

TERPENOS COM ATIVIDADE INSETICIDA: UMA ALTERNATIVA PARA O CONTROLE QUÍMICO DE INSETOS

Cláudio Viegas Júnior

Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", CP 355, 14801-970 Araraquara - SP

Recebido em 18/9/01; aceito em 25/10/02

TERPENES WITH INSECTICIDAL ACTIVITY: AN ALTERNATIVE TO CHEMICAL CONTROL OF INSECTS. Many substances from different sources have been used by men for decades to control insects. After the 2nd World War, the use of inorganic compounds have declined drastically and natural products, as well as synthetic derivatives, have been widely used instead. The search for natural alternatives have improved the development of bench top bioassays and an array of synthetic approaches for known and novel natural products that shows relevant activities as feeding suppressors and deterrents. The studies concerning mode of action and environmental impact of these substances, that may be biodegradable and selective for undesired insects, had led to the evaluation and discovery of a number of molecules, mostly terpenoids and alkaloids, that are well reported as candidates for insecticidal compounds that could be an effective alternative for insects control with a lower impact on human health, household animals and the environment.

Keywords: natural insecticides; feeding suppressors; pesticides.

INTRODUÇÃO

Um país como o Brasil, com tantas peculiaridades e pluralidade climáticas e geográficas, abriga uma diversidade enorme de insetos e plantas. Além das espécies nativas e cultivadas para fins comerciais, tanto para consumo interno como para exportação, historicamente muitas espécies vegetais foram introduzidas por colonizadores e imigrantes, sendo responsáveis pela introdução de espécies exóticas de predadores fitófagos. Durante muitas décadas o Brasil teve sua economia baseada no setor primário de produção e, ainda hoje, ocupa uma posição de destaque no abastecimento mundial de cereais, frutas e outros produtos de origem vegetal sendo, portanto, o controle de pragas nativas ou exóticas um desafio que persiste e tem se agravado ano após ano.

Antes do descobrimento do Brasil os insetos endêmicos desse território limitavam-se a alimentar-se de plantas silvestres, situação que se modificou com o processo de colonização, quando parte dos insetos nativos passou a tirar alimento das novas plantas e como estas normalmente apresentavam-se concentradas, houve multiplicação rápida e desequilibrada de insetos. Situação semelhante ocorreu com algumas das espécies estrangeiras, onde o clima mais favorável, predadores naturais em pequeno número e hospedeiros em grande concentração determinaram uma super-população. O desmatamento e a caça indiscriminada de pássaros insetívoros colaboraram para um desequilíbrio ainda maior que, aliado ao crescimento populacional rápido e contínuo, tem aumentado em muito a competição homem-inseto pelo mesmo tipo de alimentação e território, dificultando o controle de infecções hospitalares e doenças que têm nos insetos os vetores de transmissão. Todos estes fatores têm levado à busca contínua por novos agentes inseticidas eficientes, que representem maior segurança ao homem e ao meio ambiente¹⁻⁵.

Inseticidas são substâncias químicas utilizadas para matar, atrair e repelir insetos, sendo sua descoberta, isolamento, síntese, avaliação toxicológica e de impacto ambiental um vasto tópico de pesquisas no mundo inteiro e que tem se desenvolvido bastante nas últimas décadas¹⁻⁹.

CONTROLE QUÍMICO DE PRAGAS

A toxicidade de uma substância química em insetos não a qualifica necessariamente como um inseticida. Diversas propriedades devem estar associadas à atividade, tais como eficácia mesmo em baixas concentrações, ausência de toxicidade frente a mamíferos e animais superiores, ausência de fitotoxicidade, fácil obtenção, manipulação e aplicação, viabilidade econômica e não ser cumulativa no tecido adiposo humano e de animais domésticos. Fica evidente que as características citadas referem-se àquele inseticida tido como ideal, o que raramente será o caso. Dentro da classificação de inseticidas são incluídas também substâncias que repelem e que atraem insetos^{1-3,6}.

Os inseticidas podem ser classificados segundo três pontos de vista: finalidade, modo de ação e origem. Destes, somente o último é de real importância e será abordado nesse trabalho.

O uso de inseticidas consome, mundialmente, valores da ordem de bilhões de dólares na tentativa de controlar insetos. Os produtos naturais inseticidas foram muito utilizados até a década de 40, quando os produtos sintéticos passaram a ganhar espaço a partir da II Guerra Mundial, devido a pesquisas em produtos biocidas. Estes mostraram-se muito mais potentes e menos específicos que os naturais, até então utilizados no controle de pragas agrícolas, e foram quase totalmente substituídos.

A utilização de inseticidas pode ser vista de forma bastante genérica no século XX, segundo três fases. Durante os primeiros 50 anos predominaram os produtos inseticidas naturais de origem orgânica e inorgânica.

Os inorgânicos mais utilizados foram os arseniatos de cálcio e chumbo (verde Paris), cupratos (calda bordalesa), enxofre em pó, vários sulfatos, cal, fluorsilicato de bário, aminosselenossulfato de potássio (criolite) e óleos minerais. Destes, os arseniatos mostravam-se extremamente tóxicos ao homem, animais superiores e ambiente como um todo¹⁻⁵.

Dentre os orgânicos de origem natural foram muito utilizados os alcalóides como a nicotina (1), *nor*-nicotina (2) e anabasina (3), os piretróides como a piretrina (4) e aletrina (5), os rotenóides tendo a rotenona (6) como principal exemplo, e em menor escala alguns quassinóides como a quassina (7) (Figura 1).

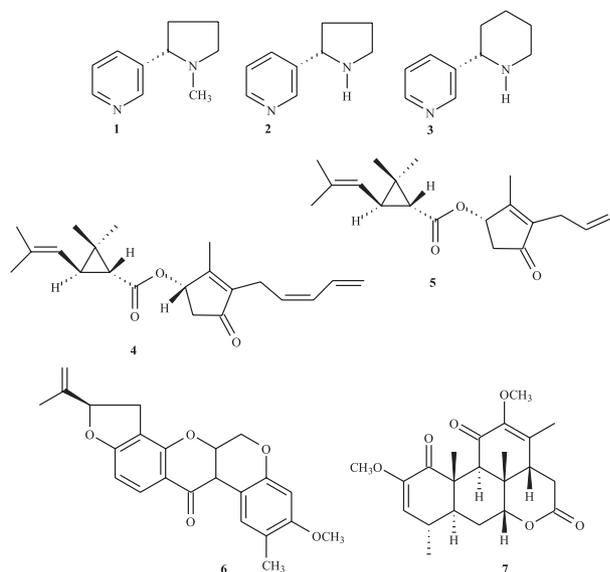


Figura 1

Nas décadas de 50 a 70, logo após a II Grande Guerra, ocorreu uma explosão no desenvolvimento da síntese orgânica, inclusive de produtos com atividade inseticida. Passaram a ser utilizados o HCH (hexacloroetano, **8**), DDT (**9**), aldrin (**10**), dieldrin (**11**) e clordano (**12**) (Figura 2).

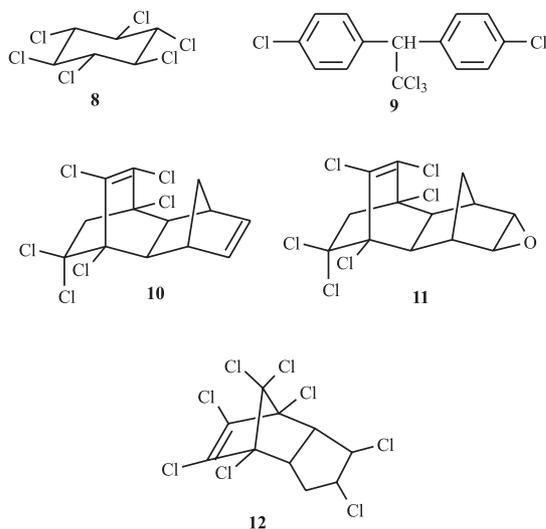


Figura 2

Naquela época começou a reforçar-se um propósito de proteção ao meio ambiente e um sério questionamento quanto ao uso de inseticidas clorados e fosforados que, além de causarem enorme impacto ambiental depois de certo tempo, perdiam o largo espectro de atividade de que anteriormente mostraram. Percebeu-se que a natureza possui enorme capacidade de adaptação, e num processo de seleção natural estava elegendo os *especimens* mais resistentes e, portanto, trazendo certa ineficiência aos produtos utilizados no controle populacional. No mesmo período, o lançamento do livro “Silent Spring” de Carson (1962) motivou uma mudança filosófica que se estendeu ao comportamento dos cientistas, que passaram a procurar entender melhor o processo de interação inseto-planta e, desta forma, respeitar mais os mecanismos de adaptação da natureza. O efeito dessa nova filosofia

de trabalho refletiu-se nas décadas seguintes, quando novos produtos passaram a ser planejados e sintetizados, buscando maior seletividade aos insetos alvo, procurando preservar os demais animais do mesmo *habitat*, incluindo predadores naturais dos insetos indesejados⁵.

Até então, partia-se do pressuposto que um produto que permanecesse no ambiente por um longo período de tempo seria mais eficaz, na tentativa de afetar várias gerações do inseto-alvo. Com a mudança na concepção de preservação do meio ambiente, passou-se a acreditar que seria mais racional o combate direto aos insetos no período de maior incidência e, assim, minimizar o desenvolvimento de resistência e o impacto sobre outros animais, inclusive o homem. A biodegradabilidade dos produtos passou a ser um requisito importante, até fundamental, nas novas avaliações e planejamento de agentes inseticidas².

