

- Chromatographia* 10 (8): 397-403, 1977.
- <sup>6</sup> K. Grob Jr., G. Grob e K. Grob. Comprehensive, standardized quality test for glass capillary columns. *J. Chromatogr.* 156, 1-20 (1978).
- <sup>7</sup> K. Grob, G. Grob e K. Grob Jr. Testing capillary gas chromatographic columns. *J. Chromatogr.* 219, 13-20, 1981.
- <sup>8</sup> K. Grob e G. Grob. Capillary columns with very thick coatings. *J. High Res. Chromatogr. & Chromatogr. Comm.* 6 (3): 133-139 (1983).
- <sup>9</sup> W.A. König e W. Günther. The use of glass capillary columns for the analysis of polar natural products. Em W. Bertsch *et al.*, eds. *Recent Advances in capillary gas chromatography* VII. Heidelberg, Dr. Alfred Hüthling Verlag, 1982. p. 361-374.
- <sup>10</sup> M.A. Moseley e E.D. Pellizzari. Development and evaluation of wall coated open tubular columns for GC analysis of individual polychlorinated biphenyl isomers. *J. High Res. Chromatogr. & Chromatogr. Comm.* 5 (8): 404-412 (1982).
- <sup>11</sup> M.A. Moseley e E.D. Pellizzari. Polysiloxane deactivated fused silica capillaries containing immobilized phases. *J. High Res. Chromatogr. & Chromatogr. Comm.* 5 (9): 472-475 (1982).

## DIVULGAÇÃO

### A OBTENÇÃO DE PRODUTOS QUÍMICOS POR CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS

Affonso do Prado Seabra

*Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais*  
 CSS - UFRJ - Bloco H - Cid. Universitária; 21941 - Rio de Janeiro (RJ)

Recebido em: 16/04/85

A imprensa leiga revela um apetite inesgotável pelos assuntos ligados à biotecnologia. É natural que o setor da reprodução humana (os chamados "bebês de proveta") receba a maior cobertura. No entanto, não faltam artigos sobre o impacto da biotecnologia sobre a agricultura. É a "segunda revolução verde". O campo de Fitoquímica não é de grande popularidade, no entanto os artigos aparecem e com uma dose exagerada de fantasia. A revista *SOUTH* (outubro, 1984) não se contenta em retirar da química extrativa alguns produtos nobres como a quinina, a morfina e o piretro, mas chega a anunciar a produção "in vitro", em larga escala, do cacau e da sacarose. Esses artigos procuram se revestir de credibilidade através da citação freqüente de declarações de cientistas. O que os jornalistas parecem ignorar é que muitos cientistas estão ligados a empresas e diretamente interessados na flutuação dos valores de suas ações.

A feitura de um trabalho de revisão bibliográfica deste campo encontra assim uma real dificuldade: grande volume do que está sendo feito não está sendo publicado. Dezenas de milhões de dólares estão sendo investidos nesta linha de trabalho através das novas "empresas de pesquisa" que funcionam voltadas para os pedidos de patentes e os segredos, sem que seus resultados aflorem nas revistas científicas. Apesar disso, suficiente trabalho aparece publicado para permitir uma avaliação da realidade e uma visão crítica sobre o noticiário fantasioso.

Para tal revisão bibliográfico foi necessário adotar um critério limitativo. Uma revisão do estudo fitoquímico de culturas de tecidos teria que abranger muitas centenas de

publicações. Procuramos abordar apenas os estudos que já partiam de um interesse específico bem definido. Desta forma, nosso levantamento não ultrapassou uma centena de publicações.

Organizamos a bibliografia agrupando os trabalhos conforme o produto de interesse. Um mesmo produto pode reunir variadas origens vegetais, como é o caso da escopolamina. Para efeito de discussão não obedecemos à mesma divisão. Procuramos abordar todo o conjunto de trabalhos sob alguns aspectos gerais que nos parecem de maior relevância.

