

A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos

Simone Aparecida Galerani MOSSINI e Carlos KEMMELMEIER*

*1 Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica,
Avenida Colombo, 5790, BR- 87020-900. Maringá, PR Brasil*

RESUMO. O Nim é uma árvore milenar, nativa da Índia, que vem sendo utilizada há séculos para os mais variados fins. Suas atividades medicinais e praguicidas têm sido fonte de grande interesse na pesquisa científica. A planta fornece grande número de metabólitos secundários com atividade biológica, sendo a azadiractina considerada de maior importância ecológica. A pesquisa envolvendo a planta vem crescendo nos últimos anos, devido à procura por métodos ambientalmente seguros no controle de pragas, sendo evidente que a árvore pode desempenhar um papel importante no manejo integrado de sistemas, e também devido aos seus comprovados efeitos medicinais.

SUMMARY. "The Neem tree (*Azadirachta indica*): wide-ranging uses". Neem is a millenary tree native to India where it has traditionally been used for centuries for treatment of human ailments and pest control. The Neem tree has fascinated scientists from various fields of research as its secondary metabolites find use in agriculture and medicine. A large number of biologically active compounds have been isolated from it; the best known among them is azadirachtin, which is considered to be of the most ecological importance. Studies on the various parts of the tree have been increased significantly and its active principles have interesting potential for use in integrated pest management and alternative medicines.

INTRODUÇÃO

Azadirachta indica (sin. *Antelaea azadirachta*, *Melia azadirachta*), conhecida popularmente como Nim, tem sido usada por séculos no Oriente como: planta medicinal (no tratamento de inflamações, infecções virais, hipertensão e febre), planta sombreadora, repelente, material para construção, combustível, lubrificante, adubo e mais recentemente como praguicida¹⁻³. Embora os praguicidas sintéticos ainda sejam o principal meio de proteção às culturas, o uso de métodos alternativos tem aumentado, em função da necessidade atual de superar problemas como resistência e redução dos riscos de contaminação ambiental provocados pelos produtos sintéticos não-biodegradáveis.

A procura por compostos naturais com potencial preventivo e curativo, sem indesejáveis

efeitos tóxicos, vem crescendo nas últimas décadas. Devido à baixa toxicidade e larga distribuição na natureza, o Nim pode ser considerado como uma valiosa fonte para uso na Medicina tradicional e no desenvolvimento de drogas modernas. Em geral, os efeitos benéficos de produtos naturais, como o Nim, podem ser atribuídos a um ou mais compostos fitoquímicos, incluindo antioxidantes, flavonóides e outras substâncias.

A presente revisão tem por objetivo trazer as principais informações sobre as inúmeras qualidades e potencial do uso do Nim presentes na literatura científica nacional e internacional.

A planta Nim

A árvore Nim cresce bem em áreas de clima tropical e subtropical⁴. É uma planta pertencen-

PALAVRAS CHAVE: *Azadirachta indica*, Nim, múltiplos usos.
KEY WORDS: *Azadirachta indica*, Neem, wide-ranging uses.

* Autor a quem dirigir correspondência. E-mail: ckemmelmeier@uem.br

te à família Meliaceae, como o mogno, sendo hoje conhecida pelo nome botânico *Azadirachta indica* A. Juss. O porte da árvore pode variar de 15 a 20 m de altura, com tronco semi-reto a reto, de 30 a 80 cm de diâmetro, relativamente curto e duro, com fissuras e escamas, de coloração marrom-avermelhada. O diâmetro da copa varia de 8 a 12m, podendo atingir 15 m em árvores isoladas ².

São árvores atrativas, com grande quantidade de folhas sempre verdes, do tipo imparipenadas, alternadas, com folíolos de coloração verde-claro intenso, que caem somente em casos de seca extrema. As raízes penetram profundamente no solo, onde o local permite, e quando sofrem algum tipo de dano, produzem brotos. O sistema radicular da planta é composto por uma raiz pivotante, sua principal sustentação, possibilitando a retirada de água e nutrientes de grandes profundidades e de raízes laterais auxiliares.

As flores são pequenas, brancas, bissexuadas, brotam em feixes axiais, arranjando-se em inflorescências de cerca de 25 cm de comprimento; possuem um perfume semelhante ao mel e atraem muitas abelhas. Os frutos são lisos, glabros, elipsóides, com 1,5 cm x 2 cm de comprimento, de cor amarelada quando maduros, com uma polpa doce envolvendo as sementes, que são compostas por uma casca e um ou mais caroços. As sementes e as folhas são usualmente empregadas no controle de pragas ^{2,3}.

A árvore normalmente começa a fornecer frutos após 3-5 anos do plantio, com produção superando 25 kg/planta a partir do quinto ano ³. A produção de frutos ocorre principalmente entre julho e setembro, podendo ocorrer uma segunda florada entre novembro e janeiro. O Nim é facilmente propagado, tanto sexualmente quanto vegetativamente, podendo ser plantado por meio de sementes, mudas, árvores novas, brotos de raiz ou tecido de cultura. Entretanto, o crescimento se mostra melhor em áreas com chuvas anuais de 800 - 1800 mm, solos arenosos, profundos e bem drenados, com pH entre 6,5 e 7,5 e temperaturas de 20 °C ².

Apesar de possuir atividade inseticida, existem insetos que danificam a planta, como as formigas cortadeiras, causadoras de desfolha do Nim, percevejos e cochonilhas. No Brasil, a doença ocorre esporadicamente, não ocasionando danos significativos para caracterizá-las como pragas do Nim ².

A química do Nim

Nim é capaz de se proteger contra grande

número de pragas por meio de uma grande quantidade de compostos bioativos. Seus principais elementos químicos são uma mistura de 3 ou 4 compostos correlatos, que podem ser modificados em mais de 20 outros menores, porém não menos ativos. No geral, esses compostos pertencem à classe dos produtos naturais conhecidos por triterpenos, mais especificamente limonóides. De fato, pelo menos 9 limonóides de Nim têm demonstrado habilidade em bloquear o desenvolvimento de pragas agrícolas. Dentre esses, o limonóide ou tetranortriterpenóide azadiractina é o mais estudado e mais potente. Apesar de os compostos bioativos presentes no Nim serem encontrados em toda a planta, aqueles presentes primeiramente nas sementes e folhas são os que possuem compostos mais concentrados e acessíveis, facilmente obtidos por meio de processos de extração em água e solventes orgânicos como hidrocarbonetos, álcoois, cetonas ou éteres ^{2,5}.

Métodos de extração com solventes fornecem vários compostos biologicamente ativos e o mais antigo e popular método utilizando água é extremamente eficaz. Por outro lado, o uso de solventes não-polares fornece uma variedade de compostos químicos. Após a extração, métodos de separação podem ser utilizados no isolamento e identificação dos compostos, como HPLC e análises espectrofotométricas ⁵. Várias técnicas têm sido modificadas para tornar mais eficiente o processo de extração dos compostos bioativos do Nim, com grande enfoque no composto azadiractina ⁶⁻⁸.

