

# Atividade antioxidante e tóxica de extratos de cascas do fruto de *Nephelium lappaceum* L. (Sapindaceae), comercializados em Salvador, Bahia, Brasil

*Antioxidant activity and toxicity of extracts from exocarp of Nephelium lappaceum L. (Sapindaceae), from Salvador, Bahia, Brazil.*

Recebido em: 11/06/2016

Aceito em: 31/08/2016

Anibal de Freitas SANTOS JUNIOR<sup>1</sup>; Leandro Carvalho OLIVEIRA<sup>1</sup>;  
Alessandra da Silva GUEDES<sup>1</sup>; Milleno Dantas MOTA<sup>1</sup>;  
Hemerson Iury Ferreira MAGALHAES<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciências da Vida (DCV), Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Rua Silveira Martins, 2555, Cabula. Salvador, BA. CEP 41.150-000 Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Cidade Universitária, João Pessoa, PB. CEP 58051-900, Brasil. E-mail: prof.anibal@ig.com.br

## ABSTRACT

*Nephelium lappaceum* L., known as rambutã, is an attractive tropical fruit, and contains phenolic compounds (tannins and flavonoids) and alkaloids. The aim of this study was to evaluate the antioxidant capacity, by the method of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and the toxicity to brine shrimp *Artemia salina*, of *Nephelium lappaceum* L. (Rambutã) exocarp, marketed in Salvador, Bahia, Brazil. It was used the hexane and ethyl acetate phases, obtained from the ethanol extract partition. For the biological evaluation, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) test and toxicity to *Artemia salina* were used. The ethyl acetate phase showed higher antioxidant power and less toxic effect when compared to hexanic phase. In the DPPH test, ethyl acetate and hexane phases showed  $EC_{50} = 373.72 \mu\text{g/mL}$  and  $1207.4 \mu\text{g/mL}$ , respectively. The hexane phase ( $LD_{50} = 705.72 \mu\text{g/mL}$ ) was more toxic to *Artemia salina* than ethyl acetate phase ( $LD_{50} = 799.28 \mu\text{g/mL}$ ). The results indicated the potential use of this fruit (peels) as a natural source of antioxidants.

**Keywords:** *Nephelium lappaceum* L, fruit; antioxidant; toxicity; Rambutan.

## RESUMO

*Nephelium lappaceum* L., conhecido como Rambutã, é um fruto tropical atraente, que contém compostos fenólicos (taninos e flavonoides) e alcaloides. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante e a toxicidade das cascas do fruto de *Nephelium lappaceum* L. (Rambutã), comercializados em Salvador, Bahia, Brasil, pelo método do 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH), e do teste de toxicidade a larvas de *Artemia salina*, respectivamente. Para os experimentos, foram utilizadas as fases orgânicas hexano e acetato de etila, obtidas da partição do extrato metanólico. Foi empregado o método do 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH) e o teste de toxicidade frente *Artemia salina*. A fase acetato de etila apresentou maior poder antioxidante e menor efeito tóxico quando comparada à fase hexânica. Quanto à atividade antioxidante, foram obtidas  $CE_{50}$  de  $373,72 \mu\text{g/mL}$  e  $1207,4 \mu\text{g/mL}$  para as fases acetato de etila e hexânica, respectivamente. Quanto à toxicidade, foram obtidas  $DL_{50}$  de  $799,28 \mu\text{g/mL}$  e de  $705,72 \mu\text{g/mL}$  para as fases acetato de etila e hexânica, respectivamente. Os resultados indicam a potencialidade de uso deste fruto (cascas) como fonte natural de compostos antioxidantes.

**Palavras-chave:** *Nephelium lappaceum* L.; exocarpo antioxidante; toxicidade; fruto. rambuteira

## INTRODUÇÃO

*Nephelium lappaceum* L., conhecido como Rambutã (Figura 1), pertencente à família Sapindaceae, é um fruto tropical atraente, amplamente distribuído no Sudeste da Ásia, especialmente nas regiões do leste e do sul da Tailândia (1,2). O fruto maduro do Rambutã apresenta exocarpo de cor vermelha e tricomas, tendo um arilo ligado a uma única semente (3). Este fruto é apreciado devido ao seu sabor refrescante e aparência exótica. No Brasil, o maior Estado brasileiro produtor é a Bahia (região de Itabuna/Ilhéus), e o maior mercado consumidor, São Paulo (4).