#### 1 - DADOS ESTATÍSTICOS

Noventa e uma publicações examinadas podem ser agrupadas conforme os produtos visados:

ALCALÓIDES DO TROPANO	—	18
CATHARANTHUS	—	16
DIOSGENINA	—	8
DIGITALIS	—	6
GINSENG	—	5
ALCALÓIDES QUINAZOLIDÍNICOS	—	5
NICOTINA	—	4

QUININA – PIRETRO – ANTRAQUINONAS – ANTOCIANINAS – CONVOLÁCEAS – ANTIBIÓTICOS	–(3 trabalhos cada um)
BERBERINA – SOLASODINA OPIO – MONOTERPENOS – DOPA ESTROFANTINA – ESTERÓIDES	–(2 trabalhos)
TEBAÍNA – ALCALÓIDES ANTITUMOR – MENTA – FLAVONÓIDES	–(1 trabalho)

Sob o ponto de vista geográfico encontramos que os E.U., Alemanha e Japão apresentam, cada um, um quarto do número de publicações. Logo em seguida vem o Canadá, com 11% dos trabalhos. Seguem-se a Índia, Inglaterra, Holanda e Israel.

## 2 – USO DE FERMENTADORES

Na procura de produtos fitoquímicos bem determinados, poucos estudos foram realizados somente sobre o calo. A grande maioria utilizou culturas em suspensão em meio líquido, sem agar, agitadas continuamente. Alguns trabalhos foram feitos com os clássicos fermentadores usados em bacteriologia<sup>40,92,93</sup> enquanto outros descrevem fermentadores de vidro especialmente desenvolvidos para o trabalho com células vegetais<sup>94,98</sup>. Nos trabalhos mais recentes a injeção de ar filtrado reúne as funções de aeração com a agitação, dispensando agitadores mecânicos.

## 3 – ENCONTRO DOS PRODUTOS EM ESTUDO

Dos vinte e cinco tópicos estudados pode-se afirmar que em vinte e dois o produto desejado foi encontrado nas culturas de tecidos. Falemos sobre os três casos de exceção.

Cerca de noventa alcalóides já são conhecidos no *Catharanthus roseus*. Reunindo dezesseis publicações, vamos encontrar que mais de quarenta daqueles alcalóides já foram isolados de cultura de tecidos. O caso especial é o da serpentina, extremamente abundante nessas culturas, muito acima do teor normal na planta. Ocorre que a motivação para tanto trabalho sobre o *Catharanthus* é, sem dúvida, a procura dos dois alcalóides dímeros (vinblastina e vincristina) de extremo valor terapêutico e comercial. Nenhum alcalóide dímero foi, até hoje, detectado em cultura de tecidos. É importante lembrar que o teor da planta nesses dímeros é extremamente reduzido. Sob esse prisma, a cultura de *Catharanthus* tem sido total desapontamento. No entanto, do ponto de vista acadêmico o encontro de quarenta alcalóides é indiscutível sucesso.

Na cultura de *Papaver somniferum* foram encontrados os alcalóides do grupo da narcotina e narceína. No entanto, nenhum membro do grupo fenantrênico (morfina, codeína e tebaína) foi encontrado<sup>88</sup>.

O outro caso negativo é o da estrofantina. Foi isolada toda uma série de glicosídeos extremamente próxima dos conhecidos no *Apocynum cannabinum*. No entanto, ne-

nhum dos produtos conhecidos do *Strophanthus* foi conseguido<sup>87</sup>.

Afora estes três casos especiais, pode-se afirmar, baseado nos vinte e três outros grupos de trabalhos, que as culturas de tecidos produziram os produtos pesquisados.

## 4. CURVAS DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO

A dosagem do produto químico em estudo ao longo do crescimento das culturas mostrou a existência de dois comportamentos bem distintos. Bom número de trabalhos indicou um paralelismo entre os dois fenômenos. O teor do produto cresce paralelamente com a multiplicação celular. Foi o caso da quinina, do piretro, monoterpenos, dopa, solasodina, estigmasterol e glicosídeos do ginseng.

