

CONSTITUINTES QUÍMICOS DO CAULE DE *Spathelia excelsa* (RUTACEAE) E ATIVIDADE FRENTE A *Aedes aegypti*

Aline Carvalho de Freitas e Maria da Paz Lima*

Coordenação de Pesquisas em Produtos Naturais, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, CP 478, 69011-970 Manaus - AM, Brasil

Antonio Gilberto Ferreira

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, 13560-970 São Carlos - SP, Brasil

Wanderli Pedro Tadei e Ana Cristina da Silva Pinto

Laboratório de Vetores de Malária e Dengue, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, CP 478, 69011-970 Manaus-AM, Brasil

Recebido em 25/9/08; aceito em 30/4/09; publicado na web em 6/10/09

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE STEMS OF *Spathelia excelsa* (RUTACEAE) AND ACTIVITY AGAINST *Aedes aegypti*. Phytochemical investigation from the stems of *Spathelia excelsa* (Rutaceae) collected in Amazonas yielded deacetylspathelin (1), 7,8-dimethoxyflindersine (2), new glabretal-type triterpenoid 3 β -angeloyl-21,24-epoxy-7 α ,21 α ,23 α ,25-tetrahydroxy-4 α ,4 β ,8 β ,10 β -tetramethyl-25-dimethyl-14,18-cyclo-5 α ,13 α ,14 α ,17 α -cholestane (3), in addition to the known steroids β -sitosterol and stigmasterol. Their structures were established on the basis of spectral data. The compounds 1 and 3 were assayed on *Aedes aegypti* (larvicidal and adulticidal activities and compound 3 exhibited larvicidal properties with LC₅₀ of 4,8 μ g/mL.

Keywords: *Spathelia excelsa*; *Aedes aegypti*; adulticidal and larvicidal activities.

INTRODUÇÃO

Spathelia é o único gênero da subfamília Spatheliodeae (Rutaceae), representado por 15 espécies distribuídas principalmente no Norte da América do Sul.¹ Investigações fitoquímicas são reportadas para as espécies *Spathelia* sp.,² *S. sorbifolia*,^{2,3} *S. wrightii*,⁴ *S. glabrencens*² e *S. excelsa*,⁵ descrevendo o isolamento de piranocromonas, alcaloides derivados do ácido antranfílico e limonoides com anéis A/D seco. No Brasil, este gênero está representado pela espécie *Spathelia excelsa* (Krause) Cowan & Brizicky [sin. *Sohnroyia excelsa* K.], conhecida como Surucucumirá, uma planta hapaxanta ou monocárpica que ocorre no Amazonas.⁶ A ocorrência de limonoides em membros de *Spathelia* nos motivou a investigação em *S. excelsa* na busca de atividade frente a *Aedes aegypti*.

Os limonoides, de forma geral, são relatados pelo potencial inseticida principalmente para o controle de pragas,⁷ apresentando poucos registros de ensaios com insetos vetores de doenças. Entre os insetos de importância epidemiológica destaca-se o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae); vetor responsável pela transmissão do vírus da febre amarela e de quatro sorotipos de dengue.⁸ No Brasil, este vetor foi erradicado e reintroduzido várias vezes e, assim, o dengue tornou-se um dos principais problemas de saúde pública nos últimos anos.⁹ A transmissão ocorre principalmente pela picada da fêmea infectada e este vetor tem desenvolvido resistência aos inseticidas químicos utilizados, estimulando assim a busca por inseticidas naturais, com baixa toxicidade. Algumas substâncias oriundas da flora brasileira, tais como amidas isoladas de *Piper nigrum*,¹⁰ terpenos e fenilpropanoides de *Myroxylon balsamum*,¹¹ saponinas triterpênicas de *Pentaclethra maculoba*¹² e diterpenos de *Copaifera reticulata*¹³ foram relatadas pelo potencial larvicida em *A. aegypti*.