**Figura 1:** Frutos de *Nephelium lappaceum* L. (rambutã)

As sementes do Rambutã apresentam sabor amargo. As raízes são utilizadas para o tratamento de febre, as folhas como cataplasma e a casca como adstringente. O fruto é recomendado para os casos de disenteria grave; indicado como adstringente, antipirético e também usado como carminativo, em caso de dispepsia (5). Ainda, a partir da geranina extraída da casca do fruto, foi observado um potencial para inibição de enzimas  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase, importantes no controle da glicemia (6-8). Por meio de análises físico-químicas e térmicas, foi observado que as sementes do Rambutã apresentam teores de gorduras consideráveis, podendo ser utilizadas na indústria alimentícia e farmacêutica (9).

Considerando que existe diversidade genética em *N. lappaceum* L., essa espécie se adapta bem a vários ambientes, sendo encontrada em vários Estados brasileiros e no mundo, podendo com isso haver diferenças no perfil de produção de metabólitos secundários (2). Logo, se justifica a necessidade de análises de frutos de Rambutã, obtidos em diferentes regiões do país. Estudos recentes, em especial a Ásia e Índia, descreveram o perfil fito-

químico do Rambutã. Estudos realizados com extratos metanólicos das cascas dos frutos de *Nephelium lappaceum* L. comercializados em Chennai (Tamilnadu, Índia) e o distrito de Ipoh (Perak, Malásia), mostraram a presença de metabólitos como alcaloides, glicosídeos, carboidratos, proteínas, aminoácidos, esteroides, flavonoides, taninos, triterpenoides e óleos fixos (10,11). Estes achados podem indicar uma possível atividade antioxidante para esses frutos, em especial pela presença dos compostos fenólicos (taninos e flavonoides) nos extratos. A presença de alcaloides pode indicar uma possível atividade tóxica, revelando a possibilidade de aplicações antitumorais para os frutos (5,12).

Antioxidantes são substâncias heterogêneas que possuem capacidade de bloquear a formação de radicais livres (RL) ou de removê-los, uma vez formados. Os organismos aeróbios possuem mecanismos eliminadores de RL que utilizam os sistemas antioxidantes, incluindo os antioxidantes à base de enzimas, tais como a superóxido dismutase, a glutatona peroxidase, catalase e glutatona redutase. Além das enzimas, outros compostos podem ser capazes de neutralizar esses radicais livres são os polifenóis, tais como xantofilas, flavonoides, taninos e catequinas. Além desses metabólitos secundários, alguns frutos expressam vitaminas que possuem atividade antioxidante tais como vitamina C, vitamina E e beta-caroteno (13).

Atualmente, o estudo do isolamento de antioxidantes naturais a partir de fontes vegetais tem aumentado, potencialmente para emprego na indústria alimentícia e farmacêutica. A atividade antioxidante em frutas é notável, pois são ricas em compostos que possuem um importante papel na atividade de sequestrar radicais livres (14-16). Muitos estudos relataram que extratos de plantas com altos níveis de compostos polifenólicos têm atividade anticancerígena e outras ações farmacológicas, devido à neutralização de RL (16-19).

Os ensaios de toxicidade mais aplicados atualmente são: toxicidade a *Artemia salina* (TAS); citotoxicidade em cultura de células do tecido conectivo de camundongo (NCTC); ensaio de redução do sal de tetrazólio (MTT), e ensaio do lactato desidrogenase (LDH). O teste de toxicidade sobre a *Artemia salina* (TAS), que é um microcrustáceo de água salgada utilizado como alimento vivo para peixes, vem sendo amplamente usado por ser de baixo custo, rápido e não exigir técnicas assépticas (21). Testes de toxicidade têm como objetivo detectar o potencial de um material ou dispositivo em produzir efeitos letais ou subletais em

sistemas biológicos em nível celular. A avaliação citotóxica tem sido utilizada por diversos pesquisadores para avaliação do potencial de aplicação terapêutica de extratos ou de novos compostos isolados como indicativo preliminar para a avaliação de outras atividades biológicas, como antifúngica, viruscida, antimicrobiana e antitumoral (22).