A resistência adquirida e a poluição ambiental, devido à aplicação repetida de inseticidas sintéticos persistentes, têm levado a um aumento no interesse por novos produtos químicos para o controle de pragas. Inseticidas sintéticos, incluindo hidrocarbonetos clorados, ésteres organofosforados, carbamatos e piretróides sintéticos continuam a contribuir para a produção mundial de alimentos nas últimas décadas. Além disso, o uso contínuo de quase 200 mil toneladas destes produtos, predominantemente na área agrícola, tem sido problemático, pois muitas espécies-chave têm-se tornado resistentes a estas substâncias, enquanto que espécies secundárias estão correndo risco de dizimação dos seus predadores naturais, em virtude da ação neurotóxica inespecífica dos produtos utilizados. Por outro lado, estas substâncias algumas vezes persistem no ambiente como resíduos tóxicos, muito além do tempo desejado. Além disso, muitos inseticidas disponíveis no mercado, incluindo o hexacloro benzeno, toxafeno, compostos organo-fosforados e carbamatos são tóxicos aos rebanhos e extremamente caros, principalmente considerando os produtores primários de países do terceiro mundo¹⁰.

Novas substâncias são necessárias, portanto, para o efetivo controle de pragas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas integrados de controle de insetos e baixo impacto ambiental.

A BUSCA POR MODELOS NA NATUREZA

Uma abordagem para a seleção de novos inseticidas que preencham os requisitos de eficácia, segurança e seletividade, pode ser através do estudo de mecanismos de defesa de plantas.

Extratos de plantas vêm sendo utilizados pelo homem desde a Idade Antiga, numa prática que persiste até hoje, com mais de 2000 espécies de plantas conhecidas por suas propriedades inseticidas. Comercialmente, entretanto, somente poucas destas plantas, incluindo aquelas que contêm piretrinas, rotenóides e alcalóides têm sido utilizadas nos Estados Unidos como fonte de inseticidas^{3,10-12}.

Piretróides, rotenóides e alcalóides

Economicamente, o grupo mais importante de inseticidas naturais é o das piretrinas, representado por seis ésteres com estruturas químicas semelhantes que são extraídos das flores do piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). O piretro foi utilizado desde 1800, na Pérsia e na antiga Iugoslávia, e a partir de 1828 passou a ser processado comercialmente para controle de insetos. Em 1939, os EUA chegaram a importar cerca de 7 mil toneladas de piretro por ano. O uso de produtos naturais declinou na década de 50 em consequência dos avanços na síntese de análogos de piretróides, como as aletrinas, que eram mais estáveis e mais efetivas. Atualmente a demanda de piretro está em torno de 25 mil toneladas, e tem como principais produtores o Quênia, a Tanzânia e o Equador⁷.

A rotenona e os rotenóides têm sido utilizados há longo tempo como inseticidas e como anestésicos temporários, auxiliando na captura de peixes. A partir dos anos 50, mais de 3,5 mil toneladas anuais de raízes *Derris lonchocarpus* e *Tephrosia spp* contendo estes inseticidas foram importadas pelos EUA. Em 1972, cerca de 750 toneladas de raízes foram utilizadas em jardins e casas no combate a insetos e a ectoparasitas em animais.

Dentre os alcalóides naturais mais importantes utilizados no controle de pragas estão a nicotina (**1**) e a *nor*-nicotina (**2**) (Figura 1). O uso destes alcalóides iniciou-se no século XVI e atingiu 2,5 mil toneladas na metade do século XIX. Desde então a produção anual vem declinando e, atualmente, abrange cerca de 1250 toneladas de sulfato de nicotina e 150 toneladas de nicotina, em virtude do alto custo de produção, odor desagradável, extrema toxicidade a mamíferos e atividade inseticida limitada⁷.

TERPENÓIDES COM ATIVIDADE INSETICIDA

Monoterpenos e sesquiterpenos

Os terpenos abrangem uma grande variedade de substâncias de origem vegetal e sua importância ecológica como defensivos de plantas está bem estabelecida. Vários monoterpenos foram isolados e avaliados quanto à toxicidade frente a diferentes insetos. Estes estudos envolveram α -pineno (**13**), β -pineno (**14**), 3-careno (**15**), limoneno (**16**), mirceno (**17**), α -terpineno (**18**) e canfeno (**19**) (Figura 3), e alguns resultados estão ilustrados na Tabela 1¹³.

Tabela 1. Percentual de mortalidade de insetos em 24 h de exposição aos monoterpenos **13-19**

Insetos	Mortalidade (%)*
• <i>Dendroctonus micans</i> : colonizador solitário	larvas: 0 adultos: 5-10
• <i>Ips typographus</i>	adultos: 7-20
• <i>Rhyzophagus grandis</i> : predador específico de <i>D. micans</i>	zero
• <i>Rhyzophagus díspar</i> : predador ocasional de <i>Ips</i>	100
• <i>Formica rupa</i>	100
• <i>Tenebrio molito</i>	40-100

* resultados de testes separados com α - e β -pineno, 3-careno, limoneno, mirceno, α -terpineno e canfeno.

Os limonóides ou tetra-*nor*-triterpenos representam o nível máximo na seqüência de produção de terpenóides em plantas que normalmente não são atacadas por insetos. No nível inferior, os monoterpenos de estrutura relativamente simples como o limoneno (**16**), o mirceno (**17**) e a 1,2-epóxi-pulegona (**20**) (Figura 3) exercem funções de proteção às plantas que os produzem. Aparentemente sua ação inseticida seria decorrente da inibição da acetilcolinesterase nos insetos, que é o caso da 1,2-epóxi-pulegona (**20**), tida como o principal agente inseticida de *Lippia stoechadoifolia* (Verbenaceae)³. A grande maioria de trabalhos na literatura que se referem a terpenóides superiores, fazem referência a observações de atividades como inibidores ou retardadores de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressores de apetite, podendo levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta^{5,8,10,13-24}.

O estudo da relação estrutura-atividade supressora de apetite de lactonas sesquiterpênicas relaciona a presença de funcionalizações tipo α -ciclopentenona e/ou α -metileno- δ -lactona como aceptores

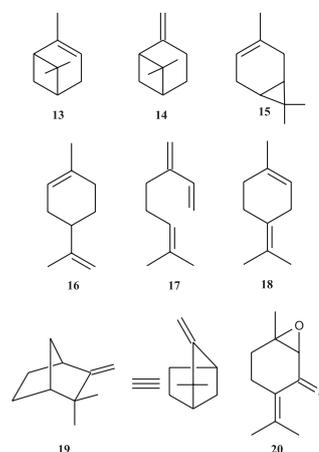


Figura 3

eletrofílicos, como foi demonstrado por estudos feitos com a tenulina (**21**)^{25,26}. Outro composto estudado quanto às características estruturais relacionadas à supressão de apetite e atividade inseticida foi a angulatina A (**22**), um sesquiterpeno poliôico esterificado, e análogos isolados da casca das raízes de *Celastrus angulatus*, planta usada na China para proteger outras plantas de insetos²⁷⁻²⁹ (Figura 4).

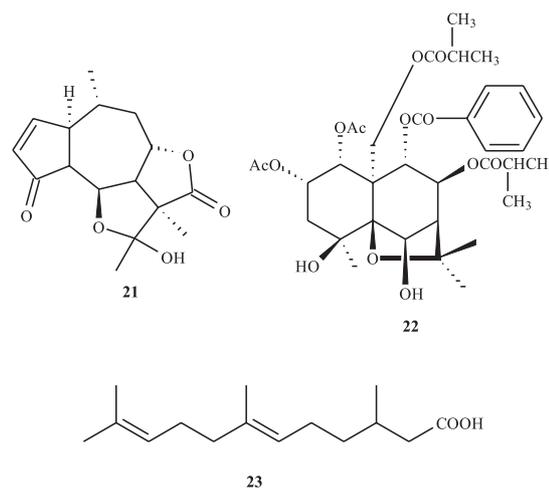


Figura 4

Uma espécie de Asteraceae, *Chrysonthamus nauseosus*, rica em terpenos forneceu o (*E*)- β -farneseno, β -humuleno, α - e β -muuroleno. Sua proteção a herbívoros nos meses de verão ocorre em níveis bastante elevados (80 μ g/g em peso seco) devido à presença destes terpenos. Tais níveis caem rapidamente no inverno (18 μ g/g), quando a planta tem suas folhas devoradas por outros animais. Outra questão interessante é o modo como os terpenos variam nas diferentes partes da planta durante seu crescimento e diferenciação, o que pode estar relacionado com a repelência e toxicidade em herbívoros.

Uma classe de terpenos com alta capacidade de transporte pelo floema são os iridóides glicosilados. O ácido 2,3-diidroarsenólico (**23**) (Figura 4) está presente no tomate da espécie *Lycopersicon hirsutum* e tem mostrado oferecer resistência a artrópodos herbívoros⁹.

Outros terpenos têm sido estudados para melhor compreensão de suas atividades supressoras de apetite e repelência. Neste sentido, algumas lactonas sesquiterpênicas presentes em algumas espécies

como *Helianthus annuus* (Asteraceae) têm sido investigadas quanto à sua interação com *Diabrotica virgifera*. Os efeitos supressores de apetite destes terpenóides foram demonstrados pela primeira vez em 1974, utilizando os extratos de duas espécies do gênero *Vernonia* e o glaucolideo-A (**24**) (Figura 5), uma lactona sesquiterpênica, que ocorre em algumas espécies deste gênero. O glaucolideo-A (**24**) inibe o apetite de larvas de insetos, mas não age sobre alguns outros artrópodos predadores como *Trichoplusia* e *Diacrisia virginica*^{8,9,13}.