Neste trabalho reportamos a investigação química do caule de *S. excelsa* e avaliamos a atividade inseticida (larva e adulto) dos limonoides em *Aedes aegypti*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato metanólico do caule de *S. excelsa* foi submetido a fracionamento cromatográfico fornecendo uma mistura de esteroides (β -sitosterol e estigmasterol), o limonoide desacetilspathelina (1), o alcaloide 7,8-dimetoxiflindersina (2) e o novo triterpeno glabretal ou protolimonoides (3). As estruturas destas substâncias foram identificadas pelas análises dos dados espectroscópicos obtidos e comparação com os previamente descritos na literatura.

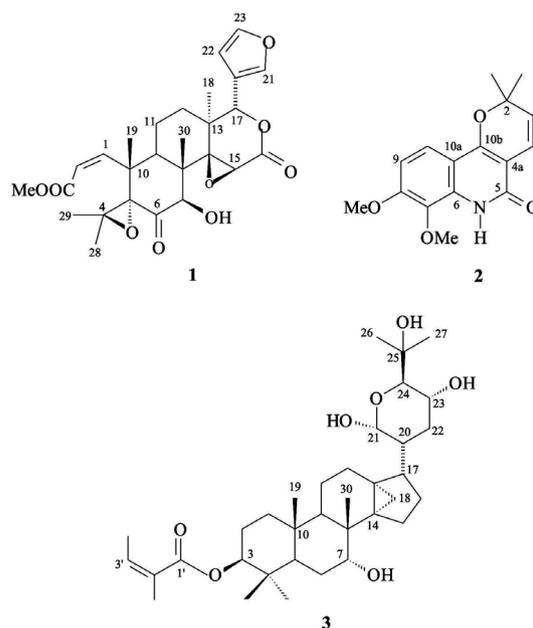


Figura 1. Substâncias obtidas do caule de *Spathelia excelsa*

A substância 1 foi identificada como desacetilspathelina por comparação dos seus dados espectrais obtidos para este limonoide previamente descritos nas folhas de *S. excelsa*.¹⁴ O espectro de IV do alcaloide 2 apre-

*e-mail: mdapaz@inpa.gov.br

sentou bandas de estiramento para grupos N-H (3135 cm^{-1}) e carbonila de amida (1644 cm^{-1}). O espectro de RMN ^1H mostrou dois sinais para hidrogênios aromáticos em relação de acoplamento *orto* ($J = 8,8\text{ Hz}$) em δ 6,84 e 7,57. Adicionalmente, dois dubletos em δ 5,50 e 6,68 com $J = 10,0\text{ Hz}$ foram atribuídos a uma ligação dupla e a presença de sinais relativos a duas metilas [1,53 (s), 1,49 (s)] indicou a existência do anel pirano. As atribuições dos dados de RMN para esta substância (Tabela 1) foram realizadas pela análise dos mapas de contorno de HSQC e HMBC. O experimento de HSQC não mostrou correlação do hidrogênio em δ 8,73 (s), sugerindo a sua ligação com o átomo de nitrogênio. Os derivados de flindersina ocorrem em espécies de Rutaceae e são relatados como 7-metoxiflindersina^{2,15} e 8-metoxiflindersina,^{16,17} sendo este o primeiro registro do isolamento de 7,8-dimetoxiflindersina.

