



Universidade Federal de São João del-Rei
Coordenadoria do Curso de Química



Glicosinolatos: Estrutura Química, Mecanismo de Ativação Enzimática e Atividade Biológica

Shirley Hellen Valério

São João del-Rei – 2017

GLICOSINOLATOS: ESTRUTURA QUÍMICA, MECANISMO DE ATIVAÇÃO ENZIMÁTICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado no 1º semestre do ano de 2017 ao Curso de Química, Grau Acadêmico Bacharelado, da Universidade Federal de São João del-Rei, como requisito parcial para obtenção do título Bacharel em Química.

Autor: Shirley Hellen Valério

Docente Orientador: Lílian Fernandes Moreira

Modalidade do Trabalho: Revisão Bibliográfica

São João del-Rei – 2017

RESUMO:

Os metabólitos primários são sintetizados pela própria planta e exercem papel fundamental nas funções biológicas. Além desses, podem ser produzidos também os metabólitos secundários que desempenham funções diferenciadas como, por exemplo, na defesa contra ataques externos de alguns insetos. Os glicosinolatos, objeto desta revisão, são β -tioglicosídeos N-hidroxissulfatos e estão presentes em vários alimentos da família Brassicaceae incluindo repolho, couve, brócolis, rábano dentre outros. Desta forma, os seres humanos também são beneficiados com a produção destes metabólitos, pois ao consumi-los eles são hidrolisados dando origem a compostos comprovadamente com ampla atividade biológica. Os isotiocianatos (ITCs) são a principal classe representativa dos produtos de hidrólise da qual também fazem parte as nitrilas, as epitionitrilas, os tiocianatos dentre outros. Sua atividade biológica compreende a ação contra o câncer, problemas cardiovasculares e a defesa de plantas contra insetos herbívoros, alguns com status de pragas agrícolas. O conhecimento dos mecanismos envolvidos na sua atividade e as potenciais aplicações desses compostos químicos faz deles um objeto de estudo para químicos, biólogos, médicos e farmacêuticos, dentre outros, interessados na sua utilização.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	5
2. Objetivos.....	6
3. Revisão da Literatura.....	6
3.1 Histórico, Diversidade e Estrutura Química.....	6
3.2 Biossíntese.....	11
3.3 Mecanismo de Ativação Enzimática.....	13
3.4 Atividade Biológica dos Produtos de Hidrólise.....	16
4. Conclusão.....	19
5. Referências Bibliográficas.....	19

1. INTRODUÇÃO

As plantas são seres autótrofos, assim denominados por produzirem as substâncias indispensáveis para suas funções vitais. Entende-se por metabolismo o conjunto das reações biossintéticas que ocorrem em nível celular para a produção de tais substâncias e que são catalisadas por enzimas (EMERY et al., 2010). Esses produtos são conhecidos como metabólitos primários e são moléculas orgânicas. Podemos citar como exemplos os lipídeos, carboidratos, aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos que se relacionam com as funções fotossintéticas e respiratórias e com funções ainda não bem definidas e presença em classes restritas de vegetais, destacam-se ainda os metabólitos secundários, também denominados produtos naturais (GARCÍA e CARRIL, 2009).

Ainda de acordo com García e Carril (2009), os metabólitos secundários podem ser organizados em quatro classes principais: i) Terpenos, ii) Compostos Fenólicos, iii) Glicosídeos e, iv) Alcalóides. Devido às suas características estruturais, a classe dos glicosídeos incorpora os glicosinolatos, que são o objeto desta revisão bibliográfica.

Os glicosídeos são moléculas que, quando sofrem hidrólise, liberam uma molécula de glicose e uma porção aglicona (não glicídica). Segundo García e Carril (2009) a classificação para os glicosídeos inclui as saponinas, os glicosídeos cardíacos, os glicosídeos cianogênicos e os glicosinolatos.

De acordo com Kar (2007), os glicosídeos podem ser agrupados de acordo com a porção aglicona presente na sua estrutura. Seguindo essa classificação podem ser citados os glicosídeos antracênicos, fenólicos, esteroidais, flavônicos, cumarinos e furanocumarinos, cianogênicos, tioglicosídeos, saponínicos, aldeídicos, amargos dentre outros. Quando os glicosídeos apresentam um grupo sulfidríla, eles recebem o nome de tioglicosídeos (JESCHKE et al., 2015). Análises filogenéticas sugerem que os glicosinolatos compartilham etapas das vias biossintéticas dos glicosídeos cianogênicos (MITHEN et al., 2010) e podem ser precursores das fitoalexinas das crucíferas, que são compostos de defesa dessas plantas contra fungos (PEDRAS e OKINYO, 2008).

Os glicosinolatos são metabólitos secundários cujas propriedades únicas foram observadas no início do século XVII e despertam interesse até os dias atuais. Seus produtos de hidrólise recebem destaque pelas suas propriedades biológicas. Inúmeros estudos têm demonstrado o elevado potencial desses compostos como mecanismo de defesa das plantas contra patógenos e insetos herbívoros (HOPKINS et al., 2009). Outros trabalhos demonstram seu potencial no combate de diversas enfermidades em organismos vivos, como alguns tipos de câncer em seres humanos (FAHEY, 2001).

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é realizar um levantamento bibliográfico atualizado sobre os glicosinolatos, apresentando uma revisão que inclua (i) a diversidade química, (ii) o mecanismo de ativação enzimática e (iii) a atividade biológica dos produtos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico, Diversidade e Estrutura Química

No início do século XVII estudiosos buscavam descobrir quimicamente a origem do sabor picante de determinados alimentos, os quais incluíam algumas brássicas. No final do século XIX (1897), Gadamer propôs uma estrutura para os glicosinolatos, porém sugeria erroneamente que, a cadeia lateral do composto estava ligada ao átomo de nitrogênio e não ao átomo de carbono como se sabe atualmente. Esta foi a primeira estrutura geral adotada para os glicosinolatos e foi considerada correta até o ano de 1956. A partir de então, Ettlinger e Lundeen mostraram, em seus trabalhos, as inadequações estruturais e propuseram uma nova estrutura para estes compostos, além da descrição da primeira síntese química do glicosinolato. Em 1959, Challenger apresentou uma revisão com a descoberta dos glicosinolatos e da enzima mirosinase responsável pela hidrólise dos mesmos (FAHEY et al., 2001).

As plantas podem produzir centenas de milhares de compostos que não são necessários para suas funções primárias, como crescimento, desenvolvimento e reprodução (SCHUMAN e BALDWIN, 2016). Esses compostos são conhecidos como metabólitos secundários e são produzidos ou como adaptação do organismo ao meio circundante, ou com função de defesa. Sua síntese requer a utilização de moléculas simples, como carboidratos, aminoácidos e ácidos graxos, que seriam utilizadas em processos metabólicos fundamentais para a planta como fotossíntese, glicólise e ciclo de Krebs (MAPLESTONE et al, 1992). Esses compostos, cuja produção representa um custo elevado para a planta são fundamentais para a sua defesa contra a herbivoria.

