

**Síntese e bioensaio toxicológico frente às larvas de artemia salina do  
nPROPIL 4,6-DI-O-Acetil-2,3-Didesoxi- $\alpha$ -D-Eritro-Hex-2-Enopiranosídeo****Synthesis and toxicologic bioassay of salty artemy larvae of nPROPIL 4,6-  
DI-O-Acetil-2,3-Didesoxi- $\alpha$ -D-Eritro-Hex-2-Enopiranosídeo**

DOI:10.34117/bjdv6n8-105

Recebimento dos originais:08/07/2020

Aceitação para publicação:11/08/2020

**Rodrigo Ribeiro Alves Caiana**

Mestrando em Ciências Naturais e Biotecnologia (PPGCNBiotec) pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Instituição: Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Sítio Olho D'água da Bica S/N, Cuité – PB, Brasil

E-mail:rodrigoriibeiroalves@hotmail.com

**Herbert Igor Rodrigues de Medeiros**

Mestrando em Farmacoquímica (PPGPNSB) pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Instituição: Universidade Federal da Paraíba. UFPB, Campus I - Cidade Universitária, João Pessoa – PB, Brasil

E-mail:igorpls\_15@hotmail.com

**Romário Jonas de Oliveira**

Doutorando em Química (PPGQ) pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Instituição: Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco

Endereço:R. Manuel de Medeiros, Campus Dois Irmãos, Bloco 2 - Dois Irmãos, Recife – PE, Brasil

E-mail:romario.jonas@live.com

**Bruna Barbosa Maia da Silva**

Mestranda em Química (PPGQ) pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Instituição: Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco

Endereço: R. Manuel de Medeiros, Campus Dois Irmãos, Bloco 2 - Dois Irmãos, Recife – PE, Brasil

E-mail:brunambsilva1@gmail.com

**Jadson de Farias Silva**

Doutorando em Química (PPGQ) pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Instituição: Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco

Endereço: R. Manuel de Medeiros, Campus Dois Irmãos, Bloco 2 - Dois Irmãos, Recife – PE, Brasil

E-mail: Jadson\_nf@hotmail.com

**Josefa Aqueline Cunha Lima**

Doutoranda em Química (PPGQ) pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Instituição: Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco

Endereço: R. Manuel de Medeiros, Campus Dois Irmãos, Bloco 2 - Dois Irmãos, Recife – PE,  
Brasil  
E-mail:akelinecunha@gmail.com

**Thayanne dos Santos Silva Araújo**

Bacharelanda em Nutrição pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)  
Instituição: Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande  
Endereço: Sítio Olho D'água da Bica, S/N, Cuité – PB, Brasil  
E-mail:taty\_lgm@hotmail.com

**Cosme Silva Santos**

Doutorando em Química (PPGQ) pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)  
Instituição: Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Endereço: R. Manuel de Medeiros, Campus Dois Irmãos, Bloco 2 - Dois Irmãos, Recife – PE,  
Brasil  
E-mail:cosme.quimica\_21@hotmail.com

**RESUMO**

Os carboidratos são compostos químicos amplamente notados no meio biológico, representando o grupo mais abundante de compostos encontrados em fontes naturais. Estes compostos podem realizar ligações especiais e assim conjugar-se com outras moléculas formando os glicosídeos. Mesmo conhecendo-se a extensa utilidade farmacológica destes glicosídeos, a utilização destes compostos para os mais diversos fins só pode ser sustentada mediante conhecimento de seus perfis toxicológicos, assegurando que esta aplicação desencadeie o menor risco possível. Desta forma, O presente trabalho objetivou sintetizar o glicosídeo *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, bem como avaliar a toxicidade deste composto através do bioensaio com *Artemia salina* Leach. O glicosídeo foi obtido seguindo-se o protocolo determinado por Toshima e colaboradores, sen sendo em seguida submetido ao bioensaio com *Artemia salina* Leach, conforme descrito por Meyer e colaboradores, nas concentrações de 10, 100, 500 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . O glicosídeo foi obtido de forma eficiente com 89% de rendimento após 30 minutos de reação, apresentando aparência oleosa e translúcida, sendo caracterizado pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Quanto ao teste de toxicidade, foi observado que nenhuma das concentrações desencadeou a morte de mais de 50% das larvas, concluindo-se que a concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados ( $\text{CL}_{50}$ ) encontra-se em um valor acima de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . A partir disto conclui-se que esta molécula se apresenta como não tóxica, o que possibilita o seu emprego nas mais diversas áreas da saúde e tecnologia.