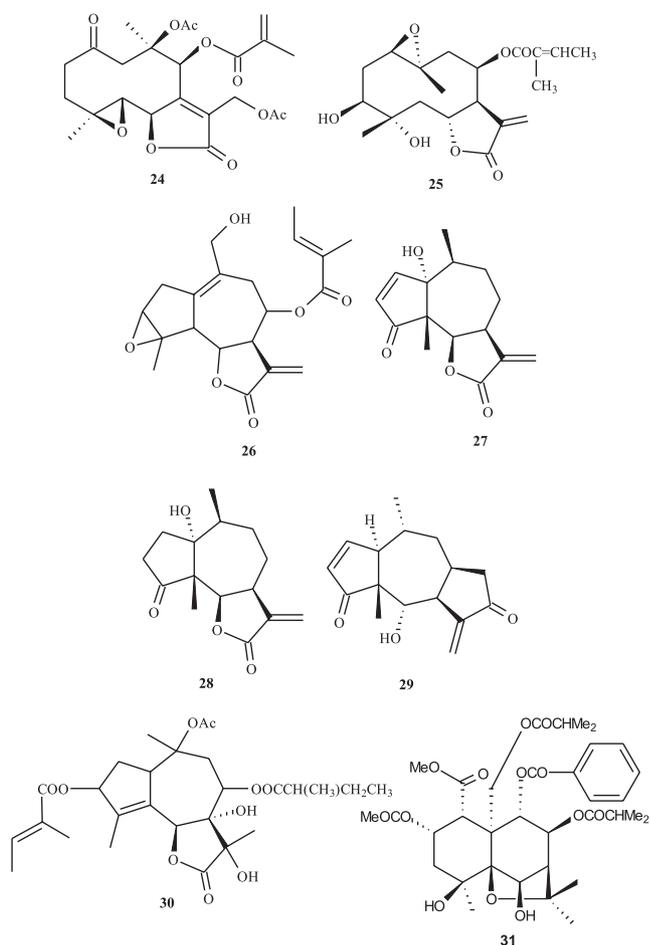


Figura 5

A busca por compostos supressores de apetite de insetos herbívoros estimulou o estudo químico em plantas relatadas popularmente como possuindo atividade inseticida. Com este enfoque, foram analisadas 11 espécies da família Asteraceae, permitindo o isolamento de várias lactonas sesquiterpênicas, como os compostos **24** e **25** (Figura 5). Na busca por informações estruturais relacionadas aos efeitos observados, ficou evidenciado que a facilidade de ocorrer em reações do tipo adição de Michael na função α -metileno na γ -lactona assim como na função cetona α,β -insaturada ou outros grupos exo-metilênicos na molécula poderiam explicar a atividade das lactonas sesquiterpênicas que não continham a porção α -metileno- γ -lactona. Outro fato observado foi a capacidade das lactonas sesquiterpênicas inibirem o desenvolvimento do inseto, como observado em ensaios utilizando o glaucolideo-A (**24**) que, após ingerido, reduziu a taxa de crescimento, aumentou o número de dias da pupa, reduziu o peso da pupa e/ou a sobrevivência de três espécies de besouros^{9,13,26}.

A euponina (**26**), uma epoxi-lactona sesquiterpênica isolada de *Eupatorium japonicum* é capaz de inibir o crescimento das larvas da

mosca de fruta (*Drosophila melanogaster*) somente quando administrada no estágio de ovo²⁶.

A sobrevivência de alguns besouros nas flores é significativamente reduzida na presença de partenina (**27**), coronopilina (**28**) e helenalina (**29**) na dieta (Figura 5). Isto sugeriu que a porção α -metileno- γ -lactona, presente nos três compostos ativos, mas ausente na tenulina (**21**) inativa, era responsável pelas atividades deletérias, enquanto que a função cetona α,β -insaturada não contribuiria para tais propriedades. Concluiu-se que lactonas mais oxigenadas eram mais tóxicas que os análogos não substituídos. Oito lactonas sesquiterpênicas isoladas de três espécies de Apiaceae (Umbelliferae) mostraram atividade supressora de apetite em larvas e adultos de alguns insetos estudados; todas as lactonas contêm um grupo hidroxila terciária esterificada na posição C-11, à exceção do composto mais ativo (**30**), mas que possui um grupamento hidroxila adicional²⁶ (Figura 5).

Em particular, a lactona 15-hidróxi-3-desidrodesoxitifruticina, majoritária em plantas de três semanas de idade, modifica-se a compostos polares (**31**) (Figura 5), em estágios posteriores. Isto indica que a planta fica, desta forma, protegida nos estágios de crescimento das folhas novas e nos tecidos florais^{9,26}.

Encelia farinosa (Asteraceae), nativa da América do Norte, exibe uma constituição química bastante diversificada, apresentando elevadas quantidades de farisonina (**32**), algumas outras lactonas e principalmente a enecalina (**33**), todas tóxicas às larvas de *Spodoptera littoralis*⁹.

Estudos relacionados à ação inseticida de contato revelaram que a tenulina (**21**), helenalina (**29**) e isotenulina (**34**) (Figuras 4, 5 e 6), quando aplicadas topicamente em larvas ou insetos adultos de quatro espécies não foram significativamente tóxicas, exceto a helenalina que causou alguma mortalidade²⁶. Os cromenos **35-38** isolados dos rizomas de *Blepharispermun subsessile* (Compositae) foram ensaiados contra *Phitorimae operculella*, uma mariposa que ataca o tomate. Destes, os compostos **35** e **36** apresentaram forte atividade deletérea na ovoposição do inseto³⁰ (Figura 6).

Sesquiterpenos agarofurânicos também têm revelado atividade potencial contra diversos tipos de insetos, principalmente lagartas da espécie *Spodoptera littoralis*. Das partes aéreas de *Crossopetalum tonduzii* (Celastraceae) foram isolados os agarofurânicos **39-43** (Figura 6), dos quais os três primeiros mostraram-se fracamente tóxicos no bioensaio²⁴.

Em 1990, Liu e colaboradores²⁹ isolaram 7 sesquiterpenos dos rizomas de *Celastrus angulatus* (Celastraceae) e testes preliminares indicaram forte efeito supressor de apetite em *Pieris rapae*, *Ostrina furnacalis* e *Tribolium castaneum*.

Foi observado que os insetos ficaram paralisados por várias horas após ingerirem uma pequena quantidade da amostra; após certo tempo, voltaram a alimentar-se, paralisando novamente e, ao final, morreram lentamente. Alguns desses compostos estão mostrados na Figura 7.

Alguns besouros do Colorado (EUA) evitam alimentar-se do tomate selvagem *Lycopersicon hirsutum*, em virtude da alta concentração de zingibereno (**44**) nos tricomas glandulares. Este hidrocarboneto ocorre nos folículos do fruto numa concentração de 160-250 μg e mata as larvas de besouro quando 12-25 μg , são aplicadas a cada larva¹³.

Assim como alguns compostos fenólicos, terpenos como a germacrona (**50**) e o sesquiterpeno eudesmano **51** (Figura 8) estão associados à proteção de árvores e arbustos existentes no Alasca e zonas temperadas da América do Norte, muitas vezes estando aparentemente associados à ação de taninos. Outros sesquiterpenos têm mostrado forte ação de repelência em concentrações muito baixas; o derivado sesquiterpênico 2-nor-bornanol (**52**), isolado das frutas de