Os metabólitos secundários podem apresentar toxicidade ou agir como deterrentes para os herbívoros (HARTMANN, 2007) e não estão restritos a uma determinada família vegetal. Os glicosinolatos, por exemplo, estão presentes na ordem Capparales que compreende 15 famílias, incluindo Capparaceae, Caricaceae, Resedaceae, Moringaceae e encontram-se, em maior número, na família Brassicaceae, o que tem despertado o interesse de estudos acadêmicos (FAHEY, et al., 2001 e HALKIER e GERSHENSON, 2006).

A família Brassicaceae compreende cerca de 350 gêneros e 3000 espécies geograficamente bem distribuída (FAHEY et al., 2001) com aproximadamente 10 gêneros e 23 espécies no Brasil (FAPESP, 2002). As plantas que representam o gênero *Brassica* são consideradas importantes economicamente e incluem repolho (*Brassica oleracea capitata* L.), couve-de-Bruxelas (*Brassica oleracea* var. *gemmifera* L.), brócolis (*Brassica oleracea*

var. *italica* L.), mostarda negra (*Brassica nigra*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), agrião (*Nasturtium officinale* R. Br) e o rabanete (*Raphanus sativus* L.) (FAHEY et al., 2001 e DAMODARAN et al., 2007).

Os glicosinolatos são β -tioglicosídeos N-hidroxissulfatos com estrutura química geral representada conforme Figura 1(a). Apresentam um esqueleto químico comum e uma cadeia lateral variável derivada de oito aminoácidos proteínogênicos: alanina, leucina, metionina, valina, isoleucina, triptofano, fenilalanina, e tirosina (HALKIER e GERSHENZON, 2006; JACQUOT et al., 2016). Assim, dependendo do aminoácido precursor, o grupamento indicado pela letra R identifica um substituinte com diferentes estruturas químicas possíveis.

De acordo com Holst e Williamson (2004) e Padilla et al., (2007), os glicosinolatos podem ser classificados em grupos segundo as características dos aminoácidos dos quais se originaram. As principais classes de glicosinolatos são: alifáticos (grupos alquil, alquênil, hidroxialquil, ω -metiltioalquil, ω -sulfinil, ω -sulfonilalquil, derivados da metionina, leucina, isoleucina, valina ou alanina), heterocíclicos ou indólicos (derivados do triptofano) ou aromáticos (grupos benzil ou benzil substituído, derivados da tirosina e da fenilalanina). Três exemplos de substituição da cadeia lateral, denominados sinigrina (2-propenil ou alil glicosinolato), sinalbina (4-hidroxibenzil glicosinolato) e 4-metoxiglicobrassicina (4-metoxi-3-indolilmetil glicosinolato), são mostradas, respectivamente, nas Figuras 1(b), 1(c) e 1(d).

Duas destas formas (sinigrina e sinalbina) foram sintetizadas pela primeira vez no século XIX e desde então muitas estruturas químicas foram identificadas (FAHEY et. al, 2001. JESCHKE, et. al, 2015).

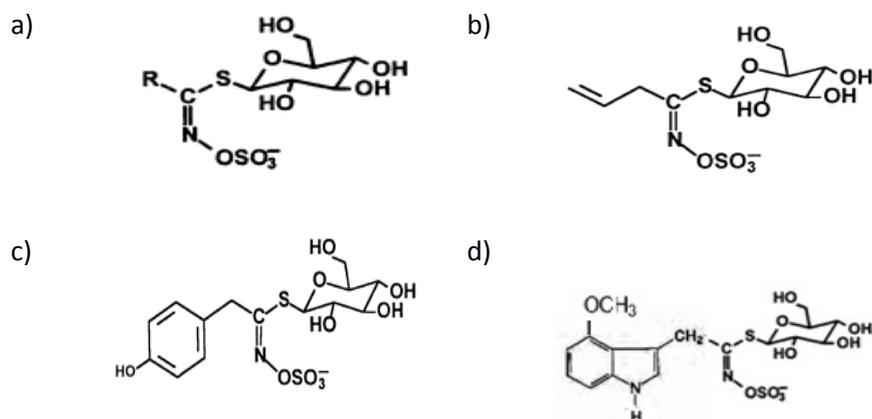


Figura 1. Estrutura química do glicosinolato com cadeia lateral variável agrupada em três classes principais: a) forma geral, (b) alifático, (c) aromático e (d) indólico (Adaptado de FAHEY et al., 2001).

A cadeia lateral dos glicosinolatos alifáticos possui diferentes estruturas diferenciando-se pela presença de átomos de enxofre e oxigênio (S, SO e SO₂), pelo tipo de cadeia (linear e ramificada), pela presença de insaturações (olefinas) e de grupos funcionais como alcoóis de cadeia linear e/ou ramificada (insaturada e saturada) e cetonas de cadeia linear. A estrutura aromática possui um radical benzil substituído ou não. A forma indólica se

dá quando a substituição da cadeia lateral consiste em um anel benzênico condensado a um anel pirrólico. (FAHEY et al., 2001 e JACQUOT et al., 2016).

Atualmente são conhecidos cerca de 150 tipos de glicosinolatos encontrados nos vegetais da família Brassicaceae, número este que vem crescendo com o decorrer do tempo. Acredita-se que ainda exista uma quantidade significativa de estruturas ainda não identificadas (NAVARRO et al., 2011 e AGERBIRK e OLSEN., 2012).

O perfil de glicosinolatos é um traço característico de cada espécie vegetal. A concentração e o tipo de glicosinolato presente nos alimentos variam entre espécies, cultivos, partes da planta e estágio de desenvolvimento e são afetados pela fertilidade do solo e por condições climáticas como temperatura entre outros fatores (FAHEY et al., 2001, BROWN et al., 2003 e HALKIER e GERSHENZON, 2006). Os tecidos mais jovens possuem uma concentração maior de glicosinolatos em relação aos tecidos maduros (VERHOEVEN et al.1997; BROWN et al., 2003 e HOLST e WILLIAMSON, 2004). A Tabela a seguir apresenta as quantidades identificadas para algumas classes de plantas crucíferas.

Tabela 1. Teor de glicosinolatos presente em alguns vegetais crucíferos.

Alimento cru (porção de 50g)	Quantidade de glicosinolato (mg)
Agrião de Jardim	196
Mostarda Verde	141
Couve de Bruxelas	118
Rábano	80
Agrião	51
Nabo	46
Couve	46
Repolho Sabóia	39
Repolho Vermelho	32
Brócolis	31
Couve-Rábano	23
Couve-Flor	22

Adaptada de: McNaughton et al., 2003.

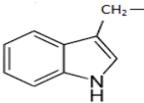
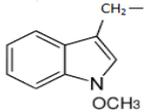
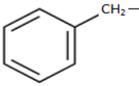
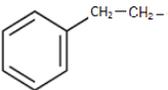
Vale ressaltar, que um fator importante a ser considerado na disponibilidade dos produtos dos glicosinolatos é o cozimento, processo comumente utilizado para o consumo dessas hortaliças. As altas temperaturas a que são submetidos os alimentos em geral, podem diminuir a disponibilidade dos produtos, já que a enzima responsável pela hidrólise e formação dos mesmos é inativada sob estas condições. (SONG e THORNALLEY, 2007).

O paladar humano identifica que os alimentos fonte de glicosinolatos possuem sabor e odor característicos definidos como pungente ou picante. Este fato se deve à presença do grupo sulfato na estrutura do glicosinolato que condiciona um caráter ácido muito acentuado a esses alimentos (BENNET et al., 1994).