Outro grupo apresenta um comportamento completamente diverso: Não há formação do produto durante o crescimento celular. Somente quando o meio está completamente esgotado em seus nutrientes e acaba a multiplicação celular, é que começa a síntese do produto. É o caso da diosgenina, escopolamina, antraquinonas, antocianinas e alcalóides antitumorais.

Em muitos trabalhos não são oferecidos os dados para o enquadramento em um desses grupos (*Catharanthus*, digitalis, nicotina, lupanina, convolvuláceas, opio, estrofantina e berberina).

Um caso especial, que parece único, é o da tebaína, que aparece em bom rendimento no início da cultura de *Papaver bracteatum*, mas desaparece à medida em que a cultura se desenvolve<sup>85</sup>.

## 5. A DIFERENCIAÇÃO CELULAR

A cultura de tecidos vegetais é iniciada, na maioria dos casos, com a formação de um "calo". O calo é um crescimento de células não diferenciadas. Elas se reproduzem com relativa rapidez e acabam por cobrir toda a superfície do meio de cultura. O uso de hormônios vegetais pode conduzir a que, do calo, surjam células diferenciadas da parte aérea (caule e folhas) ou de raízes da planta. Em um número grande de trabalhos a cultura é feita em duas etapas, isto é, a diferenciação celular depende da troca do meio de cultura. No entanto é comum a diferenciação no meio original com a formação de microplantas completas a partir do calo. Um caso especial é o de plantas com forte tendência ao enraizamento. Formam-se culturas sem calo e sem parte aérea, só raízes, como uma cabeleira que ocupa todo o meio.

No estudo fitoquímico de culturas de tecidos a diferenciação celular é um fator fundamental. Existem, a bem da verdade, casos em que o calo já apresenta o produto em estudo. É o caso da nicotina, antraquinonas, antocianinas, alcalóides do opio e monoterpenos. Na maioria dos casos, no entanto, somente após a diferenciação celular é que surge a síntese dos produtos em estudo. Tal ocorre com a digitalis, alcalóides do tropano, a quinina, o piretro, a solasodina, o ginseng e muitos outros. Para contrariar a regra existe

um caso excepcional, o da diosgenina, que é mais abundante no calo do que na cultura diferenciada de *Dioscorea*.

## 6. SECREÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PARA O MEIO

Na grande maioria dos estudos fitoquímicos de culturas, as células de calos ou tecidos diferenciados são rigorosamente secos, geralmente por liofilização e extraídos por solventes. No entanto, a literatura registra casos em que as substâncias em estudo são solubilizadas nos meios de cultura. É o caso dos alcalóides do tropano, da quinina, da lupanina e dos alcalóides "tipo ergot" de Convolvuláceas.

## 7. TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS POR CULTURAS DE TECIDOS

Não é grande a literatura sobre o uso de culturas vegetais na transformação de precursores. No entanto os poucos trabalhos mostram que esta linha de investigação promete um grande interesse. A adição de precursores aumenta a produção de alcalóides do tropano. A própria hiosciamina adicionada ao meio é convertida em escopolamina<sup>17</sup>. O estudo mais eloqüente é a total transformação de digitoxina em digoxina<sup>48</sup>.

## 8. TEOR DAS CULTURAS

É extremamente frustrante o fato de que muitos dos trabalhos não permitem um confronto entre o teor do produto em estudo na planta original e nas culturas de tecidos. Em alguns fica bem claro que o teor atingido é bem reduzido (quinina, lupanina, tebaína). Há, no entanto, muitos trabalhos em que o teor relativo ao peso seco de tecidos é muito mais elevado nas culturas. É o caso dos glicosídeos do digitalis, do ginseng, da solasodina, berberina e escopolamina. Um caso extremo já foi referido, o da serpentina nas culturas de *Catharanthus*, que é excepcionalmente elevado em relação à planta original.

## 9. PERSPECTIVAS ECONÔMICAS

Descontadas as fantasias jornalísticas em torno da produção "in vitro" de dendê, cacau e outras grandes culturas, fica a séria indagação se a cultura de tecidos poderá se tornar uma operação industrial em larga escala para a produção de produtos químicos. É muito provável que a resposta seja positiva para os casos que combinarem dois fatores: a) sucesso tecnológico e b) alto valor específico.

