plantas mais resistentes a pragas. A outra seria a produção agrícola de grãos de café já descafeinados, o que dispensaria os processos industriais onerosos.

5. IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA

Como já mencionado, o principal papel dos metabólitos secundários é a proteção contra pragas e patógenos. Pode-se dizer que a ampla variedade de compostos produzidos pelas plantas é o produto de milhares de anos interagindo com os mais diferentes organismos. A própria proteção que as plantas tiveram que desenvolver

contra a dessecação ao conquistarem o ambiente terrestre, ou seja, a cutícula, constitui-se numa defesa contra o ataque de fungos e bactérias. A cutícula possui uma camada mais externa denominada cutina e uma mais interna chamada suberina. Ambas camadas possuem ceras. As ceras são misturas complexas de lipídeos bastante hidrofóbicos. Essa repulsão de água tem um papel ecológico importante, pois faz com que a superfície da folha esteja seca impedindo a germinação de esporos de fungos e a multiplicação de bactérias.

De modo mais específico, muitas plantas desenvolveram substâncias que são verdadeiros inseticidas ou fungicidas naturais. Essa capacidade natural das plantas era inclusive bastante explorada na agricultura antes da Segunda Guerra Mundial, quando então foram gradualmente sendo substituídas por produtos sintéticos. Tais produtos foram inicialmente desenvolvidos como armas químicas e logo depois se percebeu que tinham uma aplicação na agricultura.

Atualmente, a crescente preocupação com o meio ambiente e a consciência de que o petróleo, a matéria prima das indústrias químicas, é finito, tem conduzido a uma volta aos produtos naturais. Inúmeros são os compostos conhecidos com ação inseticida ou antipatógenos. A seguir daremos alguns exemplos.

São exemplos de inseticidas naturais os rotenóides, a nicotina e a azadiractina. Cada um desses compostos mencionados possui um mecanismo de ação diferente. Os rotenóides impedem a regeneração de NAD^+ , diminuindo o consumo de O_2 em cerca de 95%, levando o inseto à morte por asfixia. A nicotina é um inibidor da acetil colina esterase, o que faz com que o inseto morra por convulsão. Um outro conhecido inibidor da acetil colina esterase é fisostigmina presente no feijão-de-calabar (*Physostigma venenosum*). O mecanismo envolvido na ação da azadiractina é um pouco mais sofisticado. Essa substância presente no neem e em outras plantas como a *Melia azedaroch* interfere no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo a ecdise. Outra substância que interfere no desenvolvimento dos insetos são os precocenos (cromenos). Esses compostos são conhecidos por sua capacidade de induzir metamorfose antecipada em alguns insetos através da destruição da glândula que secreta os hormônios juvenilizantes.

É interessante notar que, com exceção dos rotenóides que atuam na respiração, todos os outros compostos naturais com ação inseticida têm seu efeito no sistema nervoso ou no sistema endócrino, ambos ausentes em plantas. Tal estratégia permite as plantas acumularem grandes quantidades desses metabólitos sem que elas próprias sejam prejudicadas.

Uma outra maneira das plantas acumularem substâncias tóxicas sem que elas mesmas se prejudiquem é a compartimentarização. Exemplo disso é o acúmulo de glicosídeos cianogênicos nos vacúolos de folhas de mandioca (*Manihot esculenta*). Ao serem mastigadas por insetos ou outros herbívoros, os glicosídeos cianogênicos presentes nas folhas entram em contato com enzimas hidrolíticas do citossol e liberam ácido cianídrico (HCN). O HCN inibe a cadeia respiratória ao se ligar com o Fe^{3+} da citocromo-oxidase na mitocôndria.

Algo semelhante aos glicosídeos cianogênicos acontece com as plantas da família Cruciferae. Essas plantas produzem compostos glicosinolatos que liberam toxinas voláteis. A enzima que quebra as ligações dos glicosinolatos com glicose chama-se thioglucosidase. O produto final é uma substância picante denominada isotiocinato.