Cada aminoácido precursor dos glicosinolatos dá origem a um tipo diferente de estrutura da cadeia lateral que é encontrado em uma fonte alimentar específica. Por exemplo, o brócolis – amplamente consumido em várias partes do mundo –, apresenta alta concentração dos glicosinolatos glicorafanina, glicoberina, glicobrassicina, 4-metoxiglicobrassicina e neoglicobrassicina (SONG e THORNALLEY, 2007; VAN EYLEN et al. 2008). O repolho apresenta o glicosinolato glicobrassicina enquanto que na couve de Bruxelas, o glicosinolato progoitrina é predominante (DAMODARAN et al., 2007). De acordo com (PADILLA et al., 2007), as estruturas principais encontradas no nabo são gliconapina e a glicobrassicinapina. Para o rabanete são três os glicosinolatos principais: [glicosinolato de 4-(metilsulfinil) butila], glicorafanina e [glicosinolato de 4-(metilsulfinil) 3-butenila], glicorafenina, nas sementes, e glicosinolato de 4-(metiltio)-3-butenila, presente na raiz (IPPOUSHI et al., 2007).

Algumas estruturas são mostradas na Tabela 2, abaixo, enfatizando a cadeia lateral e os nomes (trivial e sistemático), para os glicosinolatos alifáticos, indólicos e aromáticos respectivamente (VIG et al., 2009).

Tabela 2. Diferentes estruturas para a cadeia lateral dos glicosinolatos e sua respectiva nomenclatura.

Designação Comum	Nomenclatura e Estrutura Química da Cadeia Lateral R
Glicobrassicinapina	$\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 -$ (4-pentenil)
Progoitrina	$\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CH} - \text{CH}_2 -$ OH [(2R)-2-hidroxi-3-butenil]
Glicocerucina	$\text{CH}_3 - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 -$ (4-metiltiobutil)
Glicorafanina	$\text{CH}_3 - \text{S} = \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 -$ (4-metilsulfinilbutil)
Glicobrassicina	 (3-indolilmetil)
Neoglicobrassicina	 (N-metoxi-3-indolilmetil)
Glicotropaeolina	 (Benzil)
Gliconasturcina	 (2-feniletil)

Adaptada de VIG et al., 2009.

As estruturas dos produtos majoritariamente formados a partir da hidrólise dos glicosinolatos, os isotiocianatos, apresentam cadeia lateral idêntica à dos glicosinolatos de que se originaram se diferenciando pelo grupamento $\text{N}=\text{C}=\text{S}$ que o identifica conforme mostra Figura 2.

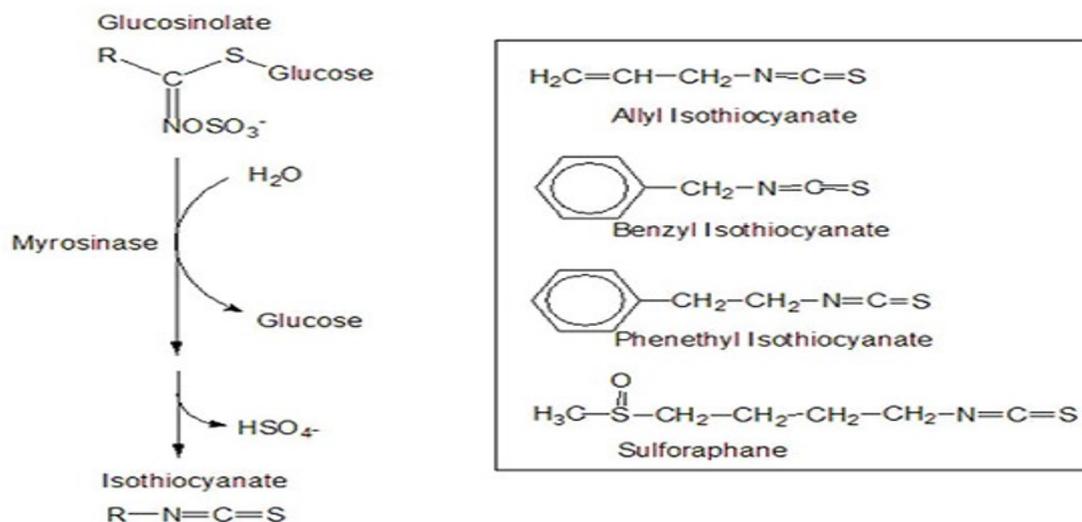


Figura 2. Alguns tipos de isotiocianatos derivados de diferentes glicosinolatos. (Adaptado de FAHEY et al., 2001).

3.2 Biossíntese

A biossíntese dos glicosinolatos acontece a partir de aminoácidos precursores produzidos no metabolismo primário. Iarc (2004) e Redovniković et al., (2008) mostraram que a biossíntese ocorre em três etapas, sendo possível identificar e caracterizar cada uma.

A primeira etapa consiste no alongamento da cadeia lateral do aminoácido de partida. Este é um α aminoácido (configuração dada em relação à posição do grupo amino) que para a maioria dos glicosinolatos é metionina. Uma reação de desaminação é gerada, onde ocorre a retirada do grupamento amino (NH_2) formando um α -cetoácido. Este sofre três modificações na sua estrutura – condensação, isomerização e descarboxilação oxidativa –, onde a adição de um metileno leva à formação de um novo cetoácido (ácido 2-oxo), com a cadeia alongada. O ciclo de modificações do α -cetoácido pode ser repetido até nove vezes levando a um alongamento consecutivo da cadeia ou o ácido pode receber um grupamento amino originando um novo aminoácido (com a cadeia alongada) e dar sequência à formação do glicosinolato (Figura 3) (IARC, 2004, REDOVNIKOVÍĆ et al., 2008, HALKIER e GERSHENZON, 2006).

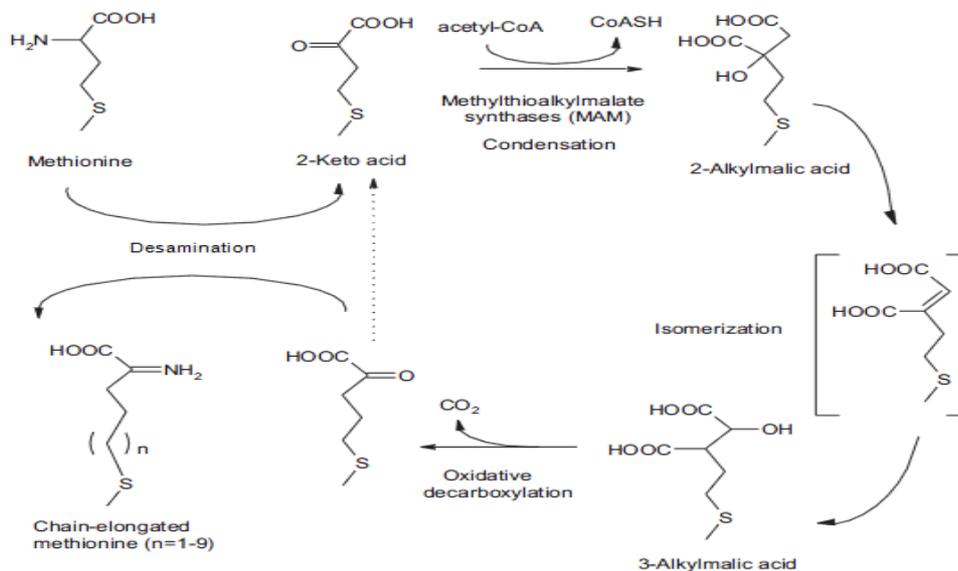


Figura 3. Etapa de alongamento da cadeia lateral da metionina para a biossíntese dos glicosinolatos (REDOVNIKOVIĆ et al., 2008).