Para a escopolamina, diosgenina, solasodina e piretro os resultados técnicos conhecidos são francamente positivos. É duvidoso, no entanto, que esses produtos sejam suficientemente valiosos ao ponto de justificarem esse tipo de operação. Por outro lado, a digoxina é uma forte candidata. É voz corrente nos círculos empresariais que os enormes investimentos dos japoneses no campo da produção de alcalóides antitumorais estão na única dependência da apro-

vação do uso clínico desses alcalóides pela FDA americana. O assunto é muito envolvido em segredos mas é fácil imaginar que o valor específico desses alcalóides justifique tais investimentos. Por outro lado, o insucesso no encontro dos alcalóides dímeros do *Catharanthus* não pode ser tomado como definitivo em se tratando de um campo tão novo e de evolução muito rápida.

## BIBLIOGRAFIA

### ALCALÓIDES DO TROPANO

- 1 Bonner, J. — *Am. J. Bot.*, **27**, 692-701 (1940).
- 2 Bonner, J. — *Bot. Gaz.*, **103**, 581-585 (1942).
- 3 Overbeek, J.V., Siu, R. e Haagen-Smit, A.J. — *Am. J. — Am. J. Bot.*, **31**, 219-224 (1944).
- 4 French, D.I. e Gibson, M.R. — *J. Am. Pharm. Ass.*, **46**, 151-155 (1957).
- 5 Bothner-By, A.A., Schutz, R.S., Danson, R.F. e Solt, M.L. — *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 52-54 (1962).
- 6 Sullivan, G. e Gibson, M.R. — *J. Pharm. Sci.*, **53**, 1058-1063 (1964).
- 7 Guha, S. e Maheshwari, S.C. — *Nature*, **212**, 97-98 (1966).
- 8 Jindra, A. e Staba, E.J. — *Phytochemistry*, **7**, 79-82 (1968).
- 9 Staba, E.J. e Jindra, A. — *J. Pharm. Sci.*, **57**, 701-704 (1968).
- 10 Bhandary, S.B.R., Collins, H.A., Thomas, E. e Street, H.E. — *Ann. Bot.*, **33**, 647-656 (1969).
- 11 Romeike, V.A. — *Biochem. Physiol. Pflanzen*, **162**, 1-8 (1971).
- 12 Tabata, M., Yamamoto, H., Hiraoka, N. e Konoshima, M. — *Phytochemistry*, **11**, 949-955 (1972).
- 13 Hiraoka, N. e Tabata, M. — *Phytochemistry*, **13**, 1671-1675 (1974).
- 14 Kibler, R. e Neumann, K.H. — *Planta Médica*, **35**, 354-359 (1979).
- 15 Griffin, W.J. — *Naturwissenschaften*, **66**, 58 (1979).
- 16 Verzar-Petri, G. — *Planta Médica*, **39**, 286 (1980).
- 17 Hashimoto, T. e Yamada, Y. — *Planta Médica*, **47**, 195-199 (1983).
- 18 Koul, S., Ahuja, A. e Grewal, S. — *Planta Médica*, **47**, 11-16 (1983).

### CATHARANTHUS

- 19 Carew, D. — *J. Pharm. Sci.*, **55**, 1153-1154 (1966).
- 20 Patterson, B.D. e Carew, D. — *Lloydia*, **32**, 131-140 (1969).
- 21 Carew, D. e Krueger, R. — *Lloydia*, **40**, 326-336 (1977).
- 22 Kurz, W.G.W., Chatson, K.B. e Constable, F. — *Helv. Chim. Acta*, **63**, 1891-1896 (1980).
- 23 Kurz, W.G.W., Chatson, K.B., Constable, F., Kutney, J., Chol, L.S.L., Kolodziejczyk, P., Sleight, S.K., Stuart, K.L. e Worth, B.R. — *Phytochemistry*, **19**, 2583-2587 (1980).
- 24 Kutney, J.P., Choi, L.S., Kolodziejczyk, P., Sleight, S.K., Stuart, K.L., Worth, B.R., Kurz, W.G.W., Chatson, K.B. e Constable, F. — *Phytochemistry*, **19**, 2589-2595 (1980).