O espectro de IV de **3** apresentou bandas de absorção características de hidroxila (3410 cm^{-1}) e de éster α,β -insaturado (1705 cm^{-1}). A fórmula molecular $\text{C}_{35}\text{H}_{56}\text{O}_7$ foi proposta com base no espectro de massas (ESI-EM) pela presença do íon m/z 611 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, aliado aos dados de RMN. No espectro de RMN ^1H , a presença de sinais relativos a seis metilas na região entre δ 1,54-0,86 em adição aos dubletos observados em δ 0,87 ($J = 5,2\text{ Hz}$) e 0,63 ($J = 5,2\text{ Hz}$) característicos de ciclopropano foi indicativo de triterpeno do tipo glabretal. De fato, o experimento de HSQC mostrou a correlação destes hidrogênios em dubletos com o carbono metileno em δ 15,01. No espectro de RMN ^1H a ocorrência de $7\alpha\text{-OH}$ foi indicada pela presença de um singleto largo em δ 3,92 (H- β) e a cadeia lateral evidenciada pelos sinais observados em δ 5,86 (sl, H-21), 4,49 (sl, H-23) e 4,10 (sl, H-24), além de suas correlações com os deslocamentos químicos dos carbonos em δ 94,71; 66,87 e 73,70, respectivamente, no mapa de contorno de HSQC. O experimento de correlação à longa distância (HMBC) mostrou correlações que justificaram a presença de 21,24-epoxi-21,23,25-tri-hidroxi na cadeia lateral: hidrogênio em δ 5,86 (H-21) com os carbonos em δ 31,99 (3J , C-22) e 73,70 (3J , C-24), hidrogênio em δ 4,10 (H-24) com os carbonos em δ 66,87 (2J , C-23), 73,80 (2J , C-25), 27,61 (3J , C-26) e 94,71 (2J , C-21) e em δ 4,49 (C-23) com δ 73,70 (2J , C-24) e 31,99 (2J ,

C-22) (Tabela 2). A presença do grupo aneloil em C-3 foi evidenciada pelos sinais de hidrogênios em δ 5,98; 2,06 e 1,95 cujos deslocamentos dos carbonos foram observados em δ 137,76 (C-3'), 15,74 (Me-5'), 21,41 (Me-4'), além da carbonila em δ 168,08 (C-1').

Triterpenos ou protolimonoides do tipo 14,18-cicloapoefano, com a presença de 21,24-epoxi-23,25-di-hidroxi na cadeia lateral foram identificados previamente nas espécies de Meliaceae, *Dysoxylum muelleri*¹⁸ e *Aglaia crassinerva*.¹⁹ Por comparação dos dados espectrais, o triterpeno **3** distingue-se de aglaiaglabretol A¹⁹ pela presença do grupo aneloil ao invés de carbonila e de uma hidroxila extra na cadeia lateral (C-21) com deslocamento químico de carbono hemiacetal em δ 94,71, compatível para orientação α do grupo hidroxi. Assim, os dados permitem caracterizar o triterpeno como 3 β -aneloiloil-21,24-epoxi-7 α ,21 α ,23 α ,25-tetra-hidroxi-4 α ,4 β ,8 β ,10 β -tetrametil-25-dimetil-14,18-ciclo-5 α ,13 α ,14 α ,17 α -colestano, descrito pela primeira vez na literatura.

Nos ensaios frente larvas e insetos adultos do *A. aegypti*, o triterpeno **3** apresentou alta toxicidade para larvas do 3º estágio (CL₅₀ 4,8 \pm 1,0 $\mu\text{g/mL}$) e não causou mortalidade e nem alterou o comportamento dos insetos na fase adulta, durante os 90 min de experimento. Embora os limonoides sejam frequentemente reportados pelo potencial inseticida, o limonoide **1** mostrou-se menos ativo (CL₅₀ 69,0 \pm 1,0 $\mu\text{g/mL}$) quando comparado ao triterpeno glabretal.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Spectrum-2000 da Perkin Elmer, utilizando pastilhas de KBr. Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Bruker DRX-400, utilizando-se solventes deuterados na dissolução das amostras e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. O espectro

Tabela 1. Dados de RMN (CDCl_3) da 7,8-dimetoxiflindersina (**2**)