Paralelamente, grande número de novos triterpenóides com atividade biológica vem sendo isolados de extratos de sementes e folhas do Nim ⁹⁻¹². Também têm sido identificados produtos derivados e produtos análogos do composto azadiractina ^{13,14}. Dos nove isômeros de azadiractina descritos na literatura, azadiractina A e B representam a maior concentração de metabólitos presentes nas sementes e são consideradas importantes para a comercialização da planta como biopesticida ¹⁵. A azadiractina se concentra principalmente nos frutos, aumentando ao longo do desenvolvimento, sendo máxima no amadurecimento e durante o armazenamento, podendo sofrer variações de acordo com o modo de colheita, armazenamento, teores de umidade, presença de luz, temperatura e variações no pH ^{2,3}.

Jain *et al.* ¹⁶ detectaram que, quando a árvore está situada em solos ligeiramente alcalinos, apresenta maior quantidade de nutrientes disponíveis, e que fatores ambientais, como latitude

geográfica, desempenham papel significativo no aumento de produtividade da planta. Outros estudos também relatam variações no conteúdo de azadiractina entre plantas provenientes de diferentes regiões e países, entretanto, tais variações não são atribuídas apenas às condições climáticas, uma vez que ocorrem de forma individual entre as árvores de uma mesma região, mas sim devido a diferenças genéticas ¹⁵.

Efeitos praguicidas do Nim

Apesar de os efeitos de produtos à base de Nim serem bastante conhecidos no controle de insetos, podem também influenciar outros organismos como os nematóides (uma das pragas mais devastadoras na agricultura), caramujos (especialmente *Biomphalaria glabrata*, auxiliando no controle da esquistossomose), crustáceos (que prejudicam culturas de arroz por utilizarem as mesmas fontes de nitrogênio), viroses de plantas e fungos. Por outro lado, a planta contém compostos que podem produzir um acréscimo na produção de certas espécies benéficas à agricultura. Bons exemplos disso são aumentos em cerca de 25% na produção de minhocas (*Eisenia foetida*) utilizadas no melhoramento de solos e de compostos que parecem ser benignos para aranhas, borboletas, abelhas que polinizam plantações e árvores, joaninhas que consomem pulgões, e vespas que atuam como parasitas em várias pragas agrícolas ^{1,2}.

Há relatos na literatura sobre o efeito inseticida do Nim envolvendo principalmente, lagartas e besouros, sendo várias espécies de lepidópteros, coleópteros, homópteros, dípteros e heterópteros testadas com resultados positivos ². Espécies de insetos reagem diferentemente aos compostos do Nim. Estudos têm indicado que limonóides presentes na planta possuem diversos mecanismos e sítios de ação ¹⁷, causando efeito antialimentar ^{2,3,17-24}, efeito repelente de postura de ovos ²⁵⁻²⁷, efeito regulador do crescimento ^{2,3,17,19,28}, interferência nas funções bioquímicas e fisiológicas ^{2,19,21,22}, efeitos sobre a reprodução ^{2,3,29}, e, em certos casos, a morte ^{19,28-30}. Outros estudos demonstraram uma ação direta, inibindo a motilidade por meio de efeitos citotóxicos ^{17,19}, e promovendo inibição da síntese de quitina ³. Estes resultados não são apenas dose-dependentes, há um aumento do poder de resposta com os primeiros estádios larvais. Entretanto, algumas espécies reagem de maneira diferente, sofrendo ação do Nim apenas ao final da fase adulta ².

Estudos relatam seu uso com finalidade repelente contra mosquitos dos gêneros *Aedes*,

Culex, *Anopheles*, demonstrando segurança e eficácia nas aplicações ³¹⁻³³. Rahman *et al.* ³⁴ demonstraram efeito larvicida do Nim contra o mosquito *Culex quinquefasciatus*, enquanto Elhga *et al.* ³⁵ verificaram efeito sobre a habilidade de eclosão dos ovos e desenvolvimento larval do mosquito *Culex pipiens*, efeitos dependentes da dose e tempo de exposição. Produtos de Nim também mostram potencial considerável no controle de pragas em grãos estocados, sendo o efeito repelente importante. Um bom exemplo é o tratamento com óleo de Nim em sacos de juta prevenindo a penetração de pragas por vários meses ³.

A eficácia do Nim sobre ácaros e nematóides na agricultura ^{2,26,36,37} tem gerado interesse como um meio efetivo de controle dessas pragas, principalmente devido à característica da planta de ser inócua a organismos não-alvo ³⁷.

A atividade moluscocida do Nim também ocorre de maneira dose e tempo-dependente, com eficácia superior aos moluscocidas sintéticos ³⁸. Estudos envolvendo a ação do extrato de óleo da semente de Nim sobre lesmas comestíveis não mostraram efeitos nocivos, já extratos crus da casca, raiz e folhas a 500 e 700 mg kg⁻¹ produziram mortalidade após 48h de exposição para *Limicolaria aurora* e em 72h para *Archachatina marginata* ³⁹.

O composto azadiractina se mostra eficaz na inibição da transmissão de *Trypanosoma cruzi*, agente causal da Doença de Chagas, mediante sua ação sobre o inseto barbeiro *Rhodnius prolixus* ².

Testes envolvendo o uso de extratos de folhas em cultura líquida mostraram inibição do crescimento vegetativo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, e *Sclerotinia sclerotiorum*. Há relatos da ação de extratos aquosos de folhas na inibição, em vários graus, de certos patógenos foliares do arroz: *Pyricularia oryza*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia lunata*, *Aspergillus niger* e *Fusarium moniliforme*, sendo o grau de atividade variável com o organismo em teste; *Sarcocladium oryzae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, *Phaeosariopsis personata* e *Puccinia arachidis* em amendoim, e *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* também em amendoim ^{1,40}. Outros relatos têm confirmado a atividade antifúngica dos extratos ^{2,41-44}; efeitos fungitóxicos *in vitro* ⁴⁵; efeito fungistático sobre fungos fitopatogênicos, ⁴⁵ dentre eles *Aspergillus flavus*, *Diaporthe phascolorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides* e *Sclerotinia sclerotiorum* ⁴⁷; atividade fungistática com inibição da

produção de aflatoxina B1 em cultura submersa de *Aspergillus spp* aflatoxigênica ⁴⁸; inibição da formação de aflatoxina em *Aspergillus parasiticus* em níveis superiores a 90% com extrato de Nim 50% (v/v) ⁴⁹. Análises por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta performance demonstram inibição da produção de patulina pelo fungo *Penicillium expansum* em concentrações de extrato aquoso 10%, superiores a 50 mg/ml, em meio de cultivo líquido ⁵⁰.