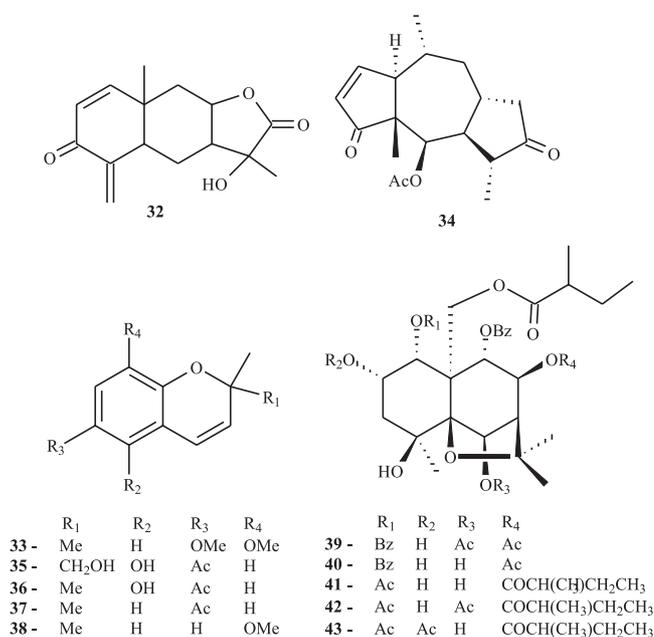


Figura 6

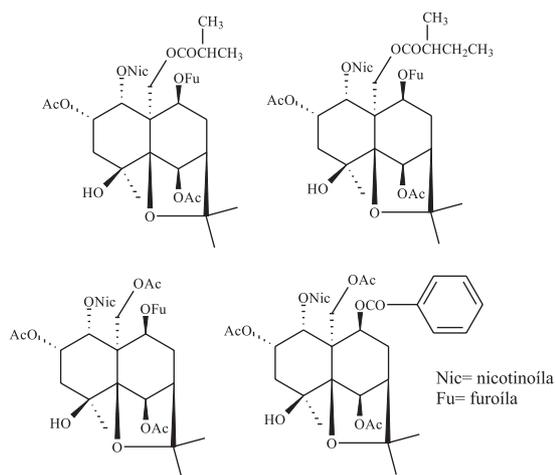


Figura 7

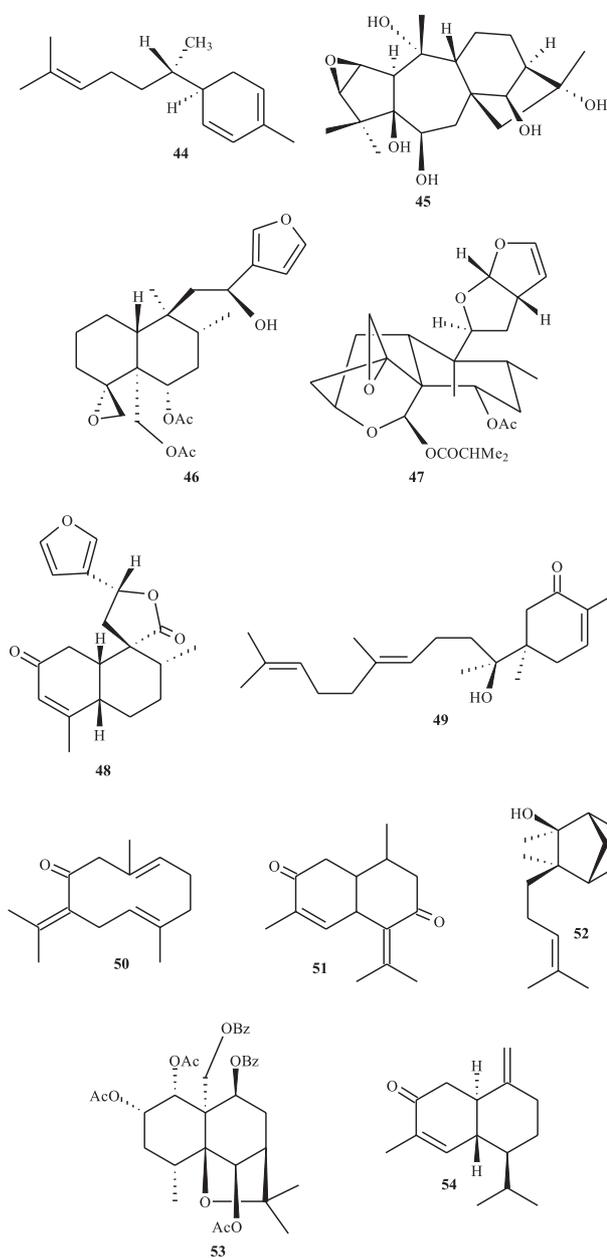


Figura 8

Dysoxylum spectabile age como repelente numa concentração de 0,1%³¹. Um novo sesquiterpeno eudesmano, mutangina (**53**), isolado de *Elaeodendron buchananii*, reduziu a alimentação de 55% de besouros do gênero *Chiloptartelluas*, quando aplicado a uma concentração de 50 µg por disco³².

A cadina-4,10(15)-dien-3-ona (**54**) (Figura 8), obtida a partir das folhas de *Hypytis verticillata*, provou ser um eficiente inseticida frente à *Cylas formicarius*, uma praga destrutiva de plantações de tomate. Numa dose de 3,6 mg/g de inseto após 98 h, foi observada a mortalidade de 90%³³.

Diterpenos

A rodojaponina III (**45**), um diterpeno isolado das flores de *Rhododendron molle*, mostrou forte atividade contra os besouros, especialmente contra as larvas de *Leptinotarsa decemlineata*^{7,34}.

Diterpenos isolados da família Euphorbiaceae são notoriamente

co-carcinogênicos ao homem, entretanto, apresentam atividade supressora de apetite. O *cis*-desidrocrotonina (**48**), obtido de *Croton cajucara*, é um inibidor de crescimento de *Heliothis virescens*³⁵, enquanto que o composto **49** é neurotóxico às formigas da espécie *Cylas formicarius*, uma peste para os tomateiros³⁶ (Figura 8).

Diterpenos *neo*-clerodanos têm sido investigados quanto às propriedades inseticidas, principalmente contra larvas de *Spodoptera littoralis* e *Heliothis armigera*³⁷. Cinco espécies da família Labiatae, *Scutellaria galericulata*, *Teucrium fruticans*, *Scutellaria rubicunda*, *Scutellaria polyodon* e *Teucrium massiliense*, forneceram os diterpenos scuteciprol B (**55**) e scutalbina C (**56**)¹⁹, fruticolona (**57**), *iso*-fruticolona (**58**) e fruticolideo (**59**)²⁰; teumassileninas A-D (**60-63**), teumassina (**64**), teumassilina (**65**), 6,19-diacetilteumassilina (**46**), teumarina (**66**)²¹. *Scutellaria polyodon* mostrou-se uma fonte abundante de substâncias com esqueleto clerodano, cujas partes aéreas forneceram as substâncias jodrelina B (**47**), escutecolumnina A (**67**) e as escupolinas A-I (**68-76**)^{9, 23,38} (Figura 9).

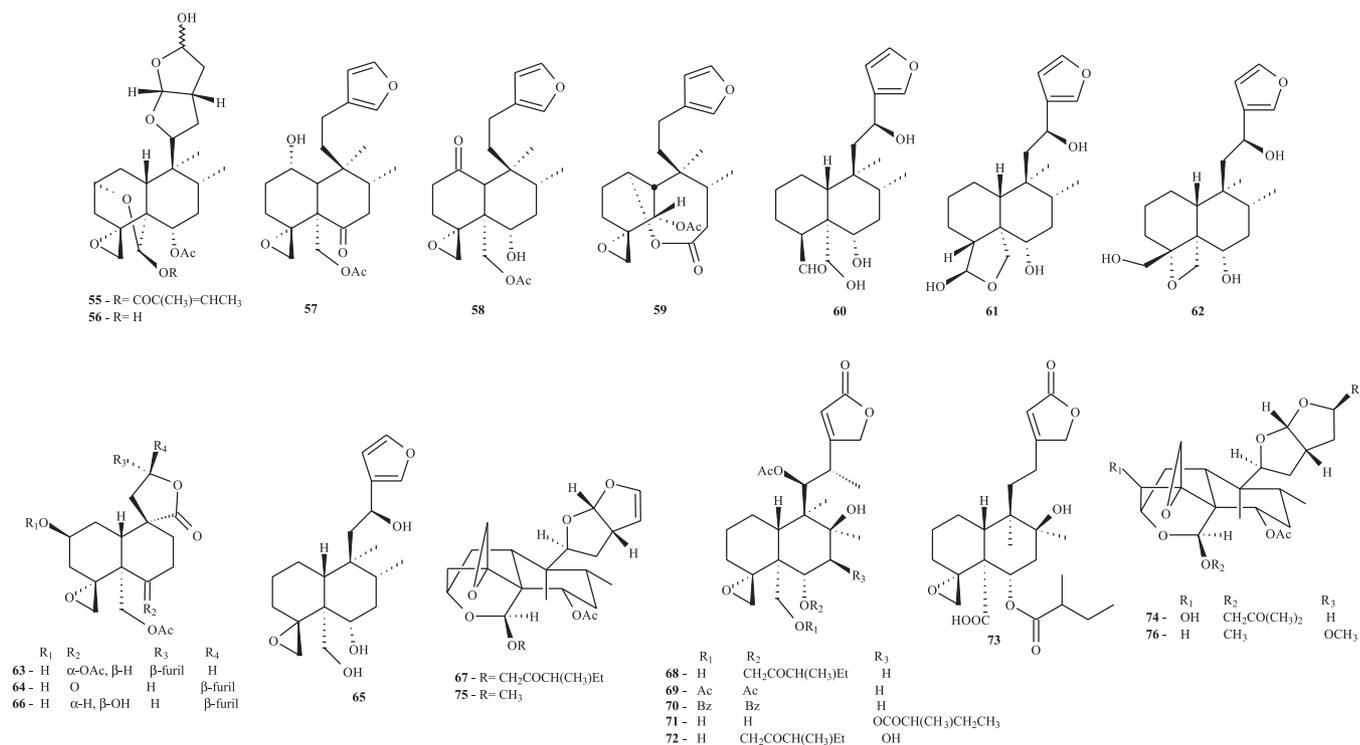


Figura 9

Alguns flavonóides presentes em espécies subterrâneas da família Leguminosae são conhecidos por causarem anomalias reprodutivas quando estocados e também podem estar associados ao mecanismo de defesa. Dois diidroisoflavonóis (**77** e **78**) foram isolados das raízes de *Trifolium subterraneum*, juntamente com o dissacarídeo (**79**) e o ácido fasélico (**80**)³⁹ (Figura 10).

Espécies do gênero *Taxus* têm sido extensivamente estudadas na última década, em virtude dos efeitos antineoplásicos apresentados pelo Taxol® e análogos, que estão em uso/avaliação clínica no tratamento do câncer. *Taxus baccata* é conhecida como fonte de substâncias anti-tumorais potencialmente ativas, as bacatinas. Observou-se que esta planta é extremamente resistente ao ataque de pragas, o que tem sido atribuído à alta toxicidade de uma mistura de alcalóides, conhecida como taxina. A avaliação de atividade inseticida de extratos de *T. baccata* evidenciou forte ação supressora de apetite em diversas espécies de insetos. Foram isoladas nove substâncias (**81-89**) (Figura 10), a maioria com esqueleto taxano, sendo que a 10-desacetilbacatina III (**81**) e V (**82**) mostraram-se fortemente ativas, seguidas pelos derivados da taxicina **83** e **84**, moderadamente ativos. Os compostos fenólicos **88** e **89** foram os menos ativos^{37,40}.

ALTERNATIVAS NATURAIS PARA CONTROLE DE PRAGAS

Limonóides

Os limonóides são, provavelmente, os maiores representantes da classe dos terpenos com atividade inseticida. São conhecidos como meliacinas, devido ao seu sabor amargo e suas principais fontes são espécies das famílias Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae. Cerca de 100 triterpenóides têm sido identificados das sementes, madeira, cascas, folhas e frutos de *Azadirachta indica* (Meliaceae)⁴¹.

A azadiractina A (**90**) (Figura 11), isolada pela primeira vez por Butterworth e Morgan⁴², e um grupo de outros limonóides estão in-

timamente associados à ação supressora de apetite ou inibidora de crescimento em insetos de *Azadirachta indica* e têm sido extensamente estudados, com o objetivo de se conhecer a química, biossíntese, toxicologia e o potencial inseticida deste grupo de compostos naturais⁴³⁻⁴⁷. Alguns estudos tentando estabelecer a relação estrutura-atividade permitiram concluir que limonóides com o anel C-*seco* são os mais ativos, e uma das ações mais relevantes relatadas para plantas da família Meliaceae é a supressora de apetite⁴³. Dessa mesma planta outros limonóides foram isolados, como o 7-desacetil-17β-hidroxi-azadiradiona (**91**) que inibiu o crescimento de *Heliothis virescens*⁴⁸, e uma nova estrutura de limonóide (**92**) (Figura 11), que foi identificada nas sementes de *Khaya ivorensis*, mostrou atividade contra o besouro *Agrotis segetum* reduzindo em 56% o crescimento quando da ingestão de 100 ppm em alimentação artificial^{13,49}. Outros 4 limonóides foram isolados de *Khaya senegalensis* denominados khayanolideo A (**95**) e B (**96**), *epi*-metil-angolensato (**97**) e o derivado 6-hidroxiado (**98**) (Figura 11) e testados contra *Spodoptera littoralis*. O composto **95** foi o mais potente (300 ppm), apesar de menos ativo que as azadiractinas padrões utilizadas, enquanto que as outras três substâncias apresentaram atividade moderada (500 ppm)¹⁵.