**Palavras-chave:** *O*-glicosídeo, bioensaio toxicológico, *Artemia salina* Leach.

**ABSTRACT**

Carbohydrates are chemical compounds widely noticed in the biological environment, representing the most abundant group of compounds found in natural sources. These compounds can make special bonds and thus combine with other molecules forming the glycosides. Even knowing the extensive pharmacological usefulness of these glycosides, the use of these compounds for the most diverse purposes can only be sustained through knowledge of their toxicological profiles, ensuring that this application triggers the least possible risk. Thus, the present work aimed at synthesizing

npropil 4,6-di-O-acetyl-2,3-didesoxy- $\alpha$ -D-eritro-hex-2-enopyranoside glycosides, as well as evaluating the toxicity of this compound through the bioassay with *Artemia salina* Leach. The glycoside was obtained following the protocol determined by Toshima and collaborators and then submitted to the bioassay with *Artemia salina* Leach, as described by Meyer and collaborators in concentrations of 10, 100, 500 and 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . The glycoside was obtained efficiently with 89% yield after 30 minutes of reaction, presenting an oily and translucent appearance, being characterized by the spectroscopic techniques of IV and NMR  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ . Regarding the toxicity test, it was observed that none of the concentrations triggered the death of more than 50% of the larvae, concluding that the concentration capable of killing 50% of the individuals tested (CL50) is at a value above 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . From this it is concluded that this molecule presents itself as non-toxic, which allows its use in the most diverse areas of health and technology.

**Keywords:** O-glucoside, toxicological bioassay, *Artemia salina* Leach.

## 1 INTRODUÇÃO

Os carboidratos, também chamados de açúcares, representam o grupo mais abundante de compostos encontrados em fontes naturais, estando presentes desde organismos mais complexos, como plantas e animais (FERREIRA; ROCHA; SILVA, 2009), até organismos mais simples, como animais marinhos e bactérias (BANDERA et al., 2014).

Estes compostos podem realizar ligações especiais, denominadas ligações glicosídicas, e assim conjugar-se com outras moléculas formando os glicosídeos. A literatura relata um grande número de glicosídeos com importantes atividades farmacológicas, a saber: ação anti-inflamatória, antibiótica, antiviral, antitumoral, imunológica, anticoagulante e antiprotozoária, (ALMEIDA, 2015).

No entanto, para que seja sustentada a utilização destes compostos para os mais diversos fins, é necessário que os mesmos esbocem suas ações desencadeando o mínimo de toxicidade possível, sendo preferível a ausência de efeitos tóxicos. Partindo desta premissa, surge a necessidade de conhecer as condições de uso seguro destes compostos para a saúde humana e ambiental, assegurando a segurança de seu uso (BARROS; DAVINO, 2008).

A realização de estudos toxicológicos possibilita a identificação dos riscos associados de um determinado composto e determina em quais condições de exposição esses riscos são induzidos (JAMES; ROBERTS; WILLIAMS, 2000). Estes estudos viabilizam a elaboração de medidas que protejam os seres vivos e o ambiente dos efeitos deletérios causados por esses compostos, bem como facilitam o desenvolvimento de agentes químicos nocivos mais seletivos, tais como drogas clínicas e pesticidas (HODGSON, 2004).

A *Artemia salina* Leach é um pequeno organismo zooplancônico pertencente ao filo dos artrópodes, mais especificamente ao subfilo crustáceo, que pode ser encontrado em ambientes

marinhos (salinas). Devido possuir elevada adaptabilidade e uma imensa distribuição geográfica é comumente utilizada na alimentação de diversos seres aquáticos (ATES et al., 2016). O ensaio com *A. salina* também permite a não utilização de ratos e camundongos em testes *in vivo* e pode ser utilizado como parâmetro para analisar diversas atividades biológicas, a citar antioxidante (SARAIVA et al., 2011), fototóxica (OJALA et al., 1999), larvicida (LUNA et al., 2005), citotóxica (CHOHAN et al., 2010), entre outras (BAGHERI et al., 2010; NINO; CORREA & MOSQUERA, 2006).