Além da mandioca e das crucíferas, uma outra planta cultivada que acumula substâncias bastante tóxicas para sua defesa é a mamona (*Ricinus comunis*). As

sementes dessa espécie vegetal possuem uma lectina altamente tóxica denominada ricina, a qual tem estrutura glicoprotéica com a propriedade de aglutinar eritrócitos.

Por fim, muitas plantas tóxicas são encontradas na família Araceae. Algumas dessas espécies são ornamentais, como o comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia picta* ou *D. seguine*), o filodendro (*Philodendron bipinnatifidum*), a costela-de-Adão (*Monstera deliciosa*) e a Jibóia (*Scindapsus pictus*). Sabe-se que essas plantas acumulam cristais de oxalato de cálcio, os quais são bastante irritantes e são a causa de muitos acidentes domésticos. Contudo, ainda não se sabe exatamente qual o tipo de composto que torna essas plantas tão tóxicas para os animais.

6. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A importância econômica do metabolismo secundário reside em três grandes áreas: a fitomedicina, a nutracêutica e as aplicações industriais diversas. Como já visto nesse capítulo, a facilidade que se tem hoje em isolar genes que codificam enzimas chaves do metabolismo secundário leva a crer que as três áreas mencionadas serão bastante potencializadas no futuro através da biotecnologia.

Embora as plantas venham sendo utilizadas como medicamentos há tempos imemorráveis, temos assistido nos dias atuais a uma retomada da chamada fitomedicina. As razões para isso são diversas, estando entre elas os altos preços dos remédios convencionais, os quais, entre outras coisas, refletem um certo abuso pela propriedade intelectual de princípios ativos que, em sua grande maioria, foram extraídos das próprias plantas. Além disso, os remédios caseiros baseados em extratos vegetais complexos, contendo diversos metabólitos, podem ter uma certa vantagem sobre as drogas convencionais, as quais costumam ser baseadas em um único princípio ativo. Desse modo, a presença de vários compostos em um só remédio pode ter um efeito sinérgico benéfico. Por outro lado, o uso de um só princípio ativo obriga que esse esteja em doses elevadas (farmacológicas), as quais nem sempre são fisiologicamente adequadas e podem provocar efeitos colaterais.

A presença de vários princípios ativos nos extratos vegetais é explicada pelo fato das plantas normalmente desenvolvem uma série de metabólitos com funções complementares na defesa contra pragas e doenças. Essa estratégia impede o desenvolvimento de resistência por parte dos organismos maléficos. Muitos desses compostos, apesar de serem suficientes para matar insetos ou mesmo vertebrados de grande porte, quando utilizados em doses adequadas convertem-se em medicamentos. Desse modo, produtos secundários envolvidos na defesa através de atividade citotóxica contra patógenos podem ser úteis como agentes antimicrobianos na medicina. Além disso, aqueles envolvidos na defesa contra herbivoria através de atividade neurotóxica podem ter efeitos benéficos no homem atuando como antidepressivos, sedativos, relaxantes musculares ou anestésicos (Briskin, 2000). Por fim, algumas plantas evoluíram produzindo produtos secundários que interagem com alvos moleculares (ex. receptores) de organismos competidores como microrganismos, outras plantas e animais. Nesse sentido, alguns produtos secundários exercem suas funções pela semelhança com metabólitos endógenos, receptores, hormônios, moléculas da transdução de sinais ou neurotransmissores, e por isso possuem efeito benéfico nos homens graças a sua similaridade com moléculas do sistema nervoso central, sistema endócrino, etc. (Briskin, 2000).

Enquanto o metabolismo primário (fotossíntese) tem grande importância para a nutrição humana, pode-se dizer que o metabolismo secundário é de muita relevância para a chamada nutracêutica. Essa área emergente basicamente combina a alimentação com a prevenção de doenças, buscando os chamados alimentos funcionais. Parte considerável das substâncias de origem vegetal que previnem doenças são antioxidantes e alguns deles fazem parte do metabolismo secundário (e.g. carotenóides e flavonóides).