Na segunda etapa da biossíntese, a estrutura nuclear do glicosinolato é formada. Os dois passos iniciais desta via tem como catalisadores duas enzimas das famílias CYP79 e CYP83, pertencentes à superfamília citocromo P450 (REDOVNIKOVIĆ et al., 2008).

Por fim modificações secundárias são realizadas na cadeia lateral do glicosinolato com estrutura central já formada. Essas modificações incluem oxidação, hidroxilação, glicosilação, dessulfatação, etc. A rota biossintética mostrada na Figura 4, para o glicosinolato inclui os estudos de Fahey et al., (2001) e Redovniković et al., (2008)

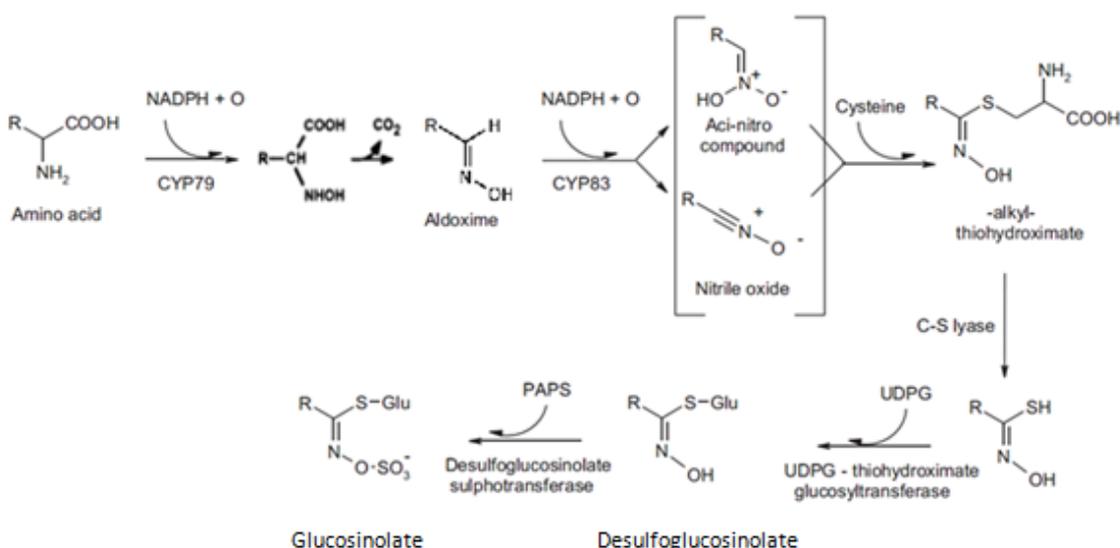


Figura 4. Rota da biossíntese dos glicosinolatos. (Adaptado de REDOVNIKOVIĆ et al., 2008).

A figura 4 apresenta a esquematização das etapas de biossíntese dos glicosinolatos. Várias fontes demonstram o mesmo roteiro de síntese química, na qual o primeiro passo a

ser considerado é a *N*-hidroxilação do aminoácido precursor. Para cada tipo de glicosinolato há um aminoácido precursor. Assim, para a biossíntese de um glicosinolato alifático parte-se dos aminoácidos alanina, metionina, valina, leucina ou isoleucina; para um glicosinolato aromático, fenilalanina ou tirosina, e por fim, para se obter um glicosinolato indólico o aminoácido precursor é o triptofano (JACQUOT et al, 2016, FAHEY et al, 2001, JESCHKE, 2015).

Em seguida, ocorre a formação de uma aldoxima pela descarboxilação do aminoácido *N*-hidroxilado. A oxidação desta aldoxima forma intermediários e, em seguida há adição de um grupo sulfidril (SH⁻), fornecido pela cisteína. Assim é formado o tiohidroximato de *S*-alquila, que possui resíduo aminoacídico que, após quebra da ligação C-S por uma C-S liase (β -liase cisteíno-*S* conjugase) produz o ácido tiohidroxâmico. A UDPG (UDP-Glicose ou Uridina difosfato glicose) é uma molécula doadora que adiciona ao ácido tiohidroxâmico um grupo glicosil, catalisada pela enzima tiohidroximato glicosiltransferase gerando o dessulfoglicosinolato. Por fim a PAPS (3'fosfoadenosina-5'fosfosulfato) que é um doador ativo de sulfato, através da dessulfoglicosinolato sulfotransferase promove a sulfatação e dá origem ao glicosinolato intacto (FAHEY et al., 2001; HALKIER e GERSHENZON, 2006; JACQUOT et al., 2016 e JESCHKE, 2015).

3.3 Mecanismo de Ativação Enzimática

Os glicosinolatos são substâncias estáveis estocadas nos vacúolos celulares das plantas. Em *Arabidopsis thaliana*, planta modelo pertencente à família Brassicaceae, os glicosinolatos são armazenados em células diferenciadas, adjacentes ao floema, conhecidas como células S (ricas em enxofre), onde também é armazenado o ascorbato (ZHAO et al., 2008). Quando os tecidos foliares são danificados por maceração, trituração ou outra qualquer outra forma de injúria, os glicosinolatos são liberados (SONG e THORNALLEY, 2007) e entram em contato com uma enzima armazenada em compartimentos celulares conhecidos como células de mirosina ou em células-guarda. (ANDREASSON e JORGENSEN, 2003; DAMODARAN et al., 2007). Tanto as células S quanto as células da mirosina são chamadas de idioblastos, que são células secretoras contendo vacúolos ricos em proteínas. As células de mirosina se localizam no parênquima do floema de diversos tecidos como folhas, caules e inflorescências (ANDREASSON e JORGENSEN, 2003; HOLST e WILLIAMSON, 2004).

A enzima responsável pela hidrólise dos glicosinolatos é denominada mirosinase (ou tioglicosidase). As mirosinases pertencem à família 1 das enzimas glicosídeo hidrolases e apresentam estrutura tridimensional e características semelhantes às *O*-glicosidases. Sua estrutura é estabilizada por pontes dissulfeto e por ligações de hidrogênio. São altamente glicosiladas e sua porção glicosídica pode corresponder a 20% da sua massa molecular

total. A glicosilação aumenta a estabilidade da enzima e impede sua inativação pelos produtos de hidrólise que são muito reativos. A cristalografia de raios-X da mirosinase aponta o ascorbato como um co-fator essencial para a sua atividade, mesmo em concentrações milimolares da enzima (BURMEISTER et al., 2000). As mirosinases são codificadas por uma família multigênica, variando entre as espécies de plantas. É o único tipo de β -tioglicosidase conhecida na natureza e apresenta especificidade para os glicosinolatos. Algumas mirosinases hidrolisam diversos glicosinolatos enquanto outras são altamente específicas (BONES e ROSSITER, 1996; RASK et al., 2000 e HALKIER e GERSHENZON, 2006). Possui como resíduos catalíticos apenas um dos aminoácidos ASP/GLU. A cadeia lateral R dos glicosinolatos é hospedada num bolso de ligação presente na enzima que é hidrofóbica. De acordo com a *The Enzymes Commission of the International Union of Biochemistry* lhe é conferida a designação EC 3.2.1.147 (DAMODARAN et al., 2007).