Também de difícil controle, viroses de plantas se mostram suscetíveis à ação do Nim ⁵¹.

Usos na pecuária e veterinária

Além da ação repelente contra carrapato e mosca-do-chifre, o Nim vem sendo utilizado no controle de pulgas e piolhos, na cicatrização e assepsia de ferimentos, na cura da sarna e como vermífugo ².

O uso da torta de Nim como suplemento alimentar vem sendo avaliado com resultados satisfatórios tanto do ponto de vista econômico, quanto da segurança, podendo até mesmo substituir a ração em alguns casos ⁵². Rao *et al.* ⁵³ avaliaram a ação da torta de sementes de Nim adicionada à alimentação de cabras e por meio de análises sanguíneas verificaram redução no conteúdo lipídico e aumento de ácidos graxos insaturados, achados considerados benéficos na redução dos níveis de colesterol, não afetando a qualidade da carne.

Outros estudos indicam que o uso da torta de semente de Nim tratada com uréia em substituição à torta de amendoim na alimentação de ovelhas é uma excelente fonte protéica, com resultados positivos em relação ao ganho de peso, economia e segurança; entretanto pode ocorrer formação de microcálculos nos rins ⁵⁴.

As propriedades anti-helmínticas foram avaliadas contra *Heligmosomoides polygyrus* em ratos, não demonstrando efeito biológico significativo nesse modelo ⁵⁵. Estudos envolvendo atividade anti-helmíntica em cordeiros também não mostraram eficácia quando comparado ao composto de referência ⁵⁶.

Usos na agricultura

Produtos à base de Nim têm sido aplicados em culturas, por meio de polvilhamento do pó de sementes e folhas, para controle de pragas como a lagarta e mediante pulverização de extratos aquosos ou de soluções de óleo emulsional para controle de insetos e outras pragas foliares. A incorporação de folhas, frescas ou secas, no solo tem reduzido a população de nematóides, sendo que a ação do produto aumen-

ta à medida que vai se decompondo. Cultivos de tomate, berinjela, repolho e couve-flor conduzidos em plantio intercalado com Nim têm demonstrado redução nas infestações por nematóides ².

Um dos principais problemas do uso de Nim é a durabilidade do composto azadiractina. Nas condições do campo, a atividade dos compostos se reduz rapidamente permanecendo por 4 a 8 dias, devido a fotodegradação provocada pela luz ultravioleta, baixa de pH e chuvas, havendo a necessidade de muitas aplicações por estação ^{3,4,57}. Por outro lado, a derivação do produto natural estabiliza a azadiractina aumentando sua atividade residual ⁴.

Três formulações básicas têm sido preconizadas para uso no manejo de pragas: extrato aquoso, óleo da semente e pó da semente, sendo as soluções aquosas empregadas na pulverização de culturas no campo e as formulações em óleo ou pó na preservação de grãos estocados ⁵⁸.

Aplicações de suspensão aquosa de extratos de Nim, por meio de pulverização foliar, sobre tomate e pimenta, em casa de vegetação e no campo, não só reduziram a incidência de doença como também aumentaram o rendimento, produzindo frutos mais saudáveis sem causar efeitos fitotóxicos ⁵⁹.

Estudos comparando a eficácia de produtos à base de Nim em relação ao praguicida hexacloro benzeno (BHC) demonstraram superioridade significativa na redução da oviposição, eclosão e do desenvolvimento larvar em *Caryedon serratus* Olivier ⁶⁰.

Nim tem sido aplicado em plantios hidropônicos, demonstrando controle eficiente contra ataques por insetos, sendo que o efeito é concentração e tempo dependente ⁶¹. Também o uso de produtos à base de Nim no manejo de pragas do algodão tem sido visto com potencial para ser empregado em larga escala, por ser efetivo, econômico e ambientalmente seguro ⁶².

Pesquisadores utilizando extratos de sementes puderam demonstrar inibição significativa da nitrificação, promovendo a imobilização do sulfato de amônia e aumentando a eficiência do uso de N em diferentes tipos de solo ⁶³. Segundo Majumdar *et al.* ⁶⁴, produtos à base de Nim são úteis no processo de inibição da nitrificação e podem ser utilizados em adição ao composto *dicyandiamide* (DCD) para reduzir a emissão de N₂O a partir do cultivo de arroz. Experimentos empregando Nimin (extrato etanólico de Nim) em cultura de menta japonesa (*Mentha arvensis*) demonstraram eficácia comparável ao

DCD na redução da formação de NO_3^- no solo, além de aumentar a produção da erva e o rendimento de óleos essenciais a partir do cultivo ⁶⁵.

Gajalakshmi & Abbasi ⁶⁶ investigaram o uso de folhas de Nim como substrato para produção de vermifertilizante. Neste modelo, as minhocas se alimentavam do fertilizante de Nim com uma taxa de conversão em vermifertilizante superior a 7% ao dia. Segundo o estudo, a planta pode fornecer um fertilizante que funciona também como pesticida.

Xuan *et al.* ⁶⁷ demonstraram o efeito alelopático proveniente de compostos fenólicos presentes na casca e folhas do Nim sobre a germinação e crescimento de alfafa (*Medicago sativa* L.), feijão (*Vigna angularis*), cenoura (*Daucus carota* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), sesame (*Sesamum indicum* L.) e ervas-daninhas *Echinochloa crus-galli*, *Monochoria vaginalis* e *Aeschynomene indica* L. em laboratório e no solo.

Chaturvedi *et al.* ⁶⁸ procurando aumentar e melhorar a produção da planta realizaram estudos, inicialmente envolvendo a produção do Nim em cultura e posteriormente ⁶⁹ utilizando a propagação clonal de árvores de Nim, escolhidas pelo conteúdo em azadiractina, e verificaram que a seleção promovia considerável melhoria na produção do composto, além de acelerar consideravelmente a produção do material para o plantio.

Usos na biorremediação

Nim tem sido utilizado na descoloração de corantes têxteis sintéticos: o resíduo da casca de Nim (rico em lignina e outros compostos fenólicos) é empregado para produção de lignina peroxidase por *Phanerochaete chrysosporium* sob fermentação sólida ⁷⁰. Pó de folhas de Nim tem sido utilizado com eficácia para remoção do corante Verde Brillante presente em soluções aquosas, como uma alternativa ao uso de carvão ativado ⁷¹.

O comportamento da casca de Nim como bioabsorvente dos metais pesados tóxicos Cd^{2+} , Hg^{2+} , e Cr^{3+} , em submicro concentrações, na remediação ambiental a partir de lixo aquoso tem sido investigado com resultados positivos ⁷². Produtos de Nim também têm sido utilizados na remoção de amônia a partir de água salobra ⁷³.