C	HSQC		HMBC		
	δ_c	δ_H ($^1J_{C-H}$)	δ_H ($^2J_{C-H}$)	δ_H ($^3J_{C-H}$)	δ_H ($^4J_{C-H}$)
2	79,08		H-3, 2a-Me, 2b-Me	H-4	
3	125,32	5,50 (d; 10 Hz)		2a-Me, 2b-Me	
4	117,29	6,68 (d; 10 Hz)			2a-Me, 2b-Me
4a	104,32			H-3	
5	161,13			H-4	
6	132,03			H-10	
7	133,60			H-9, 7-OMe	H-10
8	153,19		H-9	H-10, 8-OMe	
9	107,40	6,84 (d; 8,8 Hz)			
10	118,51	7,57 (d; 8,8 Hz)			
10a	110,15			H-9	
10b	157,14			H-4, H-10	H-3
7-OMe	56,23	3,93 (s)			
8-OMe	60,96	3,95 (s)			
2a-Me	28,26	1,53 (s)		H-3, 2b-Me	H-4
2b-Me	28,26	1,49 (s)		H-3, 2a-Me	H-4
NH		8,37 (s)			

Tabela 2. Dados de RMN (C_5D_5N) do triterpeno **3**

C	HSQC		HMBC		
	δ_c	$\delta_H (^1J_{C-H})$	$\delta_H (^2J_{C-H})$	$\delta_H (^3J_{C-H})$	$\delta_H (^4J_{C-H})$
1	38,23	1,48 (m)		H-3, Me-19	
2	28,07	2,48 (m); 1,60 (m)	H-3		
3	81,34	4,85 (dd; 11,2 e 4,8 Hz)	H-2	H-1, Me-28	
4	37,78		H-3, Me-28, Me-29	H-6	
5	39,81	2,51 (m)	H-6	H-3, Me-28, Me-29	
6	24,58	1,74 (m); 1,68 (m)			H-3
7	74,58	3,92 (sl)	H-6	Me-30	
8	39,02		H-9, Me-30	H-15, H-6, H-18a	
9	44,99	1,44 (m)		H-7, Me-30, Me-19	
10	37,82		H-1, H-9		
11	16,63	1,31 (m)	H-12, H-9		
12	26,05	1,86 (m); 1,63 (m)	H-11	H-9, H-18a	
13	28,19		H-12, H-18a	H-15	H-9
14	39,42		H-18a		
15	28,58	1,93 (m); 1,68 (m)	H-16	H-18a	
16	28,88	1,74 (m)	H-15		
17	46,69	1,93 (m); 1,74 (m)		H-15, H-18b	
18	15,01	0,63 (d; 5,2 Hz) 0,87 (d; 5,2 Hz)		H-15	
19	17,81	0,95 (s)		H-1, H-9	
20	48,32	2,30 (m)	H-21, H-17		
21	94,71	5,86 (sl)		H-24, H-17	
22	31,99	2,13 (m); 1,93 (m)	H-20	H-21, H-24	
23	66,87	4,49 (sl)	H-24, H-22		
24	73,70	4,10 (sl)	H-23	H-21	
25	73,80		H-24, Me-26,27		
26	27,61	1,54 (s)		H-24	
27	28,58	1,54 (s)		H-24, Me-26	
28	26,90	0,99 (s)		Me-29	
29	16,42	0,86 (s)		H-3, Me-28	
30	20,66	1,05 (s)		H-9	
1'	168,08			H-3', H-3, H-5'	H-4'
2'	129,42		H-5'		
3'	137,76	5,98 (m)	H-4'	H-5'	
4'	21,41	1,95 (dl)	H-3'		H-5'
5'	15,74	2,06 (dq; 7,2 e 1,6 Hz)	H-3'		

de massas foi obtido em espectrômetro de massas de baixa resolução da Waters, modelo Quattro LC, com ionização por electrospray. Para as cromatografias em coluna utilizou-se gel de sílica (70-230 e 230-400 mesh, Merck), celulose microcristalina Avicel (Merck) e Sephadex LH-20 (Sigma). Nas análises em camada delgada (CCD) utilizaram-se cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60 (Merck), reveladas com luz UV e solução alcoólica de vanilina/ácido sulfúrico. Para os ensaios biológicos utilizou-se cronômetro Herweg, micropipetas automáticas (Eppendorf) e frascos (Schott, área do cilindro 264,4 cm²).