Atualmente, alguns produtos disponíveis no mercado como inseticidas, como o Margosan-O®, contém a azadiractina (**90**) como componente principal. Esta substância tem sido isolada de várias plantas da família Meliaceae, possui o anel C-*seco* e tem sua ocorrência restrita às três espécies *A. indica*, *Melia toosendan* e *Melia azedarach*^{10,14,16-18,43}. Esta última foi introduzida no Brasil, onde é popularmente conhecida como cinamomo ou santa-bárbara.

O trabalho pioneiro de Butterworth e Morgan, em 1968⁴², foi motivado por relatos de que o meliantriol (**93**), isolado das frutas frescas de *M. azedarach*, e o óleo de *M. azadirachta* eram fago-inibidores de gafanhotos do deserto³⁰. A substância inibidora, denominada de azadiractina (**90**), não se relacionava ao meliantriol e era dotada de notável atividade fago-repelente. Sua estrutura foi proposta mais adiante por Zanno e colaboradores⁵¹ e finalmente corrigida por Kraus *et al.* em 1985⁵².

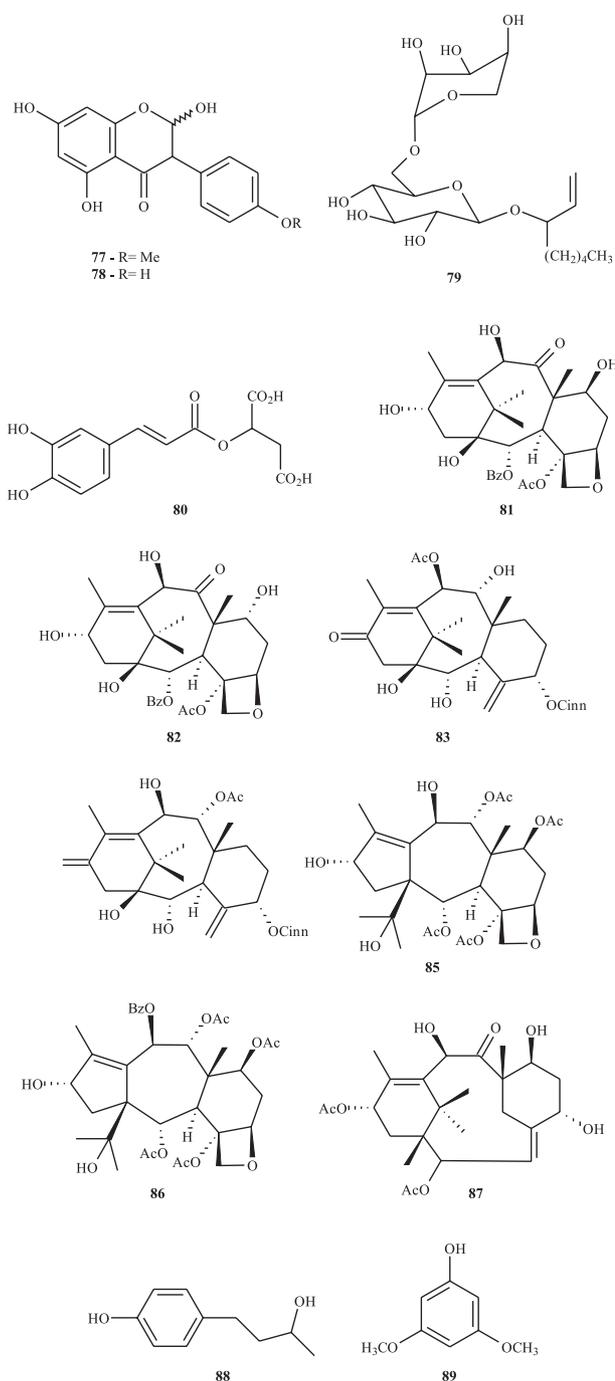


Figura 10

Durante séculos, *A. indica* foi utilizada na Índia no combate a insetos e, atualmente, são extraídos e comercializados compostos químicos ativos sobre mais de 200 espécies de insetos, incluindo alguns moluscos. Estudos mostram que estes produtos são muito mais seguros que outros de origem sintética insistentemente utilizados no controle de insetos, e que podem atuar como veneno sobre o sistema nervoso central do homem^{10,53}.

Além da atividade fagoinibidora já citada, a azadiractina (90) atua interferindo no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo o desenvolvimento na fase larval. O efeito inibidor de crescimento ocorre em doses de microgramas e é devido à interferência na regulação neuroendócrina

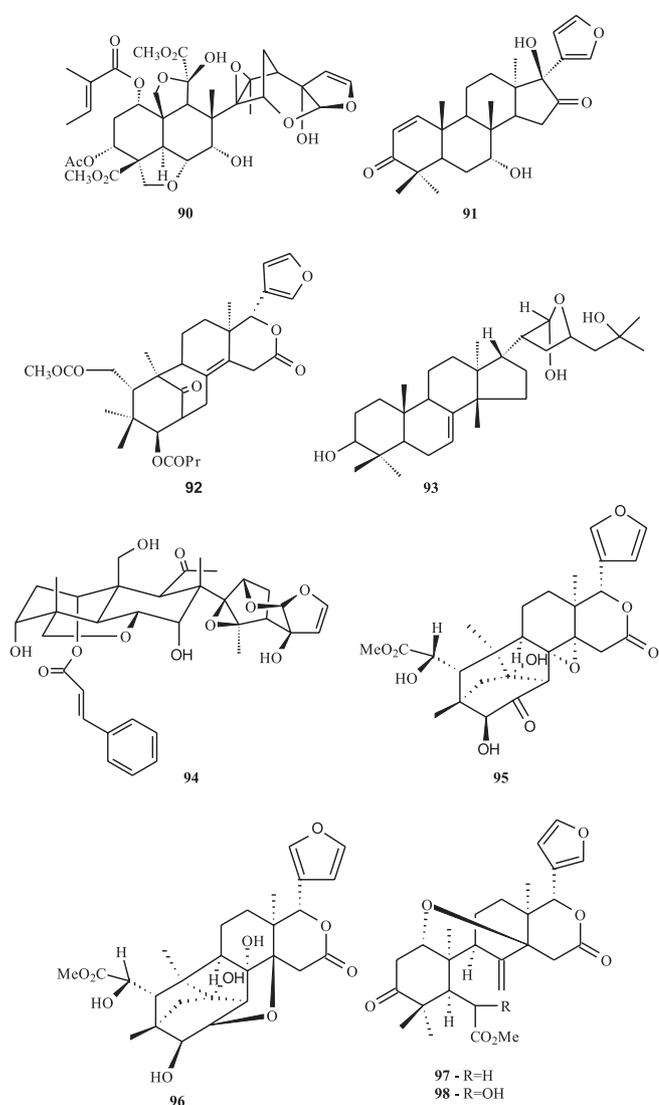


Figura 11

de hormônios nas larvas, atuando principalmente sobre os túbulos de Malpighie e no *corpus cardiacum* do inseto. Nos *corpus cardiacum*, as azadiractinas reduzem o “turnover” do material neurosecretório, fazendo com que os níveis de hormônios morfogenéticos dos insetos jovens e larvas sejam modificados e concomitantemente decresçam após a ingestão de azadiractina. Desta forma, a metamorfose dos insetos jovens é inibida assim como a reprodução dos adultos, sendo também conhecidos distúrbios ou inibição no desenvolvimento dos ovos⁸. A toxicidade do óleo de *A. indica* em carrapatos foi avaliada, confirmando a dose-dependência para mortalidade. Quando foram utilizadas amostras de óleo 100% puras, observou-se mortalidade de 100% das larvas de carrapato, após 48 h; a DL_{50} de diferentes concentrações foi de 33% (56 h), 66,7% (48 h) e 100% (36 h) e foi detectada ausência de ou efeitos adversos muito suaves nos animais hospedeiros estudados, o que garante segurança na sua utilização doméstica¹⁰.

Vários estudos têm sido realizados nos últimos anos para elucidar as modificações no mecanismo de controle endócrino induzidas pela azadiractina, que provocam os efeitos observados na inibição de crescimento. Estes estudos permitiram identificar modificações nos níveis de hormônios morfogenéticos como a ecdisona. Foi identificada

uma acentuada similaridade estrutural entre a ecdisona e a azadiractina, entretanto não está claro se os efeitos sobre estas taxas hormonais são diretos ou indiretos. Algumas evidências indicam que a azadiractina pode bloquear a liberação de várias substâncias localizadas no sistema nervoso central, assim como a formação de quitina, um polissacarídeo que forma o exoesqueleto de insetos, além de impedir a comunicação sexual, causa esterilidade e diminui a mobilidade^{11,53}.