A casca da árvore é também utilizada no preparo de corantes, usados no tingimento de tecidos finos. Nim se mostra resistente aos gases poluentes, tolerante à seca e ao dióxido de enxofre e atua como indicador da presença de pó

e fumaça, na redução da erosão do solo e purificando o ar ⁷⁴.

Efeitos medicinais do Nim

Grandes variedades de atividades farmacológicas e aplicações medicinais são conhecidas a partir de várias partes da planta. Relatos na literatura têm exibido grande diversidade de funções biológicas a partir de um grupo de compostos presentes na planta. Apesar da exata composição do extrato de Nim ser ainda indeterminada, os componentes da folha solúveis em água têm provado ser eficazes no controle de várias doenças, incluindo câncer ^{75,76}. Na literatura, têm sido descritas atividades anti-sépticas, curativas, antiúlcera, antiinflamatória, antifertilidade, hipolipidêmica e hepatoprotetora ⁷⁷. Dentre essas atividades, o efeito hepatoprotetor das folhas de Nim foi demonstrado por meio de sua administração como pré-tratamento antes do uso de paracetamol. O extrato estabilizou os níveis séricos das enzimas marcadoras de dano hepático, resultados confirmados pelas análises histopatológicas realizadas ⁷⁸. Extrato aquoso de folhas de *A. indica* tem demonstrado capacidade em prevenir e reverter significativamente o dano hepatotóxico induzido por drogas antitumorais em ratos ⁷⁹.

Estudos envolvendo o uso de extrato de folhas de Nim em formulações de gel dental mostram redução da placa bacteriana; folhas têm sido utilizadas no tratamento de gengivites e periodontites ⁸⁰. *Azadirachta indica* mostrou atividade antiinflamatória, mediante a supressão da capacidade do patógeno *Propionibacterium acnes* de induzir espécies oxigênio reativas e citocinas pró-inflamatórias ⁸¹. A ação antibacteriana do óleo de Nim também foi demonstrada *in vitro* contra bactérias patogênicas por meio da inibição da síntese da membrana celular bacteriana ⁸².

Efeitos gastroprotetores (anti-secretor e antiúlcera) têm sido observados com o uso de extrato da casca, equípotentes à ranitidina e ao omeprazol ⁸³, assim como significante inibição da ulceração gástrica induzida por indometacina em ratos ⁸⁴. Atividades hipoglicemiantes foram investigadas em ratos normais e diabéticos, revelando redução significativa nos níveis de glicose sanguínea ^{85,86}; atividades sobre o sistema cardiovascular de gatos e rãs, resultando em efeitos hipotensivos e redutores da atividade cardíaca com o uso de extrato hidroalcoólico de folhas, também têm sido relatadas ⁸⁷. Estudos avaliando o papel protetor de extratos de se-

mentes em ratos com diabetes (induzida por estreptozotocina) indicam prevenção do estresse oxidativo no coração e eritrócitos, protegendo os animais do dano cardíaco ⁸⁸.

Produtos à base de óleo de Nim têm demonstrado efeitos antifertilidade ⁸⁹⁻⁹¹, ação espermicida direta e atividade antimicrobiana significativa contra patógenos sexualmente transmissíveis ⁹¹. Killare & Shrivastan ⁹² realizaram estudos sobre o efeito do extrato de folhas em espermatozoides humanos e constataram potente ação espermicida, sendo que aproximadamente 3 mg de extrato são necessários para imobilizar e matar 100% de 1 milhão de espermatozoides em 20 segundos.

Sementes e folhas administradas oralmente possuem imunomoduladores que induzem reações imunocelulares, causando interrupção completa da gestação antes do estágio de implantação em roedores e primatas, de forma reversível, sendo a fertilidade restaurada nos ciclos subseqüentes. Os efeitos imunomoduladores têm recebido grande atenção, devido às suas propriedades diuréticas, antimicrobianas, antiinflamatórias, antipiréticas, anti-tumorais, e indutoras de interferon ^{93,94}. Potente atividade citotóxica contra um grupo de células humanas cancerígenas foi obtida *in vitro* ⁹⁵. O efeito contraceptivo pós-coital do óleo de Nim não envolve estrogênio ou progesterona, podendo ser considerado como efeito não-hormonal, portanto, não ocasionando os efeitos colaterais dos contraceptivos esteróides ⁹⁶. Em adição à ação contraceptiva, têm sido descritas ações antimicrobianas associadas (antibacteriana, antifúngica e antiviral), úteis na prevenção contra doenças ⁹⁴.

Extrato de folhas administrado em *hamsters*, com carcinoma bucal induzido por 7,12-dimetilbenz[*a*]antraceno (DMBA) promoveu supressão do câncer. Estudos sugerem mecanismo de ação por meio de modulação da peroxidação lipídica, antioxidantes e sistemas de detoxificação ⁷⁶. Resultados de investigações envolvendo a ação quimiopreventiva, possivelmente mediada pela modulação da peroxidação lipídica, antioxidantes e detoxificação de enzimas, são altamente promissores na terapia do câncer, incrementando os mecanismos antioxidantes de defesa do hospedeiro ^{76,97-99}. Flavonas isoladas de flores de Nim mostraram efeitos antimutagênicos baseados na inibição da ativação enzimática de aminas heterocíclicas ¹⁰⁰.

Folhas de Nim podem atuar como mediador na ativação da resposta imune. Baral & Chattopadhyay ⁷⁵, estudando em ratos o efeito profilá-

tico e terapêutico das folhas sobre carcinoma de Ehrlich e melanoma B16, verificaram que o extrato é capaz de proteger o animal contra o crescimento do tumor e assim atuar como agente quimiopreventivo, mediante a ativação imune e/ou outros mecanismos de defesa do hospedeiro.

Existem vários relatos quanto à eficácia da atividade do extrato aquoso de folhas contra grande número de viroses como poxvírus, poliomielite, herpesvírus ⁹⁴. O composto azadiractina e o extrato aquoso de folhas também demonstram ação inibitória *in vitro* e *in vivo* sobre a replicação do vírus da Dengue tipo 2, confirmada por ensaios de inibição viral e RT-PCR ¹⁰¹. A planta possui efeito antiviral contra o grupo Cocksackie B *in vitro*, segundo estudos realizados por Badan *et al.* ¹⁰².

Nim tem sido descrito como possuindo atividade antimalárica: estudos relatam efeitos do extrato de sementes sobre o crescimento e desenvolvimento dos estágios sexual e assexual do parasita humano da malária *Plasmodium falciparum*. O efeito anti-plasmodial ocorre também sobre parasitas já resistentes a outras drogas antimaláricas (cloroquina e pirimetamina), sendo ativo não apenas contra as formas do parasita responsáveis pelos aspectos clínicos da doença, mas também contra as formas responsáveis pela transmissão da malária ¹⁰³⁻¹⁰⁵. Isah *et al.* ¹⁰⁶ avaliaram as propriedades antimaláricas e a padronização do uso de tabletes de Nim em ratos, evidenciando a existência de atividade antimalárica em tabletes preparados a partir da casca e folhas.