- <sup>25</sup> Hiraoka, N. e Carew, D. — *Planta Médica*, **39**, 282 (1980).
- <sup>26</sup> Kohl, W., Vogelmann, H. e Hofle, G. — *Planta Médica*, **39**, 283 (1980).
- <sup>27</sup> Kurz, W.G.W., Chatson, K.B., Constable, F., Kutney, J.P., Choi, L.S.L., Kolodziejczyk, P., Sleight, S.K. e Stuart, K.L. — *Planta Médica*, **39**, 284 (1980).
- <sup>28</sup> Stöckigt, J. — *Planta Médica*, **39**, 285-286 (1980).
- <sup>29</sup> Stöckigt, J. e Soll, H.J. — *Planta Médica*, **40**, 22-30 (1980).
- <sup>30</sup> Balsevicj, J., Constable, F. e Kurz, W.G.W. — *Planta Médica*, **44**, 231-233 (1982).
- <sup>31</sup> Krueger, R.J., Carew, D.P., Lui, J.H.C. e Staba, E.J. — *Planta Médica*, **45**, 56-57 (1982).
- <sup>32</sup> Pfitzner, U. e Zenk, M.H. — *Planta Médica*, **46**, 10-14 (1982).
- <sup>33</sup> Kohl, W., Witte, B. e Hofle, G. — *Planta Médica*, **47**, 177-182 (1983).
- <sup>34</sup> Neumann, D., Krauss, G., Hieke, M. e Gröger, D. — *Planta Médica*, **48**, 20-23 (1983).

#### DIOGENINA

- <sup>35</sup> Kaul, B. e Staba, E.J. — *Lloydia*, **31**, 171-179 (1968).
- <sup>36</sup> Kaul, B., Stohs, S.J. e Staba, E.J. — *Lloydia*, **32**, 347-359 (1969).
- <sup>37</sup> Khanna, P. e Jain, S.C. — *Lloydia*, **36**, 96-97 (1973).
- <sup>38</sup> Heble, M.R. e Staba, E.J. — *Planta Médica*, **38**, Suplemento 124-128 (1980).
- <sup>39</sup> Heble, M.R. e Staba, E.J. — *Planta Médica*, **38**, Suplemento 120-123 (1980).
- <sup>40</sup> Tal, B. e Goldberg, I. — *Planta Médica*, **44**, 107-110 (1982).
- <sup>41</sup> Tal, B., Gressel, J. e Goldberg, I. — *Planta Médica*, **44**, 111-115 (1982).
- <sup>42</sup> Aminuddin e Chowdhury, A.R. — *Planta Médica*, **48**, 92-93 (1983).

#### DIGITALIS

- <sup>43</sup> Medora, R.S., Tsao, D.P.N. e Albert, L.S. — *J. Pharm. Sci.*, **19**, 760-766 (1967).
- <sup>44</sup> Kaul, B., Wells, P. e Staba, E.J. — *J. Pharm. Pharmac.*, **19**, 760-766 (1967).
- <sup>45</sup> Medora, R., Kosegarten, D.C., Tsao, D.P.N. e Feo, J.J. — *J. Pharm. Sci.*, **56**, 540-541 (1967).
- <sup>46</sup> Heins, M., Wahl, J., Lerch, H., Kaiser, F. e Reinhard, E. — *Planta Médica*, **33**, 57-62 (1978).
- <sup>47</sup> Diettrich, B., Neumann, D. e Luckner, M. — *Planta Médica*, **38**, 375-382 (1980).
- <sup>48</sup> Alfermann, A.W., Schuller, I. e Reinhard, E. — *Planta Médica*, **39**, 281 (1980).