Outro fator a favor da azadiractina é que, apesar de ser ativa frente a um enorme espectro de insetos, praticamente não afeta os predadores naturais dos mesmos⁵³. Os resultados obtidos com a azadiractina intensificaram ainda mais a busca por outros possíveis compostos com atividade inseticida. Dos extratos metanólicos dos frutos de *M. azedarach* (Meliaceae) foram isolados a 1-cinamoil-melianolona (**94**) (Figura 11), que é estruturalmente semelhante à azadiractina e apresentou atividade inseticida equivalente^{8,54}; o

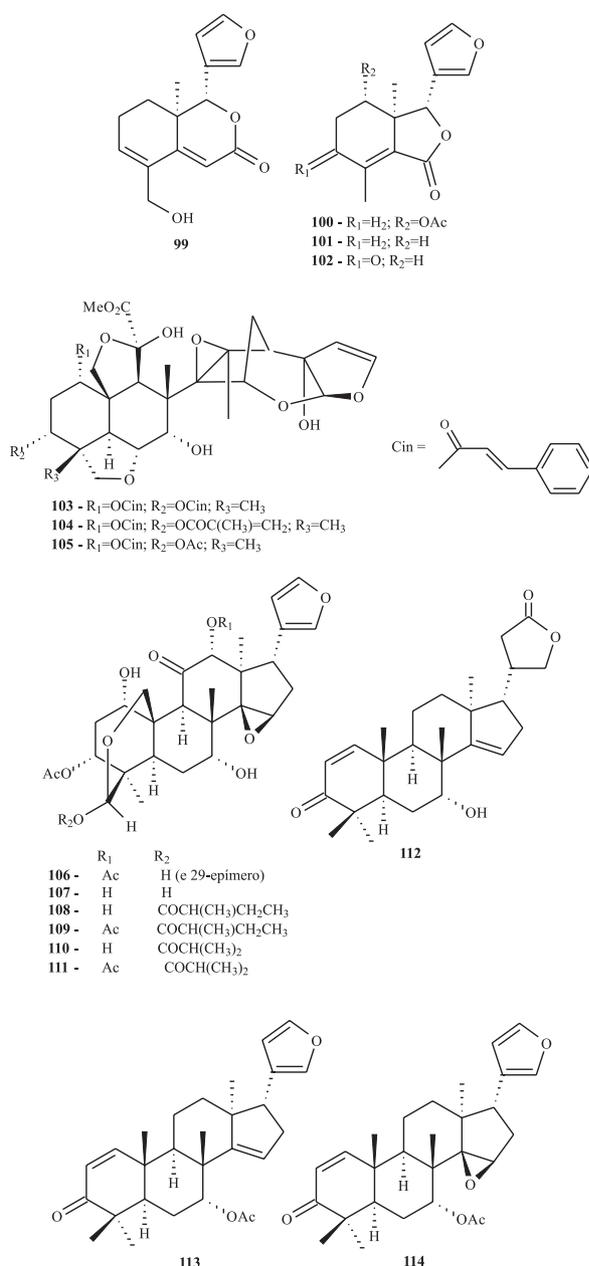


Figura 12

azedaralídeo (**99**), 12- α -acetóxi-fraxinelona (**100**), fraxinelona (**101**) e fraxinelonona (**102**) e, somente o composto **102** não inibiu a alimentação de *Spodoptera littoralis*¹⁴. Esta planta também é fonte das maliacarpinas **103-105** que são inseticidas tão potentes como a azadiractina **90** utilizada como padrão¹⁸ (Figura 12).

Melia toosendan (Meliaceae) forneceu cerca de 40 limonóides de classes estruturais diversas, a grande maioria inéditos e com propriedades inseticidas confirmadas. Das cascas foram inicialmente isolados a toosendanina (**106**) e a *iso*-chuanliansu (**130**) (Figura 14); das raízes, cascas e frutos foram obtidas 41 substâncias com esqueleto limonóide, sendo um protolimonóide (**112**); duas meliacinas, a azadirona (**113**) e a acetiltriquilenona (**114**); quatro éteres com ponte C-28/C-6, as triquilinas **118-121**; treze 14,15-epóxi-acetais com ponte C-19/C-29; as amoorastatinas **107** e **106**, azedaraquinas **108-111**, as triquilinas **122-128** e cinco derivados 15-ceto, as amoorastatonas **129** e **130**, as *neo*-azedaraquinas **131-133**; doze compostos com anel *C-seco*, as nimbolinas **139-143**, salanina (**144**) e oquinolal (**145**); as meliacarpinas **146-148** e um novo *spiro* limonóide, o espirosendan (**149**)^{16,17} (Figuras 12 e 14).

A salanina (**144**), quando comparada com outros triterpenos, mostrou-se um forte agente supressor de apetite e regulador de crescimento. Além disto, sua concentração no extrato de *A. indica* excede em 3 ou 4 vezes a azadiractina, o que sugere que sua atividade seja substancialmente importante na ação inseticida relatada para esta planta³⁷.

As quatro espécies conhecidas do gênero *Swietenia* (Meliaceae) estão sob estudo, na busca por outros limonóides com atividade inseticida em potencial e que possam agir como análogos das azadiractinas. De *S. macrophylla*, *S. mahagoni* e *S. aubrevilleana* foram isolados cerca de vinte limonóides, dos quais quatro foram selecionados por sua atividade inseticida potencial; três substâncias ativas eram inéditas: o angustinolideo (**115**) e o 3 β ,6-diidroxihidrocarapina (**116**) obtidos de *S. macrophylla*, e 6-acetoxihumilolideo C (**117**), obtido de *S. aubrevilleana*²² (Figura 13).

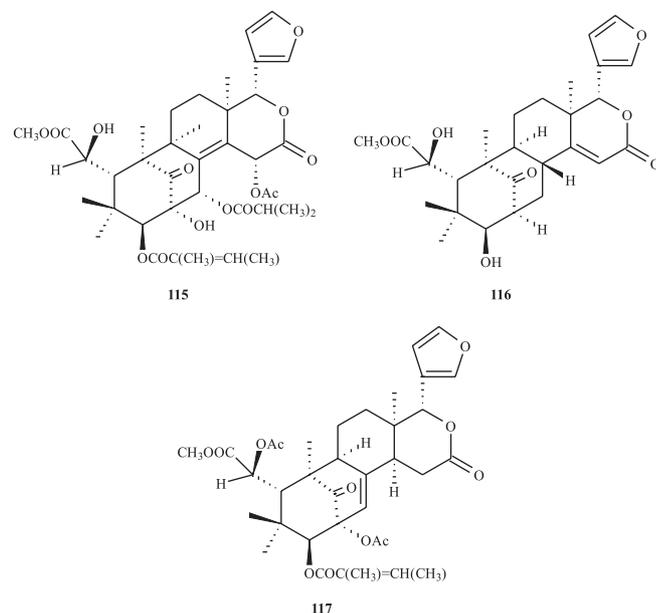


Figura 13

O interesse da indústria pela azadiractina só não é maior pela relativa dificuldade de extração em grandes quantidades. Um marco

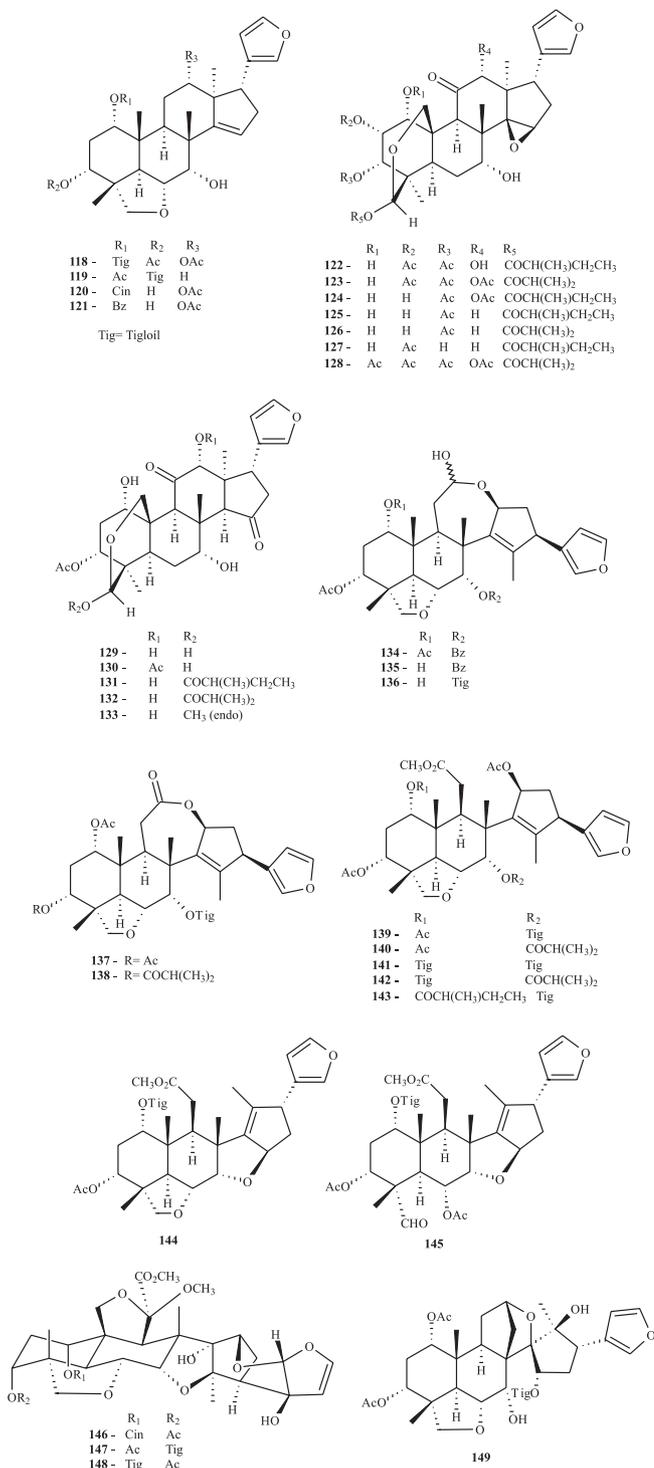


Figura 14

importante foi o trabalho desenvolvido por um grupo de cientistas do London Imperial College, que sintetizaram dois fragmentos que, conjugados, permitem a obtenção da azadiractina. Foi demonstrado que os dois fragmentos da azadiractina têm atividades inseticidas distintas. A porção decalínica interrompe o crescimento e desenvolvimento do inseto, enquanto que a porção hidroxifurânica mata os insetos por fago-inibição, entretanto esta atividade é menor que da molécula intacta⁵⁵ (Figura 15).