Existem poucas informações sobre a atividade antioxidante em cascas de frutas e, portanto, a procura por moléculas antioxidantes nesta parte das frutas deve ser intensificada. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante e tóxica dos extratos da casca do *Nephelium lappaceum* L. (Rambutã) comercializados em Salvador, Bahia, Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Preparo do material vegetal.** Frutos de *Nephelium lappaceum* L. (Rambutã), em estágio maduro, foram adquiridos no Centro de Abastecimento do Rio Vermelho, em Salvador, Ba e, após identificação botânica, as cascas (exocarpo) foram retiradas, lavadas com água desionizada e levadas a uma estufa de ar circulante à 40 °C por 96 horas. Após a secagem, as cascas foram trituradas em moinho de bancada Ika® M20, e o pó obtido foi classificado em peneiras Tyler para tamanho da partícula igual a 180 µm, para realização das análises.

**Obtenção e Partição do Extrato Bruto.** O extrato bruto metanólico foi obtido por meio de maceração do pó dos exocarpos secos triturados. Cerca de 270 g do pó foram colocados em contato com o solvente por 72 horas. Em seguida, o líquido foi separado do resíduo sólido e este resíduo foi submetido ao mesmo processo por mais duas vezes para garantir um maior rendimento na extração. Os extratos obtidos em cada ciclo foram reunidos e concentrados em Evaporador rotativo Microprocessado - Q344M, Quimis®, a 40 °C, sob pressão reduzida. A partição foi realizada com o auxílio de um funil de separação, sendo obtidas as fases hexânica e acetato de etila para a avaliação da atividade antioxidante e tóxica.

Foram calculados o rendimento das extrações e o teor de água das cascas do fruto de *Nephelium lappaceum* L., utilizadas neste trabalho. O extrato metanólico e as fases obtidas foram filtrados e concentrados em estufa 40°C ±2 até a completa evaporação dos solventes, sendo raspado e pesado, de acordo com Rodrigues et al (2001) (24). Foram realizados os cálculos para rendimento, por meio da equação:  $Re = (P_{extrato} / P_{partebot}) \times 100$ , sendo: Re: rendimento do extrato (%) /  $P_{extrato}$ : o peso do

extrato após raspagem e  $P_{partebot}$ : peso do pó utilizado inicialmente (na preparação do extrato/fases).

**Determinação do Potencial Antioxidante.** Para a determinação da atividade antioxidante foi utilizada a técnica do DPPH, que é baseada na captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância no UV (20). Foi preparada uma solução estoque de DPPH 60 µM em metanol e, a partir dessa solução, foram preparadas diluições na faixa de concentração de 10 µM a 60 µM, que foram utilizadas para a construção da curva analítica. Para a determinação da capacidade antioxidante, foram preparadas soluções-mãe a partir das fases concentradas hexânica e acetato de etila, nas concentrações de 5,05 mg/mL e 4,95 mg/mL, respectivamente. Em tubos de ensaios, foram adicionados 1 mL, 0,75 mL e 0,25 mL de cada solução mãe e acrescentados 5 mL da solução do DPPH 60 µM. As leituras das absorvâncias dessas soluções foram realizadas a 517 nm, no tempo 0 e após 30 minutos, em ambiente escuro, em um espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis da marca Shimadzu®, modelo 1240, para o cálculo do  $EC_{50}$ . Este procedimento foi realizado em triplicata para cada volume de cada fase. Um controle negativo foi feito por meio do preparo de soluções contendo hexano, acetato de etila e DPPH (40 µg/mL) e o controle positivo foi feito pela adição de solução de um padrão (rutina), como substância referência, considerando o poder de sequestrar 100% dos radicais.