O sistema glicosinolato-mirosinase recebe o nome de “bomba de óleo de mostarda” Essa “bomba” é detonada quando enzima e substrato são lançados das células onde estão armazenados e entram em contato. Nesse momento, ocorre a hidrólise da ligação β -tioglicosídica dos glicosinolatos, resultando numa molécula de glicose e uma aglicona instável que sofre um rearranjo espontâneo em produtos altamente reativos (RATZKA, 2002).

O tipo de produto formado depende da estrutura da cadeia lateral aminoacídica, de proteínas específicas, de cofatores metálicos, das condições ambientais, do órgão da planta onde o glicosinolato está acumulado, do estágio de desenvolvimento da planta e, especialmente, do pH (JESCHKE et al, 2015). Entre os produtos formados podem ser citados os isotiocionatos, nitrilas simples, epitionitrilas, cianeto e tiocianato (Figura 5). Sozinhos, ou combinados, esses produtos apresentam função anti-herbívora e as propriedades defensivas e de deterrência já foram identificadas contra pássaros, coelhos, moluscos, insetos generalistas e patógenos de plantas (HOPKINS et al., 2009, JESCHKE et al., 2015). Após a clivagem da ligação glicosídica, é originado um intermediário reativo instável, denominado tioidroximato-O-sulfonato. Esta é a porção aglicona que se rearranja para formar os produtos finais de hidrólise.

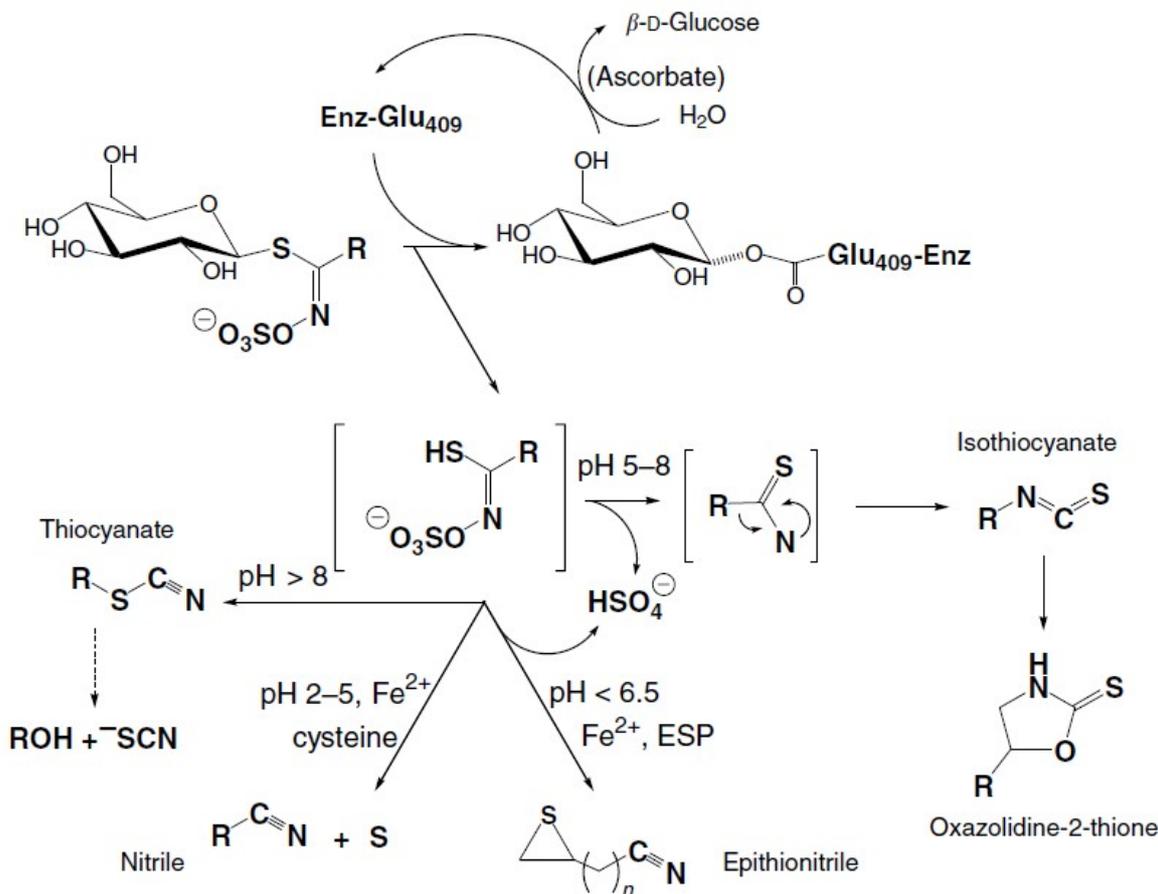


Figura 5. Hidrólise dos glicosinolatos por ação da enzima mirosinase e seus respectivos produtos (DAMODARAN et al., 2007).

Majoritariamente os isotiocianatos se formam numa faixa de pH 5-8 por meio de um rearranjo espontâneo de Lossen. A toxicidade dos isotiocianatos é atribuída à sua natureza eletrofílica e lipofílica. Essas características permitem que os isotiocianatos atravessem as membranas celulares e alcancem o ambiente intracelular. Neste momento, eles se tornam reativos para alguns nucleófilos como a glutatona (GSH) e alguns resíduos de aminoácidos das proteínas, principalmente cisteínas e lisinas no pH fisiológico. Ligações covalentes entre os isotiocianatos e a estrutura de algumas proteínas podem alterar sua função e levar à redução ou perda total da atividade enzimática e até mesmo iniciar algumas vias sinalizadoras relacionadas ao estresse (MI et al., 2011).

Porém, a dependência da cadeia lateral (R) do intermediário é significativa, já que se a mesma possuir uma ligação dupla e uma proteína epitioespecífica se apresentar no meio, um novo rearranjo é possível originando uma epitionitrila (IARC, 2004).

Uma nitrila é formada quando o intermediário tioidroximato-O-sulfonato é deficiente de uma ligação dupla e o enxofre pode ser perdido. A formação de tiocianatos é considerada, porém o mecanismo para esta formação ainda é desconhecido. Quando a cadeia lateral dos glicosinolatos é β -glicosilada, oxazolidina-2-tionas são formadas por ciclização espontânea (IARC, 2004).

Na formação dos glicosinolatos indólicos, o isotiocianato formado a partir do intermediário é instável e degrada o álcool correspondente que pode se condensar a 3,3'-diindolilmetano. (IARC, 2004).