As aplicações industriais do metabolismo secundário são variadas. Talvez uma das mais antigas seja o uso de taninos para curtir couros. Essa aplicação toma vantagem da habilidade dos taninos de se complexarem com proteínas, o que nas plantas é explorado como defesa à herbivoria. A ligação com proteínas deixa o couro mais resistente ao calor, água e micróbios. As espécies vegetais mais utilizadas como fontes de tanino são: quebracho (*Schinopsis* spp) e acácia (*Acacia mearnsii*). Além disso,

taninos condensados podem reagir com formaldeído produzindo polímeros com poder aglutinante. Esses polímeros são empregados para fabricar aglomerados e laminados de madeira e na fabricação de resina de troca catiônica para purificação de água.

Uma outra aplicação industrial muito antiga dos metabólitos secundários é o uso de corantes naturais. Atualmente quase todos os corantes são derivados de petróleo, como a anilina e outros compostos aromáticos. Contudo, como o petróleo é finito, no futuro os corantes naturais provavelmente voltarão a ser muito importantes.

Existem corantes naturais para as três cores fundamentais (Fig. 13). Desse modo, metabólitos secundários que conferem cor vermelha são representados pelas antraquinonas alizarina e purpurina, extraídas normalmente de *Rubia tinctorum*. Um outro conhecido corante vermelho é o encontrado no paubrasil (*Caesalpinia echinata*). O corante em questão é o brasilin, o qual por autoxidação se transforma em brasilein. Corantes amarelos são derivados de flavonóides (ex. quercetina) e podem ser extraídos de *Reseda luteola*, *Genista tinctoria* e *Solidago* spp. Por fim, o corante azul mais famoso é o índigo, produzido por *Indigofera* spp. Contudo, outras espécies vegetais também produzem índigo.

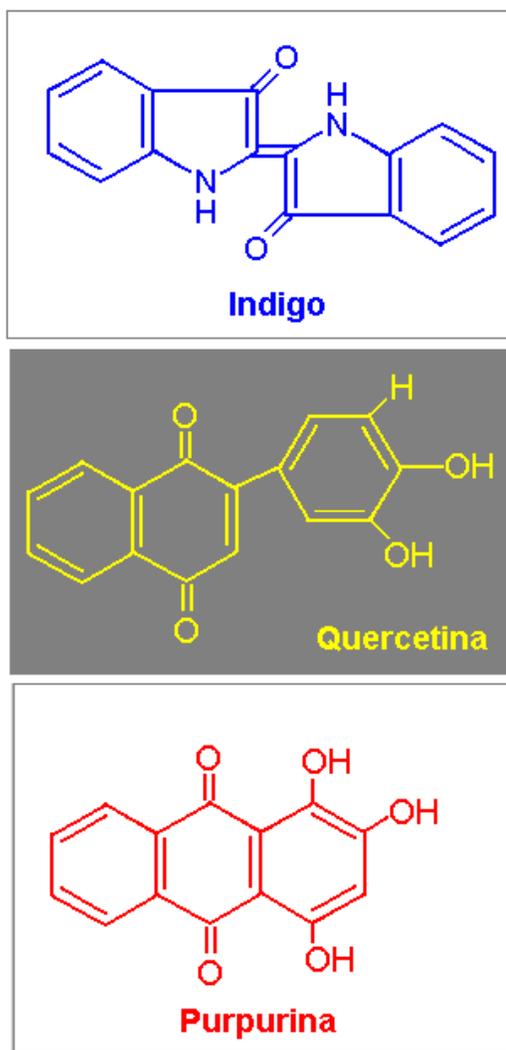


Figura 13. Exemplo de corantes naturais representando as três cores fundamentais: azul (índigo), amarelo (quercetina) e vermelho (purpurina). O índigo é um alcalóide extraído de *Indigofera* spp. A quercetina é um flavonóide que pode ser extraído de *Reseda luteola*. A purpurina é uma antraquinona presente em *Rubia tinctorum*. Tanto o índigo quanto a purpurina podem ser obtidas de modo sintético.