#### GINSENG

- <sup>49</sup> Watanabe, K.A., Wempen, I. e Fox, J.J. — *Chem. Pharm. Bull.* **18**, 2371-2372 (1970).
- <sup>50</sup> Furuya, T., Kojima, H., Syono, K., Ishii, T., Votani, K. e Nishio, M. — *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 98-101 (1973).
- <sup>51</sup> Furuya, T., Yoshikawa, T., Orihara, Y. e Oda, H. —

*Planta Médica*, **48**, 83-87 (1983).

- <sup>52</sup> Furuya, T., Yoshikawa, T., Ishii, T. e Kajii, K. — *Planta Médica*, **47**, 183-187 (1983).
- <sup>53</sup> Furuya, T., Yoshikawa, T., Ishii, T. e Kajii, K. — *Planta Médica*, **47**, 200-204 (1983).

#### ALCALÓIDES QUINOLIZIDÍNICOS

- <sup>54</sup> Wink, M., Witte, L., Schiebel, H.M. e Hartmann, T. — *Planta Médica*, **38**, 238-245 (1980).
- <sup>55</sup> Hartmann, T., Wink, M., Schoofs, G. e Teichmann, S. — *Planta Médica*, **39**, 282 (1980).
- <sup>56</sup> Wink, M., Witte, L. e Hartmann, T. — *Planta Médica*, **43**, 342-352 (1981).
- <sup>57</sup> Wink, E., Schiebel, H.M., Witte, L. e Hartmann, T. — *Planta Médica*, **44**, 15-20 (1982).
- <sup>58</sup> Wink, M., Witte, L., Hartmann, T., Theuring, C. e Volz, V. *Planta Médica*, **48**, 253-257 (1983).

#### NICOTINA

- <sup>59</sup> Solt, M.L., Dawson, R.F. e Christman, D.R. — *Plant. Physiol.* **35**, 887-894 (1960).
- <sup>60</sup> Tabata, M., Yamamoto, H., Hiraoka, N., Marumoto, Y. e Konoshima, M. — *Phytochemistry*, **10**, 723-729 (1971).
- <sup>61</sup> Neumann, V.D. e Muller, E. — *Biochem. Physiol. Pflanzen*, **162**, 503-513 (1971).
- <sup>62</sup> Tabata, M. e Hiraoka, N. — *Physiol. Plant.*, **38**, 19-23 (1976).

#### QUININA

- <sup>63</sup> Krieger, T.M., Verpoorte, R. e Suedsen, A.B. — *Planta Médica*, **44**, 237-240 (1982).
- <sup>64</sup> Krieger, M., Verpoorte, R., Graaf, Y.P., Kreek, M.V. e Suendsen, A.B. — *Planta Médica*, **46**, 15-18 (1982).
- <sup>65</sup> Krieger, M., Verpoorte, R., Water, A., Gessel, M.V., Oeveren, B.C.J.A. e Suendsen, A.B. — *Planta Médica*, **46**, 19-24 (1982).

#### PIRETRINAS

- <sup>66</sup> Jain, S.C. — *Planta Médica*, **31**, 68-70 (1977).
- <sup>67</sup> Cashyap, M.M., Kueh, J.S.H., Mackenzie, I.A. e Pattenden, G. — *Phytochemistry*, **17**, 544-545 (1978).
- <sup>68</sup> Zieg, R.G., Zito, S.W. e Staba, E.J. — *Planta Médica*, **48**, 88-91 (1983).

#### ANTRAQUINONAS

- <sup>69</sup> Wilson, G. e Marron, P. — *Exp. Bot.*, **29**, 837-851 (1978).
- <sup>70</sup> Takahashi, S., Kitanaka, S., Takido, M., Ebizuka, Y., Sankawa, U., Hoson, M., Kobayashi, M. e Shibata, S. — *Planta Médica*, **33**, 389-392 (1978).
- <sup>71</sup> Berg, A.J.J. e Labadie, R.P. — *Planta Médica*, **41**, 169-173 (1981).

## ANTOCIANINAS

- <sup>72</sup> Constabel, F., Shyluk, J.P. e Gamborg, O.L. — *Planta Médica*, **96**, 306-316 (1971).  
<sup>73</sup> Stickland, R.G. e Sunderland, N. — *Ann. Bot.*, **36**, 443-475 (1972).  
<sup>74</sup> Dougall, D.K. e Weyrauch, K.W. — *Biotechnology and Bioengineering*, **22**, 337-352 (1980).