3.4 Atividade Biológica dos Produtos de Hidrólise

Os fitoquímicos são alvo de estudos científicos há vários anos e, ultimamente, o número de pesquisas tem aumentado devido às descobertas de propriedades biológicas associadas a esses compostos. De modo geral, os metabólitos secundários de plantas podem ser usados tanto no tratamento de enfermidades dos seres humanos quanto nos mecanismos de defesa de plantas a insetos e patógenos, entre outros. Por exemplo, os alimentos fonte de glicosinolatos possuem ação antioxidante e anti-carcinogênica nos seres humanos e atuam no controle da apoptose nas plantas (MORENO et al. 2006). A hidrólise enzimática fornece vários produtos, entre os quais são predominantes os isotiocianatos (ITCs) seguidos das nitrilas, epitionitrilas e tiocianatos (HOLST e WILLIAMSON, 2004).

À exceção do ITCs, os demais produtos da hidrólise dos glicosinolatos não apresentam atividade na defesa direta das plantas, contudo sua função biológica ainda não é totalmente compreendida (JESCHKE et al., 2015). Quando comparadas aos ITCs, as nitrilas apresentam baixa toxicidade e sua função principal estaria associada à defesa indireta das plantas da família Brassicaceae. Sua liberação atrairia determinados parasitóides de larvas de lepidópteros, reduzindo a carga herbívora sobre a planta hospedeira (WITTSTOCK et al., 2003).

A estrutura química da cadeia lateral (R) aminoacídica determina as características físico-químicas e biológicas dos ITCs (IARC, 2004) e a quantidade de produtos liberados após a hidrólise enzimática determina a intensidade da atividade biológica dos mesmos (JESCHKE et al., 2015). Glicosinolatos alifáticos, após hidrólise, originam ITCs como produtos principais. Estudos realizados com plantas de *A. thaliana* expressando glicosinolatos alifáticos, indólicos e benzênicos, demonstraram que seus produtos, especialmente os ITCs interferem no desenvolvimento de algumas espécies de insetos herbívoros (MÜLLER et al., 2010).

Alguns glicosinolatos têm sido apontados como potenciais agentes anti-carcinogênicos em diversos modelos animais devido à capacidade dos produtos formados apresentarem ação antioxidante por induzirem as enzimas de detoxificação da fase II (quinona oxidases, glutathione S-transferases e glicuronosil-S-transferases) atuando no combate/prevenção contra radicais livres (HOLST e WILLIAMSON, 2004; HALKIER e GERSHENZON, 2006 e RAZIS et al., 2010). Os ITCs se destacam, principalmente, pelo seu papel quimiopreventivo (em especial contra o câncer de próstata), além de apresentar efeito

positivo no controle da diabetes, em problemas cardiovasculares dentre outras (FIMOIGNARI, et al., 2012).

Um mecanismo considerado “chave” para a atividade do isotiocianato no organismo humano é, a reação de um resíduo do carbono eletrofilico do isotiocianato com nucleófilos biológicos. O caráter lipofílico desses compostos permite sua passagem pelas membranas celulares e sua reação com componentes celulares (FIMOIGNARI et al., 2012; JESCHKE et al., 2015).

O câncer é uma das doenças que mais mata pessoas no mundo. Seu desenvolvimento consiste em três fases, respectivamente, iniciação, promoção e progressão (INCA, 2004). Os ITCs agem de forma direta ou indireta, inibindo as enzimas da fase I e induzindo as da fase II (MORENO et al., 2006). Assim, os compostos atuam sobre o estágio de iniciação da doença ou podem impedir a promoção e a progressão do câncer (FIMOIGNARI et al., 2012).

A hidrólise do glicosinolato glicorafanina (4-metilsulfinilbutil glicosinolato), presente no brócolis resulta no isotiocianato sulforafano (4-metilsulfinil isotiocianato) que recebe atenção especial no que diz respeito ao seu potencial de indução das enzimas da fase II, prevenindo o crescimento do tumor por bloquear o ciclo celular e promover a apoptose (THORNALLEY, 2002; RAZIS et al., 2010), embora iberina, feniletil-isotiocianato e o prop-2-enil-isotiocianato também exerçam tal função (BELLOSTAS N., 2007; ADESIDA A., 1996; WALLIG M.A., 1998). O sulforafano também apresenta ação potencial no tratamento da gastrite causada pela bactéria *Helicobacter pylori* que pode evoluir a câncer de estômago (HALKIER e GERSHENZON, 2006). O consumo elevado de brássicas estaria correlacionado ao decréscimo do risco de diversos tipos de câncer, dentre eles, pulmão, estômago, cólon, reto, endométrio, ovário e próstata (HAYES et al., 2008; RAZIS et al., 2010). Contudo, estudos adicionais em humanos ainda são necessários (SPITZ, 2000).

Embora os ITCs sejam compostos benéficos para os seres humanos, para os insetos considera-se que são compostos ofensivos à vida dos mesmos. Porém, apesar da alta toxicidade para esses insetos herbívoros, eles desenvolveram mecanismos bioquímicos capazes de amenizar ou até mesmo aniquilar o efeito tóxico dos ITCs. Os insetos especialistas não sentem, portanto, tanta influência dos glicosinolatos e sim dos ITCs. Como mecanismo de defesa dos próprios insetos, eles se adaptaram de algumas maneiras, a fim de que pudessem se alimentar sem se comprometer. Acredita-se que lepidópteros especialistas da classe Pieridae tenha desenvolvido adaptações que os permitiram se alimentar em plantas contendo glicosinolatos, aproximadamente 10 milhões de anos após o sistema glicosinolato-mirosinase ser desenvolvido pelas plantas. Para tal, as larvas desses insetos usam uma proteína ativa no seu intestino que alteram a detonação da “bomba de óleo de mostarda” transformando os produtos mais tóxicos, como os isotiocianatos em nitrilas menos tóxicas que são excretadas nas fezes.

Outra estratégia é apresentada pelo inseto fitófago especialista, *Plutella xylostella*, uma mariposa com status de inseto praga dos cultivos de brássica em todo o mundo, pelo gafanhoto *Schistocerca gregaria*, inseto generalista e pelo caracol *Helix pomatia*, um molusco também generalista. Esses animais têm em comum a presença constitutiva de sulfatases no lúmen intestinal como uma adaptação ao consumo de plantas contendo glicosinolatos. A glicosinolato sulfatase (GSS) converte um glicosinolato intacto em um desulfo-glicosinolato que não são substratos para a atividade da mirosinase, que deixam de reconhecer o grupo sulfato no seu sítio de ligação. A GSS também inibe competitivamente a atividade da mirosinase pelo lançamento do grupo sulfato do glicosinolato e possui baixa especificidade pelo substrato, isto é, a GSS rapidamente desulfata glicosinolatos com as mais diversas cadeias laterais (R). Deste modo, especialmente o desenvolvimento de *P. xylostella* não é afetado por qualquer concentração de glicosinolato em suas plantas hospedeiras (LI ET al., 2000; SAROSH et al., 2010).

Insetos herbívoros podem empregar, também, estratégias gerais de detoxificação. Essas estratégias bioquímicas envolvem reações enzimáticas em que os produtos tóxicos obtidos pela hidrólise dos glicosinolatos, de característica lipofílica, são impedidos de atravessar a membrana celular. Esses eventos incluem a introdução de grupos polares a essas moléculas, a conjugação com moléculas carregadas ou fortemente polares ou a excreção desses conjugados para o meio extracelular. Todas essas estratégias exigem a participação de enzimas do complexo do citocromo P450, glicosil ou glicuronosil-transferases ou, ainda, transportadores de membrana. A glutationa-S-transferase é uma das enzimas que desempenham um papel importante nesse processo e são utilizadas por diversos moluscos e insetos não especializados em plantas contendo glicosinolatos (JESCHKE et al., 2015).