**Avaliação da Toxicidade.** Para a avaliação da atividade tóxica de exocarpos de Rambutã foram utilizadas larvas (náupilos) de *A. salina*. Os ovos de *A. salina* foram incubados por 48 horas em solução artificial (solução salina), a uma concentração de 3,3 g/L. Após o período de incubação, os náuplios foram expostos às fases obtidas. Utilizando tubos de ensaios foram adicionados 1 mL, 0,75 mL e 0,25 mL da solução das fases hexânica e acetato de etila, nas concentrações de 5,35 mg/mL e 5,21 mg/mL, respectivamente, obtidas a partir da diluição de massas obtidas das fases hexânica e acetato de etila concentradas, resuspensas em metanol. Após a evaporação completa do solvente, foram acrescentados 4 mL de solução salina. Em seguida foram transferidos 10 náuplios vivos para cada tubo de ensaio contendo as diferentes fases e concentrações. Testes para o controle negativo foram realizados em triplicata, com o uso apenas da solução salina. A contagem foi realizada após 24 horas de exposição dos náuplios vivos. Foram considerados vivos todos aqueles que apresentaram qualquer tipo de movimento quando observados próximos à fonte luminosa.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o procedimento de secagem das cascas de Rambutã, foi determinado um teor de água de, aproximadamente, 73%, demonstrando o grande teor de água presente em seu pericarpo.

O rendimento do extrato metanólico foi 10,65%. Os rendimentos das fase orgânicas foram semelhantes aos encontrados na literatura (23), 0,52% e 3,5%, para hexano e acetato de etila, respectivamente.

Os efeitos prejudiciais causados pelos radicais livres, espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) podem contribuir para o início de câncer, doenças de pele e doenças neurodegenerativas. Recentemente, a demanda por antioxidantes naturais pela indústria alimentícia e farmacêutica, tem sido maior, devido às preocupações dos consumidores sobre a segurança de antioxidantes sintéticos, tais como o butil-hidroxitolueno (BHT) e 3-terc-butil-4- hidroxianisol (BHA), dentre outros (20).

Para avaliar a atividade antioxidante foi utilizado o método químico de redução do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH). O método de redução do radical DPPH é aplicado para determinar a capacidade de um composto em sequestrar radicais livres, sendo um dos mais utilizados, pois é considerado um método rápido, prático e com boa estabilidade. O método apresenta vantagens quando os antioxidantes analisados são mais solúveis em solventes orgânicos, e por ser um radical livre estável, está disponível comercialmente, o que evita sua geração por distintas formas, além de facilitar o uso (20). O DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta, que possui absorção na faixa de 515-520 nm. A estabilidade do radical DPPH tem sido usada, amplamente, para a determinação primária da atividade antioxidante, sendo baseado na descoloração do radical na presença de antioxidantes. Portanto, foi calculada a  $CE_{50}$  utilizando a equação das retas obtidas a partir da curva analítica das fases acetato de etila (373,72  $\mu\text{g/mL}$ ) e hexânica (1207,4  $\mu\text{g/mL}$ ). Vale ressaltar que quanto maiores forem os valores de  $CE_{50}$  menor será o potencial antioxidante do extrato testado.

Na literatura, foi relatado  $CE_{50}$  para o pericarpo do rambutã, no valor de 179,27  $\mu\text{g/mL}$ , e o potencial antioxidante foi correlacionado a antocianinas encontradas na casca do fruto (3). Foi observado, ainda, um potencial poder antioxidante das cascas do rambutã, quando foi encontrado um  $CE_{50}$  de 6  $\mu\text{g/mL}$ , utilizando o DPPH como teste. Os autores concluíram que o

Rambutã tem grande potencial para produção de preparações fitoterápicas (13). Os resultados desses estudos foram conduzidos com frutos de regiões da Ásia e Índia. Como as condições climáticas da Bahia são diferentes dessas regiões, é possível que as diferenças de valores encontrados para  $CE_{50}$  neste trabalho estão relacionadas a diversos fatores, tais como: composição do solo, clima e índice pluviométrico (variação dos metabolitos secundários). Neste trabalho, foi observado que a fase obtida a partir do acetato de etila apresentou uma atividade antioxidante maior do que a hexânica. Isso pode ser atribuído ao fato de que os compostos fenólicos presentes no Rambutã se concentram mais, na fase de maior polaridade.

Inúmeros constituintes bioativos têm sido identificados em extratos vegetais a partir da toxicidade sobre a *Artemia salina* (TAS). Este teste proporciona a monitoração de estudos fitoquímicos, como indicativo preliminar para a avaliação de outras atividades biológicas, como antifúngica, virucida, antimicrobiana e antitumoral (22). A ausência de toxicidade no teste de letalidade contra *A. salina* é um indicador de que a planta pode ser bem tolerada pelo sistema biológico. Entretanto, estudos mais detalhados para a avaliação da toxicidade dos extratos bioativos empregando outros modelos (*in vitro* e *in vivo*) se fazem necessários.