Material vegetal

O material vegetal (caule) de *Spathelia excelsa* foi coletado na Reserva Adolfo Ducke, no km-26 da Rodovia AM-010 (Manaus-Itacoatiara). Esta espécie foi previamente mapeada e identificada pelo Prof. J. R. Pirani, da Universidade de São Paulo, durante a execução do Projeto Flora da Reserva Adolfo Ducke. A exsiccata de número 4227 utilizada na comparação encontra-se depositada no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus-AM.

Extração e isolamento

Partes do caule (2,8 kg) de *S. excelsa* foram secos em estufa de circulação de ar (40 °C), moídos e submetidos à maceração sucessiva em hexano, diclorometano e metanol. O extrato metanólico (16,6 g) foi inicialmente fracionado em coluna (h x Φ = 23,0 x 4,5 cm), utilizando-se gel de sílica (70-230 mesh), eluída em hexano, Hex:CH₂Cl₂ (1:1), CH₂Cl₂, CH₂Cl₂:MeOH (8:2→1:1) e MeOH, fornecendo 18 frações. As frações 6 (TSM-6) eluídas com CH₂Cl₂:MeOH (7:3), 8 (TSM-8) e 11 (TSM-11), eluídas com CH₂Cl₂:MeOH (6:4→1:1), foram submetidas a novos fracionamentos cromatográficos.

A fração TSM-6 (472 mg), foi filtrada em coluna (h x Φ = 18 x 2,5 cm) de celulose (microcristalina), eluída em hexano (subfr: 1-9) e CH₂Cl₂ (subfr: 9-16). As subfrações agrupadas 2-4 (174,0 mg) forneceram a mistura de β -sitosterol e estigmasterol (18 mg) e as subfrações 6-9 (176 mg) após tratamento com etanol resultaram no isolamento de **1** (22 mg).

A fração TSM-8 (690 mg) foi fracionada em coluna (h x Φ = 39,0 x 1,5 cm) de gel de sílica (230-400 mesh), eluída com CH₂Cl₂, CH₂Cl₂:MeOH e MeOH para fornecer 33 subfrações. O fracionamento das subfrações 12-17 (254 mg) foi efetuado em coluna (h x Φ = 30,0 x 2,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh); eluída com hexano, hex:AcOEt (95:5 → 1:1), CH₂Cl₂ e MeOH para fornecer 43 subfrações sendo a subfração 15 (30 mg), refracionada em coluna de gel de sílica [230-400 mesh; CH₂Cl₂:CH₂Cl₂:AcOEt (99:1 → AcOEt)], para resultar no isolamento de **2** (3 mg).

A fração TSM-11 (6,5 g) foi fracionada em coluna (h x Φ = 21,0 x 3,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh), utilizando-se como eluentes CH₂Cl₂, CH₂Cl₂:Acetona e MeOH para fornecer 37 subfrações. Das subfrações agrupadas 11-24 (109 mg) foi isolado **3** (20 mg) através de filtração em Sephadex (LH-20) com eluição em CH₂Cl₂:MeOH (1:1).

Bioensaio de atividade larvicida e aduítica frente a *Aedes aegypti*

Mosquitos

Os ovos de *Aedes aegypti* foram eclodidos em água potável, com temperatura (23-27 °C) e umidade (50-70%) controladas e as larvas mantidas na colônia estabelecida no Laboratório de Dengue e Malária do INPA, alimentadas com um composto de farinha de peixe e pó de fígado bovino.²⁰