Por fim, alguns organismos são capazes de sequestrar os glicosinolatos e utilizá-los para seu próprio benefício como estratégia de defesa contra predadores, se tornando uma “bomba de óleo de mostarda”. Alguns afídeos sequestram os glicosinolatos e os armazenam na hemolinfa e produzem sua própria mirosinase que não apresenta uma sequência primária parecida com a das plantas. Quando sofrem alguma injúria, os produtos da hidrólise são lançados, principalmente os glicosinolatos, e intoxicam os predadores. Essa estratégia requer adaptações que impeçam que o próprio herbívoro se intoxique (MÜLLER 2009, JESCHKE et al., 2015).

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi mostrada a importância dos glicosinolatos não somente para plantas, mas também para os seres humanos, visto que seu produto de hidrólise – isotiocianato - exerce significativa função.

Os metabólitos secundários, em especial os glicosinolatos, são compostos conhecidos por suas propriedades biológicas há vários anos e continuam sendo investigados devido suas aplicações. Possuem várias vantagens na defesa das plantas contra insetos herbívoros, por exemplo, fortalecendo à prática da agricultura sem prejuízos contra algumas pragas. Entretanto, avalia-se a necessidade de combater os insetos que se tornam resistentes aos compostos tóxicos.

Não há dúvidas de que sua atividade biológica nos seres humanos tem mostrado resultados satisfatórios, o que pode despertar maior interesse ainda para os estudos que já foram realizados ou estão em andamento. Novas estruturas podem ser descobertas e um futuro promissor através destes compostos (essencialmente seus produtos de hidrólise) pode ser aguardado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESIDA, A.; EDWARDS, L. G.; THORNALLEY, P. J. **Inhibition of Human Leukaemia 60 Cell Growth by Mercapturic Acid Metabolites of Phenylethyl Isothiocyanate.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 34, pp. 385 - 392, 1996.

AGERBIRK, N.; OLSEN, C. E. **Glucosinolate: Structures in Evolution.** *Phytochemistry*, v. 77, pp. 16 - 45, 2012.

ANDREASSON, E.; JORGENSEN, L. B. **Localization of plant myrosinases and glucosinolates.** *Recent Advances in Phytochemistry*, v. 37, pp. 79 - 99, 2003.

BELLOSTAS, N.; KACHLICKI, P.; SØRENSEN, J. C.; SØRENSEN, H. **Glucosinolate Profiling of Seeds and Sprouts of B. Oleracea Varieties Used for Food.** *Scientia Horticulturae*, v. 114, pp. 234 - 242, 2007.

BENNET, R. N.; WALLSGROVE, R. M. **Secondary Metabolites in Plant Defense Mechanisms.** *New Phytologist*, v. 127, pp.617 - 633, 1994.

BONES, A. M.; ROSSITER, J. T. **The myrosinase-glucosinolate system - an innate defense system in plants.** *Physiologia Plantarum*, v. 97, pp. 194 - 208, 1996.

BROWN, P. D.; TOKUHISA, J. G.; REICHEL, M.; GERSHENZON, J. **Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana***. *Phytochemistry*, v. 63, pp. 471 - 481, 2003.

BURMEISTER, W. P.; COTTAZ, S.; ROLLIN, P.; VASELLA, A.; HENRISSAT, B. **High resolution x-ray crystallography shows that ascorbate is a cofactor for myrosinase and substitutes for the function of the catalytic base**. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 275, pp. 39385 - 39393, 2000.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Fennema's Food Chemistry**. Boca Raton: CRC Press, Fourth Edition. 1160p, 2007.

EMERY, F. S.; SANTOS, G. B.; BIANCHI, R. C. **A Química na Natureza**. Coleção Química no Cotidiano, v. 7. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química. 70p, 2010.

FAHEY, J. W.; ZALCMAN, A. T.; TALALAY, P. **The chemical Diversity and Distribution of Glucosinolates and Isothiocyanates Among Plants**. *Phytochemistry*, v. 56, pp. 5 - 51, 2001.

FIMOGNARI, C.; TURRINI, E.; FERRUZZI, L.; LENZI, M.; HRELIA, P. **Natural Isothiocyanates: Genotoxic Potential Versus Chemoprevention**. *Mutation Research*, v. 750, pp. 107 - 131, 2012.

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - FAPESP. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. v. 2, São Paulo, 2002. Disponível em <http://botanica.sp.gov.br/institutodebotanica/files/2016/06/FFESP-Volume-II_06_24.pdf>. Acesso em 10 Out. 2016.

GARCÍA, A. A.; CARRIL, E. P. **Metabolismo Secundario de Plantas**. *Reduca (Biología)*. *Serie Fisiologia Vegetal*, v.2, n.3, pp.119 -145, 2009.

HALKIER, B. A.; GERSHENZON, J. **Biology and Biochemistry of Glucosinolates**. *Annual Review Plant Biology*, v. 57, pp. 303 - 333, 2006.

HARTMANN, T. **From Waste Products to Ecochemicals: Fifty Years Research of Plant Secondary Metabolism**. *Phytochemistry*, v. 68, pp. 2831 - 2846, 2007.

HAYES, J. D.; KELLEHER, M. O.; EGGLESTON, I. M. **The Cancer Chemopreventive Actions of Phytochemicals Derived from Glucosinolates.** *European Journal of Nutrition*, v. 47, pp. 73 - 88, 2008.

HOLST, B.; WILLIAMSON, G. **A Critical Review of the Bioavailability of Glucosinolates and Related Compounds.** *Natural Products Reports*, v.21, pp. 425 - 447, 2004.

HOPKINS, R. J.; VAN DAM, N. M., VAN LOON, J. J. A. **Role of Glucosinolates in Insect-plant relationships and multithopic Interactions.** *Annual Review of Entomology*, v. 54, pp. 57 - 83, 2009.

IARC HANDBOOKS OF CANCER PREVENTION. **Cruciferous vegetables, isothiocyanates and indoles**, v. 9, 2004.

IPPOUSHI, K.; TAKEUCHI, A.; ITO, H.; HORIE, H.; AZUMA, K. **Antioxidative Effects of Daikon Sprout (*Raphanus sativus* L.) and Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in Rats.** *Food Chemistry*, v. 102, pp. 237 - 242, 2007.

JACQUOT, J.P.; GADAL, P. **Glucosinolates.** *Advances in Botanical Research*: v. 80. Academic Press, Elsevier Ltd, 364p, 2016.

JESCHKE, V.; GERSHENZON, J.; GIDDINGS, V. D. **Metabolism of glucosinolates and their hydrolysis products in insect herbivores.** In R. Jetter (Ed.), *RECENT ADVANCES PHYTOCHEMISTRY: THE FORMATION, STRUCTURE AND ACTIVITY OF PHYTOCHEMICALS*, pp. 163-194. Switzerland: Springer International Publishing, 2015.

KAR, A. **Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology**, *New Age International*, 898p, 2007.