O componente bioativo azadiractina tem demonstrado afetar o desenvolvimento do protozoário parasita *Trypanosoma cruzi* em diferentes espécies do vetor triatomíneo ^{103,107}.

Nim tem demonstrado atividade antidermatofítica *in vitro* contra os dermatófitos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton violaceum*, *Microsporum nanum*, *Epidermophyton floccosum* ¹⁰⁸.

Toxicidade

Testes de toxicidade em mamíferos, utilizando produtos à base de Nim, não causaram mortalidade nas doses máximas por via oral aguda, dermal ou por inalação. Extrato aquoso de folhas a 10%, administrado via oral por 24 horas, mostrou leve efeito diurético. Em cães, a administração intravenosa causou diurese, já a administração intramuscular não teve efeito. Atividades mutagênicas e relacionadas a possíveis da-

nos cromossômicos, investigadas *in vivo* e *in vitro*, forneceram resultados negativos ^{2,3}. A DL₅₀/24h do óleo de Nim foi estabelecida como 14 ml/kg em ratos e 24 ml/kg em coelhos ¹⁰⁹. Testes avaliando irritação ocular e cutânea primárias, inalação aguda, resposta imune e sensibilização não forneceram resultados preocupantes do ponto de vista toxicológico ³.

Raizada *et al.* ¹¹⁰ revelam ausência de efeitos adversos com administração de azadiractina 12% via oral, a ratos machos e fêmeas até 1500 mg/Kg/dia por 90 dias, não produzindo sinais de toxicidade, mortalidade, alterações de peso ou dos parâmetros sanguíneos.

Estudos toxicológicos com óleo de Nim não demonstraram presença de efeitos adversos nos parâmetros reprodutivos em ratos monitorados por três gerações, podendo ser recomendado para uso humano ¹¹¹.

Efeitos do extrato aquoso foram investigados em *Tilapia zilli* (Gervais), em condições de laboratório por um período de 96 horas, demonstrando toxicidade aguda ao animal ¹¹².

Extratos podem causar fitotoxicidade quando em altas concentrações, dependendo da espécie, idade e fase de desenvolvimento da planta sobre a qual são aplicados. Todavia, quando utilizados no campo, nas doses recomendadas, não têm demonstrado tal efeito. Além disso, a azadiractina é totalmente biodegradável e sua meia vida no solo é de cerca de 20 dias ².

Produtos à base de Nim não mostram toxicidade a abelhas produtoras de mel na faixa de 500 ppm; minhocas têm se beneficiado com a aplicação de extratos no solo, com aumento de peso e multiplicação; aranhas, borboletas e formigas não apresentam efeitos prejudiciais a partir da exposição aos extratos ^{2,3,113}.

Em estudos sobre a função tireoidiana em ratos machos, o extrato de folhas exibiu diferentes efeitos: em altas doses se mostrou não-seguro quanto à função tireoidiana [decréscimo dos níveis séricos de triiodotironina (T3) e aumento dos níveis de tiroxina (T4)]; promoveu aumento na peroxidação lipídica hepática e decréscimo na atividade da glicose-6-fosfatase; já em doses baixas nenhum efeito foi observado ¹¹⁴.

Estudos investigando o efeito do produto Vepacide (praguicida à base de Nim) sobre as enzimas fostatase ácida e alcalina em diferentes tecidos de ratos albinos Wistar machos e fêmeas, indicam aumentos significativos das enzimas no soro, rins, pulmões e tecido hepático. As alterações enzimáticas se mostraram dose e tempo dependentes, reversíveis com a remoção do

toxicante e passíveis de serem utilizadas como biomarcadores de exposição ao produto ¹¹⁵.

Raji *et al.* ⁸⁴ verificaram que a administração intraperitoneal de *Azadirachta indica* (1000 mg/kg de extrato) não produziu sinal de toxicidade em ratos, nem alteração significativa no peso corpóreo ou de órgãos durante 3 semanas após aplicação, não sendo observados sintomas de diarreia, comportamento estereotípico ou morte durante esse período. Entretanto, a administração oral de 3200 mg/kg de extrato causou 100% de mortalidade.

Segundo estudos realizados por Khan & Awasthy ¹¹⁶ o composto azadiractina pode ser considerado como um carcinógeno genotóxico devido à presença da seqüência (-O-CH=) na estrutura em meio anel furano do composto, como ocorre em muitos carcinógenos, incluindo aflatoxinas. Além disso, a eletronegatividade do composto é da mesma magnitude que ocorre nas moléculas de DNA. A alta incidência de alterações sinápticas e variações numéricas em cromossomos confirmam a citotoxicidade do extrato, em concordância com observações realizadas em cromossomos mitóticos. O estudo revela também um aumento na freqüência de espermatozoides aberrantes, juntamente com diminuição da contagem. Dessa forma, os danos potenciais do extrato não podem ser ignorados, tendo em vista o longo período de risco genético ao homem. Kasturi *et al.* ¹¹⁷ verificaram alterações ultraestruturais, induzidas pelo uso de folhas de Nim, nos testículos de ratos albinos, mediante propriedades antiespermatogênicas e antiandrogênicas, afetando assim a espermatogênese.

Pesquisas realizadas com o produto Nimbo-kil-60 EC (inseticida à base de óleo de semente de Nim) para determinação de toxicidade em mamíferos revelaram ausência de efeitos adversos ou doença nos animais testados. A LD50 foi estabelecida em 16 ml/kg, com ausência de alterações histológicas em órgãos vitais ¹¹⁸.

Raizada *et al.* ¹¹⁰ realizaram estudos toxicológicos administrando azadiractina via oral a ratos machos e fêmeas nas doses de 500, 1000 e 1500 mg/kg/dia por 90 dias. Não foram observados sinais de toxicidade, mortalidade, alterações patológicas ou séricas, sendo a dose de 1500 mg/kg indicada como dose basal para determinação do nível de ausência de efeitos do composto para calcular sua margem de segurança.

CONCLUSÃO

O uso da planta Nim vem se tornando importante na terapia herbal alternativa, graças aos já comprovados efeitos curativos. A planta é uma constante fonte de novos e únicos compostos fitoquímicos utilizados no desenvolvimento de novos fármacos contra várias doenças humanas. Produtos à base da planta estão sendo estudados para o desenvolvimento de drogas seguras e agentes agroquímicos humana e ambientalmente seguros.

Muitas vezes, o foco das pesquisas tem sido o desenvolvimento de métodos de controle de pragas, em que estas não tenham que ser mortas instantaneamente, desde que suas populações possam ser incapacitadas, tornando-se inofensivas às pessoas. Os efeitos precisos de vários tipos de extratos da árvore Nim, quanto ao controle de pragas, são freqüentemente difíceis de serem apontados, uma vez que a complexidade dos compostos e seus diversos modos de ação dificultam a elucidação dos mecanismos envolvidos.