Após 24 horas de exposição dos náupilos às soluções das amostras, foi feita a contagem dos mesmos e, por meio da equação das retas obtidas, foi calculado a  $DL_{50}$  (dose na qual 50% dos náupilos morreram) a partir da equação da reta obtida.

A  $DL_{50}$  foi de 799,28  $\mu\text{g/mL}$  e 705,72  $\mu\text{g/mL}$  para as fases acetato de etila e hexânica, respectivamente. Houve 100% de sobrevivência para o branco, solução salina.

Diante destes dados obtidos na avaliação da toxicidade, foi possível sugerir que as frações (as fases) do extrato metanólico de *Nephelium lappaceum* L. não apresentam toxicidade para os náupilos de *A. salina*, pois nesse ensaio,  $DL_{50} < 80 \mu\text{g/mL}$  significa altamente tóxico; entre 80  $\mu\text{g/mL}$  e 250  $\mu\text{g/mL}$ , moderadamente tóxico; e  $DL_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$ , com baixa toxicidade (21).

Uma menor toxicidade foi obtida a partir da fase acetato de etila, quando comparada à hexânica. Este fato pode estar relacionado à presença de compostos fenólicos, que podem ter retardado a morte dos náupilos devido a sua atividade antioxidante.

Esse trabalho apresentou dados concordantes com outros estudos desenvolvidos, apesar de tais estudos

não terem utilizado a metodologia TAS para avaliar a toxicidade dos extratos (13-14, 18). Nestes estudos, os autores concluíram que extratos da casca de Rambutã poderiam ser classificados como fontes naturais potenciais para a obtenção de agentes antioxidantes.

## CONCLUSÃO

Esse é o primeiro trabalho a utilizar a metodologia da *A. salina* para avaliar a toxicidade dos extratos do

Rambutã. Ficou demonstrado o potencial antioxidante do Rambutã por meio dos testes realizados. Epicarpós de *Nephelium lappaceum* L. comercializada em Salvador, Bahia, Brasil, não apresentaram toxicidade frente à *Artemia salina*, corroborando com outros trabalhos da literatura que indicam ausência de toxicidade a partir de fases hexânicas e acetato de etila oriundas da partição do extrato metanólico do Rambutã. A fase acetato de etila apresentou maior capacidade antioxidante e menor efeito tóxico, enquanto que a fase hexânica apresentou menor atividade antioxidante e maior efeito tóxico.