Neste contexto, o bioensaio com *Artemia salina* Leach destaca-se no meio científico por se mostrar eficiente na avaliação da toxicidade geral, trazendo a vantagem de ser prático, apresentando facilidade e rapidez de execução associado ao baixo custo (MEYER et al., 1982), sendo por estas razões uma excelente ferramenta para a análise preliminar da toxicidade geral (LUNA et al., 2005).

Tendo conhecimento das características químicas e biológicas dos glicosídeos, bem como a necessidade de estudos que avaliem a toxicidade destes compostos, o presente trabalho objetivou sintetizar o *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, bem como avaliar a toxicidade deste composto através do bioensaio com *Artemia salina* Leach.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 LOCAL DE DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO

A síntese do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo foi desenvolvida no Laboratório de Síntese Orgânica (LASO) do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité – PB, onde o mesmo é provido de toda aparelhagem necessária para o procedimento sintético. A caracterização do composto foi realizada na Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE e o ensaio toxicológico frente às larvas de *Artemia salina* foi realizado no laboratório de Toxicologia da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité – PB.

### 2.2 MATERIAL E INSTRUMENTAÇÃO

Em geral utilizou-se reagentes e solventes na sua forma comercial P.A. O acompanhamento da reação foi realizada através de cromatografia em camada delgada (CCD) utilizado placas prontas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F<sub>254</sub>. Para revelação da CCD foi utilizado solução etanólica ácida [(EtOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (9,5:0,5)] sob vapor aquecido. Para cromatografia em coluna foi utilizado sílica-gel 60 (Merck, 70-230 mesh) como fase estacionaria e sistemas hexano/acetato de etila como fase móvel.

### 2.3 PROCEDIMENTO PARA SÍNTESE DO NPROPIL 4,6-DI-O-ACETIL-2,3-DIDESOXI- $\alpha$ -D-ERITRO-HEX-2-ENOPIRANOSÍDEO

A síntese do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, foi realizada através do protocolo de Toshima et al. (1995), com algumas modificações. Deste modo, em um balão de fundo redondo de 100 mL, o tri-*O*-acetil-D-glucal (0,272 g; 1 mmol) foi dissolvido em diclorometano seco (20 mL), posteriormente foi adicionado o álcool *n*propílico (89,701  $\mu$ L, 1,2 mmol) e a montmorilonita K-10 (0,1632 g; 60% m/m). Depois o balão foi acoplado a um sistema de refluxo e foi deixado sob aquecimento ( $50 \pm 5^\circ\text{C}$ ) e agitação. Após o término da reação, verificado por CCD, a mistura reacional foi filtrada. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel, utilizando um sistema de solvente hexano/acetato de etila (9:1).

### 2.4 CARACTERIZAÇÃO

Após sintetizado, o glicosídeo foi caracterizado pelos métodos espectroscópicos usuais: Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN  $^1\text{H}$ ) e de Carbono (RMN  $^{13}\text{C}$ ) em um espectrômetro VARIAN® modelo Unity Plus-300 utilizando como solvente o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- $d_6$ ). Para calibração do espectrômetro usou-se tetrametilsilano (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e todas as constantes de acoplamento ( $J$ ) foram descritas em hertz (Hz).

Os espectros no infravermelho foram registrados em um em espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier no instrumento Bruker Modelo IFS66, sendo as amostras preparadas em pastilhas de KBr.