O composto azadiractina exibe boa eficácia contra importantes pragas na agricultura, possui mínimo ou nenhum impacto sobre organismos não-alvo, é compatível com outros agentes de controle biológico e mostra boa adaptação aos programas de manejo integrado de pragas. Já vida residual relativamente curta dos princípios ativos presentes nos extratos de Nim pode ser considerada uma desvantagem do ponto de vista econômico, entretanto, ecologicamente, produtos com tais características não perturbam o ecossistema nem causam o aparecimento de novas pragas.

Os extratos podem ser utilizados quando os métodos de manejo da lavoura não forem suficientes para se evitar perdas, sendo bastante promissores para implementação em programas de controle alternativo de pragas, pois a planta apresenta características importantes como ser rústica, não invasora, perene, não necessitar ser destruída para obtenção dos extratos, ter alto teor de compostos ativos solúveis em água e de fácil extração com baixo custo.

Produtos à base de Nim possuem diferentes efeitos sobre insetos, sendo que os efeitos sobre multiplicação e crescimento são os mais intensos contra grande número de pragas e de grande interesse para o manejo de cultivares. Outros efeitos secundários têm sido observados, incluindo repelência, antioviposição, esterilidade, redução da fecundidade, perda da habilidade de vôo, perturbação da comunicação sexual e redução da motilidade intestinal.

Embora esses produtos possuam algumas falhas, funcionam bem como ferramenta no manejo integrado de pragas, são uma alternativa ambientalmente segura aos químicos sintéticos, têm efeitos significativos sobre pragas sem prejudicarem organismos benéficos aos plantios, e os estudos toxicológicos têm indicado segurança para os mamíferos. Entretanto, achados envolvendo toxicidade aguda em peixes sob condições laboratoriais devem ter suas implicações sobre o meioambiente, discutidas e reavaliadas.

Em relação aos usos medicinais da planta, pode-se destacar suas atividades antimicrobianas, antivirais e antifúngicas, associadas à atividade contraceptiva pós-coital de natureza não-hormonal, portanto, com efeitos colaterais menores que os provocados pelos contraceptivos esteróides, além de promover e manter a saúde dos órgãos sexuais femininos. Já a ação sobre o sistema reprodutor masculino deve ser vista com cautela e necessita de maiores estudos. Quanto às atividades antivirais, o uso de novos agentes antivirais de origem natural, não-tóxicos, de fácil uso e mais baratos, podem ser um grande auxílio às populações de regiões tropicais e subtropicais, mais pobres e mais acometidas pelas doenças.

Dados sugerindo o uso da planta no controle dos níveis sanguíneos de glicose são promissores em direção à prevenção e controle do diabetes, assim como relatos sobre os efeitos quimio-preventivos e antitumorais são valiosos para o desenvolvimento de novas e modernas drogas.

Em relação aos resultados de estudos toxicológicos, os efeitos dos extratos parecem depender da quantidade consumida, enquanto baixas doses não são tóxicas, altas doses exibem disfunção tireoidiana e efeitos hepatotóxicos.

Agradecimentos. Nós gostaríamos de agradecer a Prof.^a Maria Aparecida Neri Galerani e ao Armando Luiz de Sá Ravagnani pela revisão gramatical do manuscrito e ao CNPq pelo suporte financeiro desse trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Locke, J.C. (1995) "*Fungi*" In: "The Neem Tree". Edited By H. Schmutterer, VHC, pp. 118-26.
2. Martinez, S.S. (Ed) (2002) O Nim - *Azadirachta indica* Natureza, Usos Múltiplos, Produção. Publicado pelo IAPAR - Londrina.
3. Schmutterer, H. (1990) *Annu. Rev. Entomol.* **35**: 271-97.
4. Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright (1993) *Pest. Sci.* **37**: 83-91.
5. Lee, S.M., J.I. Olsen, M.P. Schweizer & J.A. Klocke (1988) *Phytochemistry* **27**: 2773-5.