Estudos com substâncias como a hirtina (**150**) e a azedarquina C (**151**) evidenciaram a capacidade de inibir a alimentação de

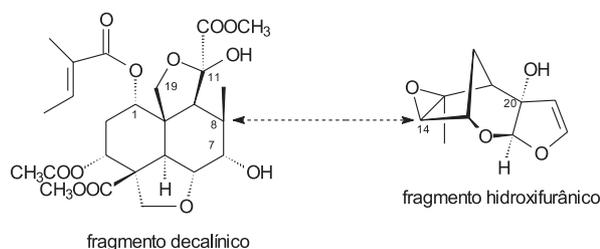


Figura 15

Spodoptera exigua com uma dose de somente 400 ppm de azedarquina; o ensaio de dose-dependência com a hirtina resultou na inibição larval de *Peridroma sansia* com IC₅₀ = 13 ppm e nesta dosagem foram observados distúrbios de comportamento, além de toxicidade pós-ingestão. Outra série de limonóides, incluindo a limonina (**152**), foram testados em *Spodoptera litura*, mas mostraram-se menos ativos que as azadiractinas padrão⁵⁶.

Das raízes de *Ruagea glabra* (Meliaceae) foram isolados seis limonóides, dois conhecidos, o metil-angolensato (**153**) e a xilocarpina (**154**), além de 4 novos compostos, as ruageaninas A (**155**), B (**156**), C (**157**) e D (**158**)⁵⁷ (Figura 16). Os últimos três compostos são chamados limonóides do tipo mexicanólideo, e possuem substituintes -OH ou O-acila em C-2, relativamente raros. Bioensaios utilizando larvas em último estágio de *Spodoptera frugiperda* identificaram atividade inseticida pronunciada para as substâncias **153-156**^{43,58}.

Luo *et al.*⁴¹ isolaram mais dois compostos derivados da azadiractina, a partir das sementes de *A. indica*, denominados azadiractina N (**159**) e azadiractina M (**160**)⁴¹ (Figura 16).

Membros da família Melioideae produzem limonóides com grande diversidade estrutural, com anéis B-, A-, A,B- e C-*seco*. A biossíntese de limonóides C-*seco* parece ocorrer somente em membros da família Meliaceae pertencentes à tribo Meliae (restrito aos gêneros *Azadirachta* e *Melia*)^{12,43,44,46,58,59}.

Uma vez que, freqüentemente, estes compostos agem no comportamento e na fisiologia, particularmente de insetos, pode-se sugerir que a principal função para a planta produzir limonóides seja a proteção contra insetos herbívoros. Então, seria esperado encontrar-se tendências evolucionárias no padrão crescente de oxidação e rearranjos estruturais correlacionados com o aperfeiçoamento dos mecanismos de defesa dos vegetais, seja contra predadores ou doenças.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários compostos foram discutidos como exemplos do que têm sido alvo de estudos, desde a década de 70, sobre a potencialidade inseticida de produtos naturais, especialmente terpênicos. A azadiractina continua a ser o modelo de referência desses compostos sendo estudada, até hoje, na busca pelo entendimento da atividade biológica, toxicidade, biodegradabilidade, impacto ambiental, relação estrutura-atividade quali e quantitativa. Sabe-se que este composto é capaz de afetar cerca de 200 espécies de insetos predadores de plantas.

A diversidade de estruturas encontradas nas substâncias que mostraram atividades distintas e diversas sobre o comportamento alimentício, reprodutivo e de desenvolvimento nos vários estágios, torna muito difícil estabelecer correlações qualitativas quanto à compreensão da relação estrutura-atividade inseticida/repelente dentre os limonóides. Isto é resultado de observações quando diferentes grupos de pesquisa utilizaram os mesmos bioensaios, obtendo diferenças interespecíficas como resposta ao teste com insetos. Mesmo quando uma mesma espécie de inseto foi utilizada, diferenças no estágio de desenvolvimento larval associadas a diferenças na sensi-

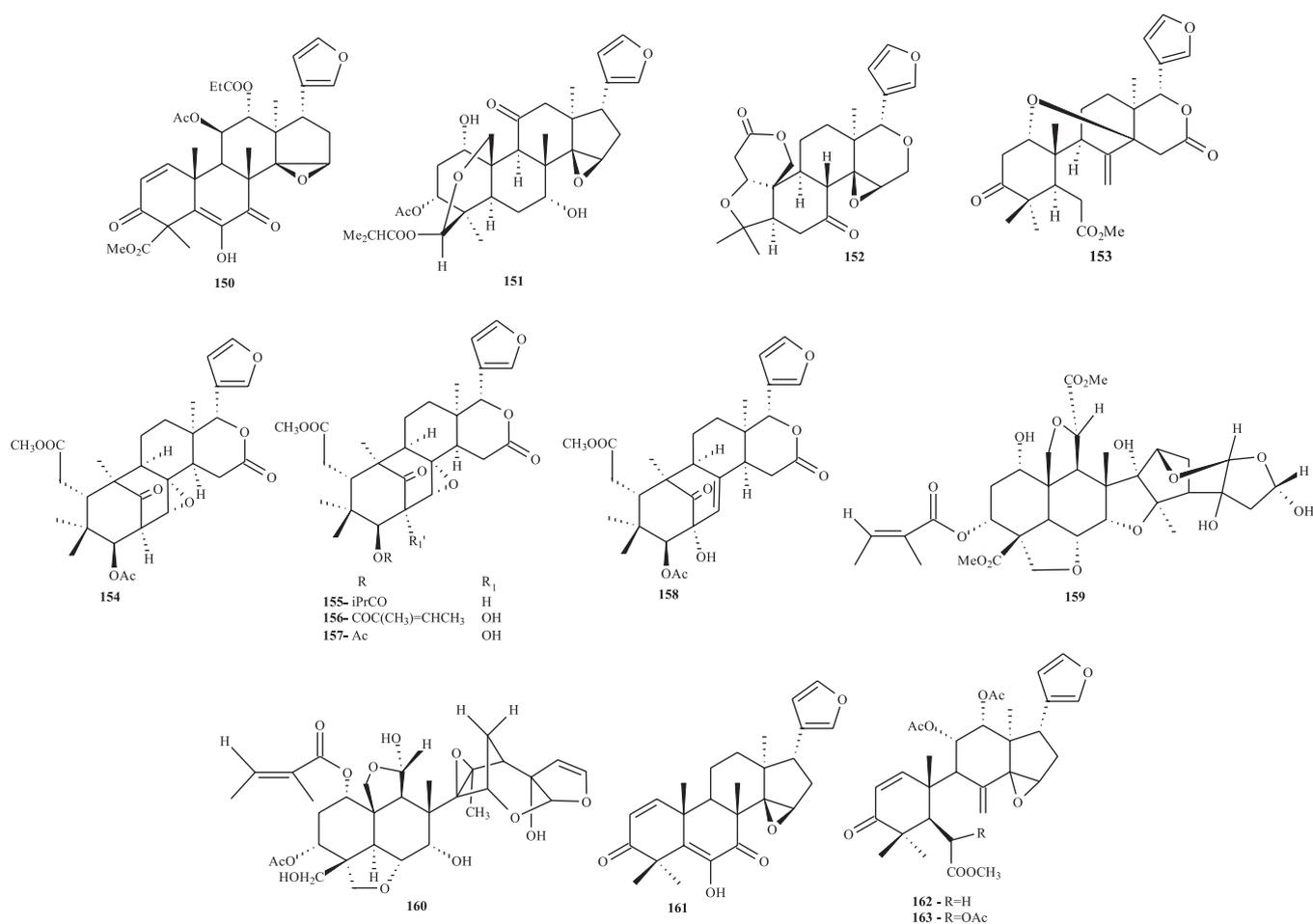


Figura 16

bilidade aos aleloquímicos poderiam tornar inválidas as comparações e os resultados³⁴.

Por outro lado, a grande maioria dos estudos foi conduzida na busca por efeitos de supressão de apetite, não indicando nenhum efeito comportamental, incluindo toxicidade ou atividade reguladora de crescimento do inseto. Estes resultados permitem concluir que a atividade principal dos limonóides seja fago-inibidora. Os bioensaios utilizados para avaliar a ação fago-inibidora, sejam com ou sem escolha alimentar, na sua grande maioria não foram capazes de identificar separadamente as atividades de inibição da alimentação e toxicidade pós-ingestão.

Os resultados referentes à bioatividade e à racionalização de aspectos estruturais com atividade não foram, ainda, conclusivos acerca de aspectos evolucionais dos limonóides. Entretanto, a seleção natural imposta pelos insetos herbívoros como força motriz da evolução destes compostos não pode ser descartada. Todos os tipos de bioensaios, até o momento, têm utilizado espécies oligofágicas e polifágicas que raramente ou nunca se alimentam de ou atacam espécies produtoras de limonóides.

A importância da suposta relação co-evolucionária entre plantas e insetos predadores deveria ser examinada num contexto diferente, considerando-se a observação de diversos insetos que se alimentam de plantas que contém limonóides. Exemplo disto é o caso de *Hypsipyla grandela* que ataca espécies de *Cedrela* de forma tão agressiva que torna muito difícil manter as plantações, apesar de uma ou-

tra espécie bastante próxima, a *Toona*, ser altamente resistente^{44,45}. Neste caso, *H. grandela* deve ter desenvolvido resistência, adaptando-se para conviver com limonóides do tipo apo-eufol, como a cedrelona (**161**) que está presente nos brotos, casca e folhagem da *Cedrela*. A resistência da espécie *Toona* pode ser devida à presença de limonóides B-*seco*, como a toonacilina (**162**) e a 6-acetoxitoonacilina (**163**), que provavelmente derivam da cedrelona (**161**), que também ocorre nesta planta^{12,43,44,47,60} (Figura 16).