O índigo foi um dos primeiros corantes naturais a ser obtido de modo sintético. Isso ocorreu em 1897 e contribuiu para o largo uso desse corante na indústria têxtil. O emprego mais famoso desse corante é sem dúvida o Jeans. O emprego do índigo para colorir tecidos de algodão é facilitado pelo fato dele ser insolúvel em água, mas sua forma reduzida ser solúvel em água alcalinizada. Desse modo, essa forma é absorvida pelas fibras do algodão e ao serem expostas ao ar ela é re-oxidada, tornando-se insolúvel e permanentemente fixada nas fibras. Como consequência desse processo, a lavagem constante com sabão, o qual costuma ser alcalino, tende a desbotar o Jeans.

Além dos corantes, metabólitos secundários podem ser fonte de fragrâncias utilizadas na indústria de cosméticos e alimentos. A maioria dos compostos de fragrância pertencem a três grupos principais: fenilpropanóides, álcoois derivados de ácidos graxos e terpenóides (Vainstein et al. 2001). Entre esses compostos encontramos representantes famosos como o monoterpene geraniol presente na rosa e no jasmim, o eugenol característico do aroma do cravo (*Dianthus caryophyllus*) e o acetato de linalil exalado pela flor de lavanda.

Dos três grupos principais de fragrâncias, os mono e sesquiterpenos pertencem a via dos terpenóides. Os fenilpropanóides são derivados da L-fenilalanina pela ação da PAL. Os álcoois e aldeídos são derivados da degradação de ácidos graxos através da ação de lipooxigenases, hidróxido liases, isomerases e desidrogenases. Acredita-se que as pétalas sejam o local de maior atividade das enzimas envolvidas na síntese desses compostos. Alguma dessas enzimas devem inclusive seguir ritmo circadiano, já que muitas plantas só exalam seu perfume a noite (e. g. dama da noite).

A importância dos compostos envolvidos nas fragrâncias ultrapassa o seu emprego na indústria. Basta lembrar que a polinização por insetos guiados pelo cheiro é um passo crítico na produção de alimentos. A despeito disso, o cheiro nunca foi objeto de melhoramento, mesmo em espécies ornamentais. Nessas últimas há inclusive a tendência de uma seleção não intencional para flores sem cheiro já que há uma correlação negativa entre longevidade e fragrância das folhes.

Uma das dificuldades inerentes à seleção de plantas baseada na produção de metabólitos secundários para a fitomedicina, nutracêutica ou qualquer outra aplicação está na necessidade da utilização de métodos analíticos complexos para a dosagem das substancias em questão.

Uma alternativa para tal limitação seria a seleção baseada em marcadores genéticos. As facilidades atuais para se isolar genes envolvidos em vias metabólicas abre a perspectiva do uso futuro de tais genes em seleção ou mesmo a manipulação direta do conteúdo de metabólitos secundários através da produção de plantas transgênicas.

Uma das primeiras propostas de alteração do metabolismo secundário através da biotecnologia foi a inibição da biossíntese de ligninas para produzir gramíneas mais palatáveis e árvores com madeira mais adequada para fazer papel. Contudo, como a lignina é um composto fundamental para a planta, tal proposta pode ser inviável.

Muitas vezes os metabólitos secundários desenvolvidos para proteção da planta provocam um gosto ruim nos vegetais e o homem acaba por selecionar vegetais de melhor sabor, mas com maior suscetibilidade a pragas e patógenos. Uma maneira de se corrigir isso seria manipular os genes responsáveis pela biossíntese de compostos secundários envolvidos em defesa, de tal modo que as plantas transgênicas que os expressassem só o fizessem em tecidos específicos, os quais poderiam ser aqueles não utilizados na alimentação.

Algumas plantas transgênicas com alterações no metabolismo secundário já foram produzidas. Dois exemplos interessantes são a produção de plantas de café com

baixos níveis de cafeína (Ogita et al., 2003) e a obtenção de cravos com inéditas flores azuis, através da manipulação da biossíntese de antocianinas (Winkel-Shirley, 2001).