6. Deota, P.T., P.R. Upadhyay, K.B. Patel, K.J. Mehta, B.V. Kamath & M.H. Mehta (2000) *J. Liquid Chrom. Rel. Technol.* **23**: 2225-35.
7. Schaaf, O., A.P. Jarvis, A. Van Der Esch, G. Giagnacovo & N.J. Oldham (2000) *J. Chrom. A.* **886**: 89-97.
8. Dai, J., V.A. Yaylayan, G.S.V. Raghavan, J.R. Parè & Z. Liu (2001) *J. Agric. Food Chem.* **49**: 1169-74.
9. Siddiqui, B.S., F. Afshan, T. Gulzar, R. Sultana, S.N. Naqvi & R.M. Tariq (2003) *Chem. Pharm. Bull.* **51**: 415-7.
10. Siddiqui, B.S., F. Afshan, S. Faizi, S.N. Naqvi & R.M. Tariq (2002) *J. Nat. Prod.* **65**: 1216-8.
11. Hallur, G., A. Sivramakrishnan & S.V. Bhat (2002) *J. Nat. Prod.* **65**: 1177-9.
12. Luo, X., Y. Ma, S. Wu & D. Wu (1999) *J. Nat. Prod.* **62**: 1022-4.
13. Siddiqui, B.S., F. Afshan & S. Faizi (2001) *Tetrahedron* **57**: 10281-6.
14. Ramji, N., K. Venkatakrishnan & K.M. Madyastha (1998) *Phytochemistry* **49**: 265-7.
15. Sidhu, O.P., V.Kumar & H.M. Behl (2003) *J. Agric. Food Chem.* **51**: 910-5.
16. Jain, A., A.K. Singh, H Lal & S.K. Banerjee (2002) *Indian Forester* **128**: 786-94.
17. Koul, O. & M.B. Isman (1991) *J. Insect Physiol.* **37**: 591-8.
18. Abudulai, M., B.M. Shepard & P.L. Mitchell (2003) *J. Entomol. Sci.* **38**: 398-408.
19. Martinez, S. & H.F. Van Emden (2001) *Neotropical Entomol.* **30**: 113-25.
20. Gajmer, T., R. Singh, R.K. Saini & S.B. Kalidhar (2003) *J. Med. Arom. Plant Sci.* **25**: 108-12.
21. Carpinella, M.C., M.T. Defago, G. Valladares & S.M. Palacios (2003) *J. Agric. Food Chem.* **51**: 369-74.
22. Govindachari, T.R., G. Suresh, Geetha-Gopalakrishnan & S.D. Wesley (2000) *J. Appl. Entomol.* **124**: 287-91.
23. Al-Rajhy, D.H., A.M. Alahmed, H.I. Hussein & S.M. Kheir (2003) *Pest Manag. Sci.* **59**: 1250-4.
24. Gupta, G.P. & A. Birah (2001) *Indian J. Agric. Sci.* **71**: 325-8.
25. Patil, R.S. & K.B. Goud (2003) *J. Entomol. Res. New Delhi* **27**: 13-8.
26. Lale, N.E.S. & A. Mustapha (2000) *J. Stored Prod. Res.* **36**: 215-22.
27. Gajmer, T., R. Singh, R.K. Saini & S.B. Kalidhar (2002) *J. Appl. Entomol.* **126**: 238-43.
28. Mancebo, F., L. Hilje, G.A. Mora & R. Salazar (2002) *Crop Prot.* **21**: 107-12.
29. Webb, E.C. & M. David (2002) *South African J. Anim. Sci.* **32**: 1-6.
30. Azam, K.M., A.A. Raeesi, A. Srikandakumar & W.S. Bowers (2003) *Crop Res. Hisar.* **25**: 567-71.
31. Dua, V.K., B.N. Nagpal & V.P. Sharma (1995) *The Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* **26**: 180-2.
32. Sharma, S.K., V.K. Dua & V.P. Sharma (1999) *Acta Tropica.* **72**: 39-52.
33. Palsson, K. & T.G.T. Jaenson (1987) *Vet. Human Toxicol.* **29**: 16-9.
34. Rahman, M.M., M.I. Hossain & M.U. Ameen (2001) *Bangladesh J. Zool.* **29**: 29-36.
35. Elhag, E.A., E.R. Abd, N.H. El & A.A. Zaitoon (2001) *Indian Vet. J.* **78**: 199-201.
36. Abdel, S.S. & A.A. Zayed (2002) *Vet. Parasitol.* **106**: 89-96.
37. Akhtar, M. (2000) *Intern. Pest Cont.* **42**: 16-7.
38. Singh, K., A. Singh & D.K. Singh (1996) *J. Ethnopharmacol.* **52**: 35-40.
39. Ebenso, I.E. (2004) *Pest Manag. Sci.* **60**: 178-82.
40. Bhonde, S.B., S.G. Deshpande & R.N. Sharma (1999) *Hindustan Antibiot. Bull.* **41**: 22-4.
41. Govindachari, T.R., G. Suresh & S. Masilamani (1999) *Fitoterapia* **70**: 417-20.
42. Verma, D.K., V.J. Tripathi, V. Taneja & B.K. Rana (1998) *Indian J. Pharm. Sci.* **60**: 305-6.
43. Owolade, O.F., A.N. Amusa & Y.O.K. Osikanlu (2000) *Cer. Res. Commun.* **28**: 323-7.
44. Amandioha, A.C. (2000) *Crop Prot.* **19**: 287-90.
45. Hirose, E., P.M.O.J. Neves, Zequi, J.A.C, L.H. Martins, C.H. Peralta & J.A. Moino (2001) *Brazilian Arch. Biol. Technol.* **44**: 419-23.
46. Coventry, E. & E.J. Allan (2001) *Phytoparasitica* **29**: 441-50.
47. Carpinella, M.C., L.M. Giorda, C.G. Ferrayoli & S.M. Palacios (2003) *J. Agric. Food Chem.* **51**: 2506-11.
48. Zeringue, H.J.J., B.Y. Shih & D. Bhatnagar (2001) *Phytoparasitica* **29**: 361-6.
49. Allameh, A., A.M. Razzaghi, M. Shams, M.B. Rezaee & K. Jaimand (2002) *Mycopathol.* **154**: 79-84.
50. Mossini, S.A.G.; K.P. De Oliveira, & C. Kemmelmeier. (2004) *J. Basic Microbiol.* **44**: 106-13.
51. Tewari, K.K. (2001) *J. Phytol. Res.* **14**: 207-8.
52. Anandan, S., V.R.B. Sastry, L.M. Musalia & D.K. Agrawal (1996) *Small Rum. Res.* **22**: 205-12.
53. Rao, V.K., B.N. Kowale & A.K. Verma (2003) *Small Rum. Res.* **47**: 213-9.
54. Musalia, L.M., S. Anandan, V.R.B. Sastry & D.K. Agrawal (2000) *Small Rum. Res.* **35**: 107-16.
55. Githiori, J.B., J. Hognlund, P.J. Waller & B.R. Leyden (2003) *Vet. Parasitol.* **118**: 215-26.
56. Hordegen, P., H. Hertzberg, J. Heilmann, W. Langhans & V. Maurer (2003) *Vet. Parasitol.* **117**: 51-60.
57. Caboni, P., M. Cabras, A. Angioni, M. Russo & P. Cabras (2002) *J. Agric. Food Chem.* **50**: 3491-4.
58. Lale, N.E.S. & H.T. Abdulrahman (1999) *J. Stored Prod. Res.* **35**: 135-43.
59. Abbasi, P.A., D.A. Cupples & G. Lazarovits (2003) *Can. J. Plant Pathol.* **25**: 41-8.
60. El-Atta, H.A. & A. Ahmed (2002) *J. Appl. Entomol.* **126**: 577-82.
61. Hummel, E. & H. Kleeberg (2002) *Meded. Rijksuniv. Gent. Fak. Landbouwk. Toegep. Biol. Wet.* **67**: 631-9.
62. Gahukar, R.T. (2000) *Int. J. Pest Manag.* **46**: 149-460.
63. Zhang, X., Q. Shen, J. Tan & Z. Mao (2002) *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.* **13**: 1417-20.
64. Majumdar, D., S. Kumar, H. Pathak, M.C. Jain & U. Kumar (2000) *Agric. Eco. Environ.* **81**: 163-9.
65. Kiran, U. & D.D. Patra (2003) *Int. J. Food Microbiol.* **15**: 223-30.
66. Gajalakshmi, S. & S.A. Abbasi (2004) *Biores. Technol.* **92**: 291-6.