### 2.5 ENSAIO TOXICOLÓGICO

O perfil de toxicidade do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo foi avaliado utilizando a *Artemia salina* Leach, através do método proposto por Meyer et al. (1982). Em tubos de ensaio foram adicionados às larvas da artêmias em um padrão de 10 larvas por tubo. As artêmias foram expostos a um controle negativo e as concentrações de 10, 100, 500 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  durante um período de 24 horas. Após este período, foi feita a leitura de larvas sobreviventes. As análises foram feitas em triplicatas, sendo usado  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  como controle positivo e água salina como controle negativo.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi iniciado com a síntese do *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo a partir da reação entre o 3,4,6-tri-*O*-acetil-D-glucal e o álcool propílico empregando a montmorilonita K-10 como ácido de Lewis. Este composto foi obtido com 89% de rendimento após 30 minutos de reação. A reação de glicosidação se mostrou simples, rápida e eficiente, levando ao composto desejado com rendimento semelhante aos descritos por de Oliveira (2002) e Melo (2007).

O composto obtido apresentou aparência oleosa e translúcida e foi caracterizado pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , cujos os dados obtidos foram: no infravermelho (Pastilha de KBr), principais bandas de vibração, 2964, 2881, 1747, 1450, 1371, 1234, 1182, 1105  $\text{cm}^{-1}$ ; no espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz), sinais em ppm, 5,92-5,78 (m, 2H, H-2, H-3), 5,29-5,25 (m, 1H, H-4), 4,99 (sl, 1H, H-1), 4,21 (dd, 1H, H-6,  $J_{6,6'} = 12,0$  Hz e  $J_{6,5} = 5,4$  Hz), 4,14 (dd, 1H, H-6',  $J_{6',6} = 12,0$  Hz e  $J_{6',5} = 2,1$  Hz), 4,08 (ddd, 1H, H-5,  $J_{5,4} = 9,6$  Hz,  $J_{5,6} = 5,1$  Hz e  $J_{5,6'} = 2,1$  Hz), 3,68 (dt, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $J = 9,6$  Hz e  $J = 7,5$  Hz), 3,45 (dt, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $J = 9,6$  Hz e  $J = 7,5$  Hz), 2,07 (s, 3H, -OAc), 2,05 (s, 3H, -OAc), 1,61 (qui, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $J = 7,5$  Hz), 0,91 (t, 3H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $J = 7,5$  Hz); no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz), sinais em ppm, 170,7; 170,2; 128,9; 127,8; 94,2; 70,5; 66,7; 65,2; 62,9; 22,9; 20,9; 20,7; 10,6.

Uma vez sintetizado e caracterizado o *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo, a próxima etapa do trabalho foi realizar o bioensaio toxicológico. Analisando o padrão de letalidade frente às larvas de *Artemia salina* Leach do composto, foi observado um bom desempenho por parte dos padrões positivos e negativos, assegurando assim a viabilidade do teste. Ao analisar os testes nas concentrações de 10, 100, 500 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , foi observado que nenhuma das concentrações desencadeou a morte de mais de 50% das larvas, já que estas permaneceram com a mobilidade semelhante a do padrão negativo. Tal fato leva à conclusão de que a concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados ( $\text{CL}_{50}$ ) encontra-se em um valor acima de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Meyer et al. (1982) e Nguta et al. (2011), estabeleceram uma correlação entre o grau de toxicidade e a  $\text{CL}_{50}$  do agente testado, onde são considerados tóxicos, ou ativos, apenas valores de  $\text{CL}_{50}$  menores que 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  (sendo estes classificados como altamente tóxicos, moderadamente tóxicos e suavemente tóxicos de acordo com o intervalo que se enquadram) e não tóxicos valores acima de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . A partir de tal dado é possível classificar o glicosídeo de acordo com os parâmetros propostos por estes autores como uma substância não tóxica ou de baixo risco de toxicidade.

**4 CONCLUSÃO**

A reação de glicosidação se mostrou simples, rápida e eficiente, levando ao composto desejado com rendimento semelhante aos descritos por outros autores. As análises espectroscópicas corroboram com a estrutura objetivada, evidenciando sucesso na obtenção do composto. O *n*propil 4,6-di-*O*-acetil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-*eritro*-hex-2-enopiranosídeo demonstrou ser não tóxico ou apresentar baixo risco de toxicidade, uma vez que a sua  $CL_{50}$  apresenta um valor acima de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , o que fomenta o seu emprego nas mais diversas áreas da saúde e tecnologia.

**AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a PRONEM/FACEPE (APQ-0476-1.06/14) pelo apoio financeiro e a CAPES pelas bolsas concedidas. Os autores também agradecem a Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco pelas análises dos compostos.