LI, Q.; EIGENBRODE S. D.; STRINGHAM G. R.; THIAGARAJAH M. R. **Feeding and growth of *Plutella xylostella* and *Spodoptera eridania* on *Brassica juncea* with varying glucosinolate concentrations and myrosinase activities.** *Journal of Chemical Ecology*, v. 26, pp. 2401 - 2419, 2000.

MAPLESTONE, R. A.; STONE, M. J.; WILLIAMS, D. H. **The Evolutionary Role of Secondary Metabolites – A Review.** *Gene*, v.115, pp. 151 - 157, 1992.

MCNAUGHTON, S. A.; MARKS, G. C. **Development of a food composition database for the estimation of dietary intakes of glucosinolates, the biologically active constituents of cruciferous vegetables.** *British Journal of Nutrition.*, v. 90, pp. 687 - 697, 2003.

MI, L.; DI PASQUA, A. J.; CHUNG, F. L. **Proteins as binding targets of isothiocyanates in cancer prevention.** *Carcinogenesis*, v. 32, pp. 2333 - 2349, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA. COORDENAÇÃO NACIONAL DE CONTROLE DE TABAGISMO - CONTAPP. **"Falando Sobre Câncer e Seus Fatores de Risco"**. Rio de Janeiro, 1996. Disponível em http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=319. Acesso em 27 Jan. 2017.

MITHEN, R.; BENNETT, R.; MARQUEZ, J. **Glucosinolate Biochemical Diversity and Innovation in the Brassicales.** *Phytochemistry*, v. 71, pp. 2074 - 2086, 2010.

MORENO, D. A.; CARVAJAL, M.; LÓPEZ-BERENGUER, C.; GARCÍA-VIGUERA, C. **Chemical and Biological Characterization of Nutraceutical Compounds of Broccoli: A Review.** *Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis*, v. 41, pp. 1508 - 1522, 2006.

MÜLLER, C. **Interactions Between Glucosinolate- and Myrosinase-Containing Plants and the Sawfly *Athalia Rosae*.** *Phytochemistry Review*, v. 8, pp. 121 - 134, 2009.

MÜLLER, R.; DE VOS, M.; SUN J. Y.; SØNDERBY, I. E.; HALKIER, B. A.; WITTSTOCK, U.; JANDER, G. **Differential effects of indole and aliphatic glucosinolates on lepidopteran herbivores.** *Journal of Chemical Ecology*, v. 36, pp. 905 - 913, 2010.

NAVARRO, S. L.; LI, F.; LAMPE, J. W. **Mechanisms of action of isothiocyanates in cancer chemoprevention: an update.** *Food and Function*, v. 2, pp. 579 - 587, 2011.

PADILLA, G.; CARTEA, M. E.; VELASCO, P.; HARO, A.; ORDA'S, A. **Variation of Glucosinolates in Vegetable Crops of *Brassica rapa*.** *Phytochemistry*, v. 68, pp. 536 - 545, 2007.

PEDRAS, M. S. C.; OKINYO, D. P. O. **Remarkable incorporation of the first sulfur containing indole derivative: another piece in the biosynthetic puzzle of crucifer phytoalexins.** *Organic e Biomolecular Chemistry*, v. 6, pp. 51 - 54, 2008.

RASK, L.; ANDREASSON, E.; EKBOM, B.; ERIKSSON, S., PONTOPPIDAN, B.; MEIJER, J. **Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae.** *Plant Molecular Biology*, v. 42, pp. 93 - 113, 2000.

RATZKA, A.; VOGEL, H.; KLIEBENSTEIN, D. J.; MITCHELL-OLDS, T.; KROYMANN, J., **Disarming the Mustard Oil Bomb.** *Proceedings of National Academics of Sciences USA*, v. 99, pp. 11223 - 11228, 2002.

RAZIS, A. F. A.; BAGATTA, M.; NICOLA, GINA R. De.; IORI, R.; IONANNIDES, C. **Intact glucosinolates modulate hepatic cytochrome P450 and phase II conjugation activities and may contribute directly to the chemopreventive activity of cruciferous vegetables.** *Toxicology*, v. 277, pp. 74 - 85, 2010.

REDOVNIKOVIĆ, I. R.; GLIVETIĆ, T.; DELONGA, K.; VORKAPIĆ-FURAČ, J. **Glucosinolates and Their Potential Role in Plant.** *Period. Biol.* v. 110, pp. 297 - 309, 2008.

SAROSH, B. R.; WITTSTOCK, U.; HALKIER B. A.; EKBOM, B. **The influence of Metabolically Engineered Glucosinolates Profiles in *Arabidopsis Thaliana* on *Plutella xylostella* Preference and Performance.** *Chemoecology*, v. 20, pp. 1 - 9, 2010.

SCHUMAN, M. C.; BALDWIN, I. T. **The Layers of Plant Responses to Insect Herbivores.** *Annual Review of Entomology*, v. 61, pp. 373- 394, 2016.

SONG, L.; THORNALLEY, P. J. **Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetables.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 45, pp. 216 - 224, 2007.

SPITZ, M. R.; DUPHORNE, C. M.; DETRY, M. A.; PILLOW, P. C.; AMOS, C. I.; LEI, L.; ANDRADE, M. De; GU, X.; HONG, W. K.; WU, X. **Dietary intake of Isothiocyanates: Evidence of a Joint Effect Glutathione-S-Transferase Polymorphisms in Lung Cancer Risk.** *Cancer Epidemiology Biomarkers and Preview*. v. 9, pp. 1017 - 1020, 2000.

THORNALLEY, P. J. **Isothiocyanates: Mechanism of Cancer Chemopreventive Action.** *Anti-Cancer Drugs* v.13, pp. 331 - 338, 2002.

VAN EYLEN, D.; BELLOSTAS, N.; STROBEL, B. W.; OEY, I.; HENDRIX, M.; VAN LOEY, A.; SØRENSEN, H.; SØRENSEN, J. C. **Influence of pressure/temperature treatments on**

glucosinolate conversion in broccoli (*Brassica oleracea L. cv Italica*) Heads, *Food Chemistry*, v. 112, pp. 646 - 653, 2009.

VERHOEVEN, D. T.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R. A.; VAN DEN BRANDT, P. A.; VAN POPPEL, G. **Review of Mechanisms Underlying Anticarcinogenicity by Brassica Vegetables.** *Chemico- Biological Interactions*, v.103, pp. 79 - 129, 1997.

VIG, A. P.; RAMPAL, G.; THIND, T. S.; ARORA, S. **Bio-Protective Effects of Glucosinolates – A Review.** *LWT - Food Science and Technology*, v.42, pp. 1561 - 1572, 2009.

WALLIG, M. A.; KINGSTON, S.; STAACK, R.; JEFFERY, E. H. **Induction of Rat Pancreatic GlutathioneS-Transferase and Quinone Reductase Activities by a Mixture of Glucosinolate Breakdown Derivatives found in Brussels Sprouts.** *Food and Chemistry Toxicology*, v. 36, pp. 365 - 373, 1998.

WITTSTOCK, U.; KLIEBENSTEIN, D. J.; LAMBRIX, V.; REICHEL, M.; GERSHENZON, J. **Glucosinolate hydrolysis and its impact on generalist and specialist insect herbivores.** *Recent Advances in Phytochemistry*, v. 37, pp. 101 - 125, 2003.