Ensaio larvicida

Amostras das substâncias **1** e **3** foram dissolvidas em DMSO (3 e 4 mg/mL, respectivamente). Retiraram-se alíquotas da solução estoque

em quantidades apropriadas para diferentes concentrações (25 a 150 µg/mL de **1** e 1,63 a 100 µg/mL de **3**) para o volume final de 5,0 mL. Utilizaram-se copos descartáveis com capacidade para 50 mL contendo as amostras dissolvidas em DMSO e a cada solução adicionaram-se 10 larvas de 3º estágio, alimento e água destilada (volume final 5,0 mL). Em todos os ensaios foram mantidos os grupos controles (larvas em DMSO e água destilada). Os ensaios foram feitos em triplicata e a leitura realizada após 24 h, verificando-se o número de larvas mortas.²¹ Os dados obtidos foram lançados em gráfico de probitos da mortalidade x concentração através de programa estatístico *StatsDirect 2.6.6. StatsDirect Limited* para determinação das concentrações letais.

Ensaio aduítica

Os testes com insetos na fase adulta foram realizados segundo metodologia da WHO,²⁰ adaptada. A amostra da substância **3** foi dissolvida em acetona (250 µg/mL) e impregnada em garrafas de vidro. Após a eliminação do solvente a temperatura ambiente, 15 fêmeas adultas de *A. aegypti* foram introduzidas nas garrafas, com auxílio de um capturador. Para avaliação da letalidade, a contagem dos insetos mortos foi verificada a cada 15 min, durante 90 min. Os ensaios foram feitos em triplicata e com experimento controle.

Desacetilspathelina (1)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,40 (m; H-21), 7,39 (m; H-23), 6,37 (m; H-22), 6,21 (d; *J* = 12,4 Hz; H-1), 5,82 (d; *J* = 12,4 Hz; H-2), 5,48 (s; H-17), 5,01 (sl; H-7), 4,15 (s; H-15), 3,12 (dl; H-9), 1,86-1,62 (m; H-11/H12), 1,30 (s; H-29), 1,25 (s; H-19), 1,24 (s; H-18), 1,21 (s; H-28), 0,68 (s; H-30), 3,66 (s; OMe); RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 208,04 (C-6), 167,33 (C-16), 165,98 (C-3), 163,00 (C-1), 142,98 (C-23), 140,98 (C-21), 120,35 (C-20), 118,81 (C-2), 109,98 (C-22), 81,16 (C-7), 70,81 (C-5), 78,08 (C-17), 69,39 (C-4), 67,00 (C-14), 51,82 (OMe), 51,40 (C-15), 45,75 (C-9), 45,02 (C-10), 44,57 (C-8), 37,79 (C-13), 32,82 (C-12), 28,98 (C-28), 22,62 (C-19), 21,36 (C-11), 20,25 (C-18), 19,69 (C-29), 12,45 (C-30).

7,8-Dimetoxifindersina (2)

IV $v_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3135, 2979, 2939, 1644, 1613, 1501, 1492, 1409, 1362, 1286, 1115, 1089, 1061, 888, 791, 690; RMN (¹H: 400 MHz; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃); HSQC e HMBC (400/100 MHz, CDCl₃), Tabela 1.

3 β -Angeloil-21,24-epoxi-7 α ,21 α ,23 α ,25-tetra-hidroxi-4 α ,4 β ,8 β ,10 β -tetrametil-25-dimetil-14,18-ciclo-5 α ,13 α ,14 α ,17 α -colestano (3)

Sólido amorfo: [α]_D²⁵ + 23,47⁰ (piridina); IV $v_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3410, 3273, 2939, 1710, 1696, 1435, 1391, 1267, 1152, 1024, 983, 775, 636; EM (ESI) 611 [M + Na]⁺, 571 [M + H - H₂O]⁺; COSY (400 MHz, C₅D₅N): 5,98 (H-3') → 2,06 (H-5') e 1,95 (H-4'), 5,86 (H-21) → 7,81 (OH), 4,49 (H-23) → 4,10 (H-24), 0,87 (H-18a) → 0,63 (H-18b); RMN (¹H: 400 MHz, ¹³C: 100 MHz, C₅D₅N), HSQC e HMBC (400/100 MHz, C₅D₅N), Tabela 2.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela bolsa de mestrado concedida (A. C. de Freitas).