**REFERÊNCIAS**

ALMEIDA, C. L. A. Planejamento sintético e avaliação antitumoral de carboidratos enônicos. Monografia (Licenciatura em química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, Cuité. 2015.

ATES, M.; DEMIR, V.; ARSLAN, Z.; CAMAS, M.; CELIK, F. Toxicity of engineered nickel oxide and cobalt oxide nanoparticles to *Artemia salina* in seawater. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 227, n. 3, p. 70, 2016.

BAGHERI, S.; SAHEBKAR, A.; GOHARI, A.; SAEIDNIA, S.; MALMIR, M.; IRANSHAHI, M. Evaluation of cytotoxicity and anticonvulsant activity of some Iranian medicinal *Ferula* species. *Pharmaceutical Biology*, v. 48, n. 3, p. 242-246, 2010.

BANDERA, D.; SAPKOTA, J.; JOSSET, S.; WEDER, C.; GAO, X.; FOSTER, E. J.; ZIMMERMANN, T. Influence of mechanical treatments on the properties of cellulose nanofibers isolated from microcrystalline cellulose. *React. Funct. Polym.*, v. 85, p. 134, 2014.

BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C. Avaliação da toxicidade. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. Fundamentos de toxicologia. 3ª ed., São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

CHOHAN, Z.; SUMRRA, S.; YOUSOUFI, M.; HADDA, T. Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium(IV) complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, n. 7, p. 2739-2747, 2010.

DE OLIVEIRA, R. N. Síntese mediada por microondas de glicosídeos contendo diversas agliconas e de 1,2,4-Oxadiazóis. 2002. 106 f. Dissertação em Química, UFPE, Recife. 2002.

FERREIRA, V. F.; ROCHA, D. R.; SILVA, F. C. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. *Quim Nova*. v. 32, n. 3, p. 623-638, 2009.

HODGSON, E. A Textbook of Modern Toxicology. 3<sup>a</sup> ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2004, cap. 1.

JAMES, R. C.; ROBERTS, S. M.; WILLIAMS, P. L. Principles of Toxicology: Environmental Industrial Applications. 2<sup>a</sup> ed., New York: John Wiley & Sons, 2000, cap. 1.

LUNA, J. S., SANTOS, A.F., LIMA, M.R.F, OMENA, M.C., MENDONÇA, F.A.C., BIEBER, L.W., SANT'ANA, A.E.G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *J. of Ethnopharm.* v.97, p.199, 2005.

LUNA, J.; DOS SANTOS, A.; DE LIMA, M.; DE OMENA, M.; DE MENDONCA, F.; BIEBER, L. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 97, p. 199-206, 2005.

MELO, A. C. N. Síntese e avaliação farmacológica de *O*-Glicosídeos 2,3-insaturados. Dissertação (mestrado em química) – Universidade federal de Pernambuco, Recife. 2007.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* v.45, p.31, 1982.

NGUTA, J M; MBARIA, J M; GAKUYA, D W; GATHUMBI, P K; KABASA, J D; KIAMA, S G. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). *Pharmacologyonline*, v.2, p.458, 2011.

NINO, J.; CORREA, Y.; MOSQUERA, O. Antibacterial, Antifungal, and cytotoxic activities of 11 Solanaceae plants from Colombian biodiversity. *Pharmaceutical Biology*, v. 44, n. 1, p. 14-18, 2006.

OJALA, T.; VUORELA, P.; KIVIRANTA, J.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R. A bioassay using *Artemia salina* for detecting phototoxicity of plant coumarins. *Planta Medica*, v. 65, n. 8, p. 715-718, 1999.

SARAIVA, A.; CASTRO, R.; CORDEIRO, R.; SOBRINHO, T.; CASTRO, V.; AMORIM, E.; In vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (*Anacardiaceae*). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

TOSHIMA, K.; ISHIZUKA, T.; MATSUO, G.; NAKATA, M. Practical glycosidation method of glycals Montmorillonite K-10 as an environmentally acceptable and inexpensive industrial catalyst. *Chem. Rev.* Vol. 4, p. 306-308, 1995.