67. Xuan, T.D., T. Eiji, T. Hiroyuki, M. Mitsuhiro, T.D. Khanh & I.M. Chung (2004) *Crop Prot.* **23**: 335-45.
68. Chaturvedi, R., M.K. Razdan & S.S. Bhojwani (2003) *J. Plant Physiol.* **160**: 557-64.
69. Chaturvedi, R., M.K. Razdan & S.S. Bhojwani (2004) *Plant Sci.* **166**: 501-6.
70. Verma, P. & D. Madamwar (2002) *Folia Microbiol.* **47**: 283-6.
71. Bhattacharyya, K.G. & A. Sarma (2003) *Dyes Pigm.* **57**: 211-22.
72. Tiwari, D., S.P. Mishra, M. Mishra & R.S. Dubey (1999) *Appl. Rad. Isot.* **50**: 631-42.
73. Krishnani, K.K., B.P. Gupta, K.O. Joseph, M. Muralidhar & A. Nagavel (2002) *J. Environ. Sci. Health Part. A. Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* **37**: 893-904.
74. Amirthalingam, M. (2001) *Indian Forester* **127**: 1336-41.
75. Baral, R. & U. Chattopadhyay (2004) *Int. Immunopharmacol.* **4**: 355-66.
76. Balasenthil, S., S. Arivazhagan, C.R. Ramachandran, V. Ramachandran & S. Nagini (1999) *J. Ethnopharmacol.* **67**: 189-95.
77. Chattopadhyay, R.R. (1999) *J. Ethnopharmacol.* **67**: 373-6.
78. Yanpallewar, S.U., S. Sen, S. Tapas, M. Kumar, S.S. Raju & S.B. Acharya (2003) *Phytomedicine* **10**: 391-6.
79. Kale, B.P., M.A. Kothekar, H.P. Tayade, J.B. Jaju & M. Mateenuddin (2003) *Indian J. Pharmacol.* **35**: 177-80.
80. Pai, M.R., L.D. Acharya & N. Udupa (2004) *J. Ethnopharmacol.* **90**: 99-103.
81. Jain, A. & E. Basal (2003) *Phytomedicine* **10**: 34-8.
82. Baswa, M., C.C. Rath, S.K. Dash & R.K. Mishra (2001) *Microbios.* **105**: 183-9.
83. Bandyopadhyay, U., K. Biswas, R. Chatterjee, D. Bandyopadhyay, I. Chattopadhyay, C. K. Ganguly, T. Chakraborty, K. Bhattacharya & R.K. Banerjee (1997) *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **51**: 181-94.
84. Raji, Y., I.A. Ogunwande, C.A. Osadebe & G. John (2004) *J. Ethnopharmacol.* **90**: 167-70.
85. Kar, A., B.K. Choudhary & N.G. Bandyopadhyay (2003) *J. Ethnopharmacol.* **84**: 105-8.
86. Chattopadhyay, R.R. (1999) *J. Ethnopharmacol.* **67**: 367-72.
87. Chattopadhyay, R.R. (1997) *Gen. Pharmacol.* **28**: 449-51.
88. Gupta, S., M. Kataria, P.K. Gupta, R.C. Murganandan & R.C. Yashroy (2004) *J. Ethnopharmacol.* **90**: 185-9.
89. Kaushic, C. & S.N. Upadhyay (1995) *Contraception.* **51**: 203-7.
90. Riar, S.S., C. Devkumar, R.C. Sawhney, G. Ilavazhagan, J. Bardhan, A.K. Kain, P. Thomas, R. Singh, B. Singh & R. Parshad (1991) *Contraception.* **44**: 319-23.
91. Garg, S., G.P. Talwar & S.N. Upadhyay (1998) *J. Ethnopharmacol.* **60**: 235-46.
92. Khillare, B. & T.G. Shrivastav (2003) *Contraception* **68**: 225-9.
93. Mukherjee, S., S. Garg & G.P. Talwar (1999) *J. Ethnopharmacol.* **67**: 287-96.
94. Sairam, M., G. Ilavazhagan, S.K. Sharma, S.A. Dhanraj, B. Suresh, M.M. Parida, A.M. Jana, K. Devendra & W. Selvamurthy (2000) *J. Ethnopharmacol.* **71**: 377-82.
95. Nanduri, S., S.S.R. Thunuguntla, V.K. Nyavanandi, S. Kasu, P.M. Kumar, P. Sairam, S. Rajagopal, R.A. Kumar, D.S. Deevi, R. Rajagopalan & A. Venkateswarlu (2004) *Ind. Crops Prod.* **19**: 69-75.
96. Prakash, A.O., R.K. Tewari & R. Mathur (1988) *J. Ethnopharmacol.* **23**: 53-9.
97. Arivazhagan, S., S. Balasenthil & S. Nagini (2000) *Phytother. Res.* **14**: 291-3.
98. Arivazhagan, S., S. Nagini, S.T. Santhiya & A. Ramesh (2003) *Pharmazie* **58**: 750-2.
99. Subapriya, R., R. Kumaraguruparan, S.K. Abraham & S. Nagini (2004) *Drug. Chem. Toxicol.* **27**: 15-26.
100. Nakahara, K., M.K. Roy, H. Ono, I. Maeda, M.O. Kameyama, M. Yoshida & G. Trakoontivakorn (2003) *J. Agric. Food Chem.* **51**: 6456-60.
101. Parida, M.M., C. Upadhyay, G. Pandya & A.M. Jana (2002) *J. Ethnopharmacol.* **79**: 273-8.
102. Badam, L., S.P. Joshi & S.S. Bedekar (1999) *J. Commun. Dis.* **31**: 79-90.
103. Dhar, R., K. Zhang, G.P. Talwar, S. Grag & N. Kumar (1998) *J. Ethnopharmacol.* **61**: 31-9.
104. Jones, I. W., A.A. Denholm, S.V. Ley, H. Lovell, A. Wood & R.E. Sinden (1994) *FEMS Microbiol. Lett.* **120**: 267-74.
105. Khalid, S.A., H. Duddeck & M. Gonzales-Sierra (1989) *J. Nat. Prod.* **52**: 922-27.
106. Isah, A.B., Y.K. Ibrahim & E.O. Iwalewa (2003) *Phytother. Res.* **17**: 807-10.
107. Gonzalez, M.S. & E. S. Garcia (1992) *J. Invert. Pathol.* **60**: 201-5.
108. Natarajan, V., S. Pushkala, V.P. Karuppiah & P.V. Prasad (2002) *Indian J. Pathol. Microbiol.* **45**: 311-3.
109. Gandhi, M., R. Lal, A. Sankaranarayanan, C.K. Banerjee & P.L. Sharma (1995) *Biores. Technol.* **51**: 233-9.
110. Raizada, R.B., M.K. Srivastava, R. A. Kaushal & R.P. Singh (2001) *Food Chem. Toxicol.* **39**: 477-83.
111. Chinnasamy, N., N. Harishankar, P. Uday Kumar & C. Rukmini (1992) *Intern. J. Immunopharmacol.* **14**: 1187-93.
112. Omoregie, E. & M.A. Okpanachi (1997) *Acta Hydrobiol.* **39**: 47-51.
113. Akhtar, M. (1997) *Crop Prot.* **16**: 251-6.
114. Panda, S. & A. Kar (2000) *Pharmacol. Res.* **41**: 419-22.
115. Rahman, M.F. & M.K.J. Siddiqui (2003) *Vet. Parasitol.* **117**: 51-60.
116. Khan, P.K. & K.S. Awasthy (2003) *Food Chem Toxicol.* **41**: 1325-8.
117. Kasturi, M., R.N. Ahamed, K.M. Pathan, B. Manivannan & R.H. Aladakatti (2002) *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* **13**: 311-28.
118. Kazmi, S.A.R., N.M. Qadri & Y. Badar (2001) *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* **44**: 234-8.