## REFERÊNCIAS

1. Thitilertdecha N, Teerawutgulrag A, Kilburn JD, Rakariyatham N. Identification of Major Phenolic Compounds from *Nephelium lappaceum* L. and Their Antioxidant Activities. *Molecules*. 2010; 15(3):1453-1465. DOI 10.3390/molecules15031453.
2. Tindall HD. Rambutan cultivation. Roma: FAO. 1994.
3. Sun L, Zhang H, Zhuang Y. Preparation of Free, Soluble Conjugate, and Insoluble-Bound Phenolic Compounds from Peels of Rambutan (*Nephelium lappaceum*) and Evaluation of Antioxidant Activities *in vitro*. *J Food Sci*. 2012; 77(2):198-204. DOI 10.1111/j.1750-3841.2011.02548.x
4. Andrade RA, Lemos EGM, Martins ABG, De Paula RC, Pitta Junior JL. Caracterização morfológica e química de frutos de Rambutan. *Rev Bras Frutic*. 2008; 30(4):958-963.
5. Palanisamy UD, Cheng HM, Masilamani T, Subramaniam T, Ling LT, Radhakrishnan SK. Rind of the rambutan, *Nephelium lappaceum*, a potential source of natural antioxidants. *Food Chem*. 2008; 109(1):54-63. DOI 10.1016/j.foodchem.2007.12.018.
6. Palanisamy UD, Ling LT, Manaharan T, Appleton D. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chem*. 2011; 27(1):21-27. DOI 10.1016/j.foodchem.2010.12.070.
7. Palanisamy U, Manaharan T, Ling LT, Radhakrishnan AKC, Subramaniam T, Masilamani T. Rambutan rind in the management of hyperglycemia. *Food Res Int*. 2011; 44(7):2278-2282. DOI 10.1016/j.foodres.2011.01.048.
8. Perera A, Appleton D, Ying LH, Elendran S, Palanisamy UD. Large scale purification of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste using reverse-phase chromatography. *Sep Purif Technol*. 2012; 98:145-149. DOI 10.1016/j.seppur.2012.06.019.
9. Solís-Fuentes JA, Camey-Ortiz G, Hernández-Medel MR, Pérez-Mendoza F, Durán-de-Bazúa C. Composition, phase behavior and thermal stability of natural edible fat from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed. *Bioresour Technol*. 2010; 101(2):799-803. DOI 10.1016/j.biortech.2009.08.031.
10. Sekar M, Jaffar FNA, Zahari NH, Mokhtar N, Zulkifli NA, Kamaruzaman RA, Abdullah S. Comparative Evaluation of Antimicrobial Properties of Red and Yellow Rambutan Fruit Peel Extracts. *Annu. Res. Rev. Biol*. 2014; 4(24): 3869-3874. DOI 10.9734/ARRB/2014/11327.
11. Ashok K, Nethaji R, Thooyavan G, Mullai Nilla K. Phytochemical profiling, antioxidant and antimicrobial activity of methanol extract in rambutan fruit (*Nephelium lappaceum*) epicarp against the human pathogens. *Int. J. Curr. Innov. Res*. 2015; 1(9): 201-206.
12. Thitilertdecha N, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *Food Sci Technol*. 2008; 41(10):2029-2035. DOI 10.1016/j.lwt.2008.01.017.
13. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC; 2001.
14. Okonogi S, Duangrat C, Anuchpreed S, Tachakittirungrod S, Chowwanapoonpohn S. Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chem*. 2007; 103(3):839-846. DOI 10.1016/j.foodchem.2006.09.034.
15. Thitilertdecha N, Rakariyatham N. Phenolic content and free radical scavenging activities in rambutan during fruit maturation. *Sci Hortic-Amsterdam*. 2011; 129(2):247-252. DOI 10.1016/j.scienta.2011.03.041.
16. Brandão HN, David JP, David MJ. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Quim Nova*. 2010; 33(6):1359-1369.
17. Souza MVN. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtubulos, um importante alvo ao combate ao câncer. *Quim Nova*. 2004; 27(2):308-312.
18. Oliveira LP, Pinheiro RC, Vieira MS, Paula JR, Bara MTF, Valadares MC. Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Punica granatum* L., Punicaceae. *Rev Bras Farmacogn*. 2010; 20(2):201-207.

19. Hernández-Arenas MG, Nieto-Ángel D, Téliz-Ortiz D, Martínez-Damián MT, Nava-Díaz C, Bautista-Martínez N. *Ferrisia virgata* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) and Formicidae Associated with Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) in Southeast Mexico. *Southwest Entomol Scient.* 2011; 36(3):378-382. DOI 10.3958/059.036.0317.
20. Choi CW, Kim SC, Hwang SS, Choi BK, Ahn HJ, Lee MY, Pank SH, Kim SK. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay –guided comparison. *Plant Sci.* 2002; 163(6):1161-1168. DOI 10.1016/S0168-9452(02)00332-1.
21. Amarante CB, Müller AH, Póvoa MM, Dolabela MF. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade anti-plasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). *Acta Amaz.* 2011; 41(3):431-434.
22. Krishnaraju AV, Rao TVN, Sundararaju D, Vanisree M, Tsay HS, Subbaraju GV. Assessment of bioactivity of indian medicinal plants using brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay. *Int J Appl Sci Eng.* 2005; 3(2):125-134.
23. Khonkarn R, Okonogi S, Ampasavate C, Anuchapreed S. Investigation of fruit peel extracts as sources for compounds with antioxidant and antiproliferative activities against human cell lines. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48:2122–2129. DOI 10.1016/j.fct.2010.05.014.
24. Rodrigues TS, Guimarães SF, Rodrigues RG, Gabriel JV. Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). *Rev. Bras. Pl. Med.* 2011; 13(1):587-590.