REFERÊNCIAS

1. <http://mobot.org>, acessada em Julho 2007.
2. Waterman, P. G.; Grondon, M. F.; *Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales*, Academic Press: London, 1983.

3. Suwanborirux, K.; Chang, C.; Cassady, J. M.; *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 102.
4. Diaz, M.; Preiss, A.; Meyer, H.; Ripperger, H.; *Phytochemistry* **1983**, *22*, 2090.
5. Lima, M. P.; Rosas, L. V.; Silva, M. F. G. F.; Ferreira, A. G.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; *Phytochemistry* **2005**, *66*, 1560.
6. Rodrigues, W. A.; *Série: Publicação de Botânica - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazonia, P. imprensa: Manaus*, nº 14, 1962.
7. Champagne, D. E.; Koul, O.; Isman, M. B.; Scudder, G. G. E.; Towers, G. H. N.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 377.
8. Chow, V. T. K.; Chan, Y. C.; Yong, R.; Lee, K. M.; Lim, L. K.; Chung, Y. K.; Lam-Phua, S. G.; Tan, B. T.; *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1998**, *58*, 578.
9. Honório, A. N.; Oliveira, L. R.; *Rev. de Saúde Pública* **2001**, *35*, 385.
10. Simas, N. K.; Lima, E. C.; Kuster, R. M.; Lage, C. L. S.; Oliveira-Filho, A. M.; *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2007**, *40*, 405.
11. Simas, N. K.; Lima, E. C.; Conceição, S. R.; Kuster, R. M.; Oliveira-Filho, A. M.; Lage, C. L. S.; *Quím. Nova* **2004**, *27*, 46.
12. Santiago, G. M. P.; Viana, F. A.; Pessoa, O. D. L.; Santos, R. P.; Pouliquen, Y. B. M.; Arriaga, A. M. C.; Andrade-Neto, M.; Braz-Filho, R.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2005**, *15*, 187.
13. Geris, R.; Silva, I. G.; Silva, H. H. G.; Barison, A.; Rodrigues-Filho, E.; Ferreira, A. G.; *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* **2008**, *50*, 26.
14. Lima, M. P.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2000.
15. Brader, G.; Bacher, M.; Greger, H.; Hofer, O.; *Phytochemistry* **1996**, *42*, 881.
16. Moraes, V. R. S.; Tomazela, D. M.; Ferracin, R. J.; Garcia, C. F.; Sannomiya, M.; Soriano, M. P. C.; Silva, M. F. G. F.; Vieira P. C.; Fernandes, J. B.; Rodrigues-Filho, E.; Magalhães, E. G.; Magalhães, A. F.; Pimenta, E. F.; Souza, D. H. F.; Oliva, G.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 380.
17. Hifnawya, M. S.; Vaquettea, J.; Sévenetc, T.; Pousseta, L.; Cavé, A.; *Phytochemistry* **1977**, *16*, 1035.
18. Mulholland, D. A.; Nair, J. J.; Taylor, D. A. H.; *Phytochemistry* **1996**, *42*, 1667.
19. Su, B. N.; Chai, H.; Mi, Q.; Riswan, S.; Kardono, L. B. S.; Afriastini, J. J.; Santarsiero, B. D.; Mesecar, A. D.; Farnsworth, N. R.; Cordell, G. A.; Swanson, S. M.; Kinghorn, A. D.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 960.
20. WHO; *Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance*, 6th ed., 2006.
21. Cepleanu, F.; Hamburger, M. O.; Sordat, B.; Msonthi, J. D.; Gupta, M. P.; Saadou M.; Hostettmann, K.; *Int. J. Pharmacog.* **1994**, *32*, 294.