## CONVOLVULÁCEAS (ALCALÓIDES)

- <sup>75</sup> Robbers, J.E., Cheing, L.J., Dhawale, M., Hong, S. e Srikai, S. — *Planta Médica*, **39**, 285 (1980).  
<sup>76</sup> Veliky, I.A. e Martin, S.M. — *Can. J. Microbiol.*, **16**, 223-226 (1970).  
<sup>77</sup> Staba, E.J. e Laursen, P. — *J. Pharm. Sci.* **55**, 1099-1101 (1966).

## ANTIMICROBIANOS

- <sup>78</sup> Steck, W., Gamborg, O.L. e Bailey, B.K. — *Lloydia*, **36**, 93-95 (1973).  
<sup>79</sup> Wolters, B. e Eilert, U. — *Planta Médica*, **43**, 166-174 (1981).  
<sup>80</sup> Tabata, M., Tsukada, M. e Fukui, H. — *Planta Médica*, **44**, 234-236 (1982).

## BERBERINA

- <sup>81</sup> Ikuta, A., Kunihiko, S. e Furuya, T. — *Phytochemistry*, **14**, 1209-1210 (1975).  
<sup>82</sup> Ikuta, A. e Itokawa, H. — *Planta Médica*, **39**, 283 (1980).

## SOLASODINA

- <sup>83</sup> Uddin, A. e Chaturvedi, H.C. — *Planta Médica*, **37**, 90-92 (1979).  
<sup>84</sup> Puri, R.K. e Shukla, D.C. — *Planta Médica*, **36**, 142-149 (1979).

## TEBAINA

- <sup>85</sup> Kamimura, S., Akutsu, M. e Nishikawa, M. — *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 913-919 (1976).

## ESTERÓIDES

- <sup>86</sup> Waller, G.R., Mangiafico, S., Foster, R.C. e Lawrence,

R.H. — *Planta Médica*, **42**, 344-355 (1981).

## ESTROFANTINA

- <sup>87</sup> Lee, P.K., Carew, D.P. e Rosazza, J. — *Lloydia*, **35**, 150-156 (1972).

## PAPAVER SOMNIFERUM

- <sup>88</sup> Morris, P. e Fowler, M.W. — *Planta Médica*, **39**, 284 (1980).

## MONOTERPENOS

- <sup>89</sup> Naketa, K., Ohnishi, Y., Hirose, T. e Sugisawa, H. — *Phytochemistry*, **22**, 423-425 (1983).

## ALCALÓIDES ANTITUMOR (CEPHALOTAXUS)

- <sup>90</sup> Delfel, N. — *Planta Médica*, **39**, 168-179 (1980).

## DOPA

- <sup>91</sup> Sasamoto, H.O. e Komanine, A. — *Planta Médica*, **49**, 120-123 (1983).

## USO DE FERMENTADOR BACTERIOLÓGICO

- <sup>92</sup> Dougall, D.K. e Weyrauch, K.W. — *Biotechnology and Bioengineering*, **22**, 337-352 (1980).  
<sup>93</sup> Lee, P.K., Carew, D.P. e Rosazza, J. — *Lloydia*, **35**, 150-156 (1972).

## FERMENTADORES ESPECIAIS

- <sup>94</sup> Kurz, W.G.W. — *Exptl. Cell Res.*, **64**, 476-479 (1971).  
<sup>95</sup> Tulecke, W. e Nickell, L.G. — *Trans. N.Y. Acad. Sci.*, **22**, 196-206 (1960).  
<sup>96</sup> Tulecke, W. e Nickell, L.G. — *Science*, **130**, 863-864 (1959).  
<sup>97</sup> Wang, C.J. e Staba, E.J. — *J. Pharm. Sci.*, **52**, 1058-1062 (1963).  
<sup>98</sup> Veliky, I.A. e Martin, S.M. — *Can. J. Microb.*, **16**, 223-226 (1970).