Genes importantes do metabolismo secundário que tiveram o seu isolamento recente sugerem que plantas transgênicas serão largamente utilizadas no futuro para produção de metabólitos utilizados em fitomedicina, nutracêutica e aplicações industriais. Dois trabalhos publicados por um mesmo grupo que estuda o metabolismo de carotenóides são um bom exemplo disso. Nos referidos trabalhos, os principais genes envolvidas na biossíntese de glicosídeos de crocetina (Fig. 14), um carotenóide solúvel em água que é a base do condimento açafrão (*Crocus sativus*), e na biossíntese da bixina (Fig. 15), um carotenóide produzido pelo urucum (*Bixa orellana*), foram isolados.

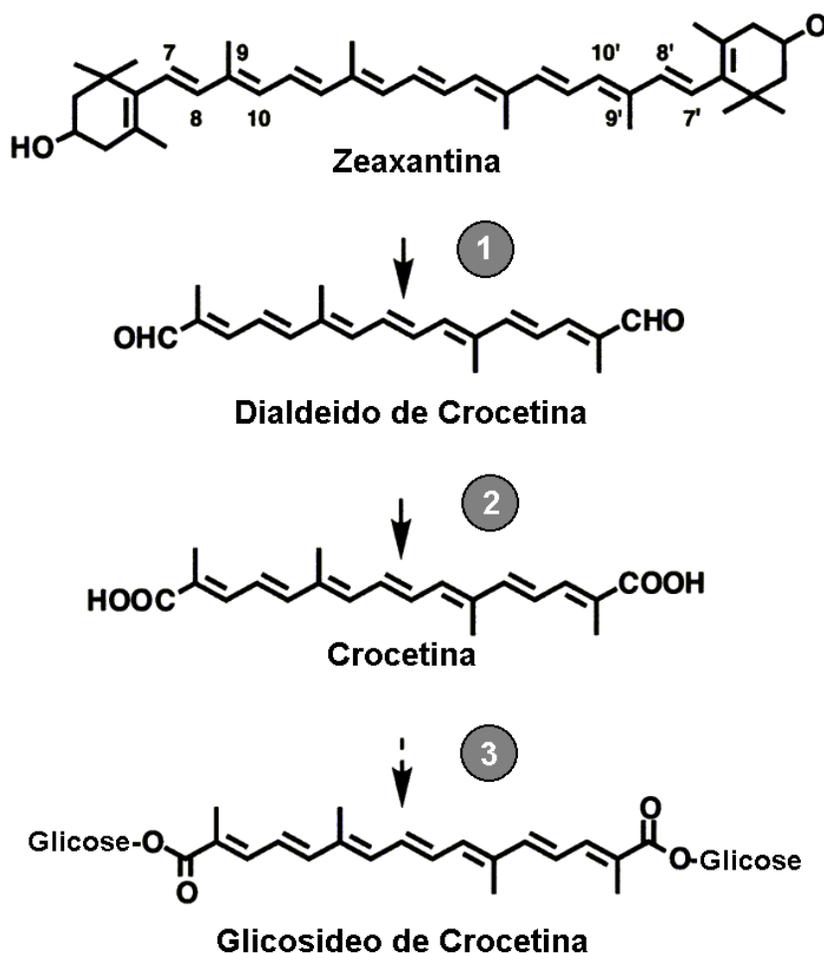


Figura 14. Biossíntese de crocetina. A enzima 1 é uma zeatina clivagem dioxigenase (ZCD). A enzima 2 é uma aldeído oxidoreductase. A enzima 3 é uma UDPG-glicosiltransferase. Em *Crocus sativus* (Cs), a enzima ZCD é codificada por um gene (CsZCD) induzido por estresse hídrico e homólogo a um dos principais genes (VP14) da biossíntese do ácido abscísico. Modificado de Bouvier et al. (2003a).