Estes e outros exemplos conhecidos mostram que deve haver uma estreita relação entre a adaptação de insetos a espécies de vegetais evolutivamente anteriores a outras que não são atacadas, ou mesmo espécies distintas de um mesmo gênero ou família, que produzem limonóides distintos e mantêm-se livres do ataque de insetos. Esta inter-relação inseto-planta parece ser o aspecto direto mais provável para a enorme diversidade de estruturas químicas encontradas nos limonóides⁴⁴⁻⁴⁶.

A eficiência e a seletividade observadas nos compostos isolados de *A. indica* e outros inseticidas naturais refletem a enorme contribuição que a natureza pode fornecer, o que justifica a urgência com que se buscam alternativas para os produtos inseticidas sintéticos convencionais.

Motivados pela toxicidade dos produtos sintéticos frente a mamíferos, inclusive o homem, e à capacidade dos insetos em desenvolverem resistência, o setor agrícola e os órgãos de legislação e proteção ambiental, principalmente aqueles diretamente ligados às atividades

produtivas e comerciais, estão, num processo rápido e gradual, estimulando e substituindo os produtos sintéticos em favor de métodos de controle biológico que possam melhor atender às necessidades.

Os produtos inibidores de crescimento, sejam de origem natural ou sintética, despertam especial interesse e uma corrida crescente na busca por novas substâncias químicas objetivando, principalmente, maior seletividade em relação àqueles atualmente em uso, com atividade neurotóxica.

Um modelo interessante é aquele que atua seletivamente no sistema hormonal. Este pode sofrer distúrbios por um inibidor de crescimento de forma direta, através da aplicação de análogos de hormônios como os juvenóides, ou de forma indireta, pela interferência de uma regulação neuro-endócrina por seus hormônios periféricos na formação do exoesqueleto^{6,26}.

Outras alternativas são os supressores de apetite, que atuam causando intoxicação alimentar, embora possam direcionar os insetos às partes da planta que não foram tratadas. Entretanto, a busca por novos inseticidas é de fundamental importância no controle de doenças infecciosas, cujos vetores sejam insetos. Pode ser possível que um parasita específico seja controlado por inibidores de crescimento de insetos, semelhantemente ao que a azadiractina faz em relação ao distúrbio no sistema endócrino e, conseqüentemente, na situação morfológica do inseto.

AGRADECIMENTOS

O autor agradece à FAPESP pela concessão da bolsa de doutorado e às Profs. Dra. V. da S. Bolzani e Dra. M. L. Ribeiro pelo estímulo, sugestões e correções do manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Mariconi, F. A.; *Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas*, 2ª. ed., Agron. Ceres Ltda.: São Paulo, 1963.
- Mariconi, F. A. M.; *Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas*, 5ª ed., Nobel, São Paulo, 1981, vol. 1.
- Addor, R. W. Em *Agrochemical from Natural Products*; Godfrey, C. R. A., ed.; Marcel Dekker Inc.: New York, 1994.
- Larini, L.; *Toxicologia dos Inseticidas*, Ed. Sarvier: São Paulo, 1979.
- Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. Em *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; de Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; 1ª. ed., Ed. UFSC e UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre, 1999.
- Corbett, J. R.; Wright, K.; Baille, A. C.; *The Biochemical Mode of Action of Pesticides*, 2nd ed., Academic Press: New York, 1984.
- Klocke, J. A.; Hu, M. Y.; Chiu, S. F.; Kubo, I.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1797.
- Godfrey, C. R. A.; *Agrochemical from Natural Products*, Marcel Dekker Inc., New York, 1994.
- Harborne, J. B.; *Nat. Prod. Rep.* **1996**, *83*.
- Ndumu, P. A.; George, J. B. D.; Choudhury, M. K.; *Phytoter. Res.* **1999**, *13*, 532.
- Rembold, H.; *Insecticides of Plant Origin, ACS Symp. Ser.* **1989**, *387*, 150.
- Champagne, D. E.; Isman, M. B.; Towers, G. H. N.; Ref. 11, 95.
- Harborne, J. B.; *Nat. Prod. Rep.* **1993**, *327*.
- Nakatani, M.; Huang, R. C.; Okamura, H.; Iwagawa, T.; Tadera, K.; *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1773.
- Nakatani, M.; Abdelgaleil, S. A. M.; Okamura, H.; Iwagawa, T.; Sato, A.; Doe, M.; *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6473.
- Nakatani, M.; *Heterocycles* **1999**, *50*, 595.
- Nakatani, M.; Shimokoro, M.; Zhou, J.-B.; Okamura, H.; Iwagawa, T.; Tadera, K.; Nakayama, N.; Naoki, H.; *Phytochemistry* **1999**, *52*, 709.
- Bohnenstengel, F. I.; Wray, V.; Witte, L.; Srivastava, R. P.; Proksch, P.; *Phytochemistry* **1999**, *50*, 977.
- Bruno, M.; Vassallo, N.; Simmonds, M. S. J.; *Phytochemistry* **1999**, *50*, 973.
- Bruno, M.; Ciriminna, R.; Piozzi, F.; Rosselli, S.; Simmonds, M. S. J.; *Phytochemistry* **1999**, *53*, 1055.
- Fontana, G.; Paternostro, M. P.; Savona, G.; Rodríguez, B.; de la Torre, M. C.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1242.
- Mootoo, B. S.; Ali, A.; Motial, R.; Pingal, R.; Ramial, A.; Khan, A.; Reynolds, W. F.; Mclean, S.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1514.
- De la Torre, M. C.; Rodríguez, B.; Bruno, M.; Vassallo, N.; Bondi, M. L.; Piozzi, F.; Servettaz, O.; *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 1229.
- Tincusi, B. M.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. G.; Missico, R.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1520.
- Arnason, J. T.; Isman, M. B.; Philogene, B. J. R.; Waddell, T. G.; *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 690.
- Picman, A. K.; *Biochem. Syst. Ecol.* **1986**, *14*, 255.
- Maotian, W.; Hailin, Q.; Man, K.; Yanzi, L.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3931.
- Wakabayashi, N.; Wu, W. J.; Waters, R. M.; Redfern, R. E.; Mills Jr., G. D.; DeMillo, A. B.; Lusby, W. R.; Andrzejewski, D.; *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 537.
- Liu, J. K.; Jia, Z. J.; Wu, D. G.; Zuou, J.; Wang, Q. G.; *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2503.
- Agarwal, S. K.; Verma, S.; Singh, S. S.; Tripathi, A. K.; Khan, Z. K.; Kumar, S.; *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *71*, 231.
- Russel, G. B.; Hunt, M. B.; Bowers, W. S.; Blunt, J. W.; *Phytochemistry* **1994**, *35*, 1455.
- Tsanuo, M. K.; Hassanali, A.; Jondiko, I. J. O.; Torto, B.; *Phytochemistry* **1993**, *34*, 665.
- Porter, R. B. R.; Reese, P. B.; Williams, L. A. D.; William, D. J.; *Phytochemistry* **1995**, *40*, 735.
- Klocke, J. A.; *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry, ACS Symp. Ser.* **1987**, *330*, 396.
- Kubo, I.; Asaka, Y.; Shibata, K.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2545.
- Alexander, I. C.; Pascoe, K. O.; Manchard, P.; Williams, L. A. D.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1801.
- Harborne, J. B.; *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 509.
- Simmonds, M. S. J.; Blaney, W. M.; Ley, S. V.; Savone, G.; Bruno, M.; Rodríguez, B.; *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1069.
- Wang, S.; Ghisalberti, E. L.; Ridsdill-Smith, J.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 508.
- Daniewski, W. M.; Gumulka, M.; Anczewski, W.; Masnyk, M.; Bloszyk, E.; Gupta, K. K.; *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1279.
- Luo, X.; Ma, Y.; Wu, S.; Wu, D.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1022.
- Butterworth, J. H.; Morgan, E. D.; *Chem. Commun.* **1968**, 23.
- Champagne, D. E.; Koul, O.; Isman, M. B.; Scudder, G. G. E.; Towers, H. N.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 377.
- Oiano, J. N.; *Tese de Doutorado*; Universidade Federal de São Carlos, Brasil, 2000.
- De Paula, J. R.; Vieira, I. J. C.; da Silva, M. F. G. F.; Fo, E. R.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; Pinheiro, A. L.; Vilela, E. F.; *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1449.
- da Silva, M. F. G. F.; Agostinho, S. M. M.; de Paula, J. R.; Oiano, J. N.; Castro-Gamboa, I.; Filho, E. R.; Feraanandes, J. B.; Vieira, P. C.; *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 1083.
- Maia, B. H. L. N. S.; de Paula, J. R.; Sant'ana, J.; da Silva, M. F. G. F.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; Costa, M. S. S.; Ohashi, O. S.; Silva, J. N. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, *11*, 629.
- Lee, S. M.; Olsen, J. I.; Schweizer, M.P.; Klocke, J.A.; *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2777.
- Vanuci, C.; Lange, C.; Dupont, B.; Davoust, D.; Vauchot, B.; Clement, J. L.; Brunck, F.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 3003.
- Lavie, D.; Jain, M. K.; Shpan-Gabrielith, S. R.; *Chem. Commun.* **1967**, 910.
- Zanno, P. R.; Miura, I.; Nakanishi, K.; Elder, D. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1975.
- Kraus, W.; Bokel, M.; Klenk, A.; Pohnl, H.; *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6435.
- Stone, R.; *Science* **1992**, *255*, 1070.
- Lee, S. M.; Klocke, J. A.; Balandrin, M. F.; *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3543.
- Aldhous, P.; *Science* **1992**, *258*, 893.
- Huang, R. C.; Okamura, H.; Iwagawa, T.; Tadera, K.; Nakatani, M.; *Phytochemistry* **1995**, *38*, 593.
- Mootoo, B. S.; Ramsewak, R.; *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 544.
- Dewick, P. M.; *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, John Wiley & Sons: New York, 1997.
- Mann, J.; *Chemical Aspects of Biosynthesis*, Oxford University Press: Oxford, 1994.
- Veitch, N. C.; Wright, G. A.; Stevenson, P. C.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1260.