Como a crocetina é derivada da zexantina (Fig. 14), um carotenóide que acumula nos grãos de milho, e a bixina é derivada do licopeno (Fig. 15), o qual é abundante no tomate, o isolamento dos genes envolvidos na biossíntese desses

- BOUVIER, F.; SUIRE, C.; MUTTERER, J.; CAMARA, B. Oxidative remodeling of chromoplast carotenoids: identification of the carotenoid dioxygenase *CsCCD* and *CsZCD* genes involved in *Crocus* secondary metabolite biogenesis. **The Plant Cell**, 15:47, 2003a.
- BOUVIER, F. ; DOGBO,O.; CAMARA, B. Biosynthesis of the food and cosmetic plant pigment bixin (Annatto). **Science**, 300:2089-2091, 2003b.
- BRISKIN, D. P. Medical plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant Physiology**, 124:507-514, 2000.
- CUNNINGHAM, F. X. Jr & GANTT, E. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 49:557-583, 1998.
- DIENER, A. C.; LI, H.; ZHOU, W-X.; WHORISKEY, W. J.; NES, W. D. & FINK, G. R. *STEROL METHYLTRANSFERASE 1* controls the level of cholesterol in Plants. **The Plant Cell**, 12:853-870, 2000.
- DJERASSI, C. Birth control after 1984. **Science**, 169:941, 1970.
- FRAY, R. G.; WALLACE, A.; FRASER, P. D.; VALERO, D.; HEDDEN, P.; BRAMLEY, P. M. & GRIERSON, D. Constitutive expression of fruit phytoene synthase gene in transgenic tomatoes causes dwarfism by redirecting metabolites from the gibberellin pathway. **Plant Journal**, 8:693-701, 1995.
- GILBERT, K. G. ; COOKE, D. T. Dyes from plants: past usage, present understanding and potential. **Plant Growth Regulation**, 34:57-69, 2001.
- GIULIANO, G.; AQUILANI, R. & DHARMAPURI, S. Metabolic engineering of plant carotenoids. **Trends in Plant Science**, 5:406-409, 2000.
- GRUSAK, M. A.; DELLAPENNA, D. Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 50:133–161, 1999.
- OGITA, S.; UEFUJI, H.; YAMAGUCHI, Y.; KOIZUMI, M.; SANO, H. Producing decaffeinated coffee plants. **Nature**, 423:823, 2003.
- MAZZAFERA, P.; WINGSLE, G.; OLSSON, O.; SANDBERG, G. S-adenosyl-L-methionine: theobromine 1-N-methyltransferase, an enzyme catalyzing the synthesis of caffeine in coffee. **Phytochemistry**, 37:1577-1584, 1994.
- PEARCE, G.; STRYDOM, D.; JOHNSON, S. & RYAN, C. A. A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. **Science**, 253:895-898, 1991.
- POST-BEITTENMILLER, D. Biochemistry and molecular biology of wax production in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 47:405-430, 1996.

- RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo, EPU, EDUSP, 1976. p. 119.
- SHULAEV, V.; SILVERMAN, P. & RASKIN, I. Airborne signalling by methylsalicylate in plant pathogen resistance. **Nature**, 385:718-721,1997.
- SIMÕES, O. C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia. Da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da UFSC/ Editora da Universidade UFRGS. 2002, 833p.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Plant physiology**. California, The Benjamin/Cummings Publishing Co., 1998, 559 p.
- UEFUJI, H.; OGITA, S.; YAMAGUCHI, Y.; KOIZUMI, N.; SANO, H. Molecular cloning and functional characterization of three distinct N-methyltransferases involved in the caffeine biosynthetic pathway in coffee plants. **Plant Physiology**, 132:372-380, 2003.
- VAINSTEIN, A.; LEWINSOHN, E.; PICHERSKY, E.; WEISS, D. Floral fragrance. New inroads into an old commodity. **Plant Physiology**, 127:1383-1389, 2001.
- WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiology**, 126:485-493, 2001.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.