

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

EVELYN ASSIS DE ANDRADE

ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DE QUALIDADE PARA A DIFERENCIAÇÃO DE
ESPÉCIES DO GÊNERO *Kalanchoe*

PONTA GROSSA
2024

EVELYN ASSIS DE ANDRADE

ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DE QUALIDADE PARA A DIFERENCIAÇÃO DE
ESPÉCIES DO GÊNERO *Kalanchoe*

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, associação ampla entre a UNICENTRO e a UEPG, Área de Avaliação Química e Biológica de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame.
Coorientadora: Prof^a Dr^a Jane Manfron.

PONTA GROSSA

2024

A553 Andrade, Evelyn Assis de
Estratégias de controle de qualidade para a diferenciação de espécies do gênero *Kalanchoe* / Evelyn Assis de Andrade. Ponta Grossa, 2024.
153 f.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame.
Coorientadora: Profa. Dra. Jane Manfron.

1. Medicina tradicional. 2. Farmacobotânica. 3. Fitoquímica. 4. Química de produtos naturais. 5. Controle de qualidade. I. Beltrame, Flávio Luís. II. Manfron, Jane. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. IV.T.

CDD: 615.321

	<p>PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS</p> <p>Associação Ampla entre a Universidade Estadual do Centro-Oeste e a Universidade Estadual de Ponta Grossa</p>	
---	--	---

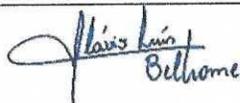
ATA DE EXAME DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÁRMACOS, MEDICAMENTOS E BIOCÊNCIAS APLICADAS À FARMÁCIA NÚMERO 04/2024 DA DOUTORANDA EVELYN ASSIS DE ANDRADE, REALIZADA NO DIA 24 DE MAIO DE 2024, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

Aos vinte e quatro dias do mês de maio de dois mil e vinte e quatro, às 14h30, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em sessão aberta, por videoconferência (<http://meet.google.com/apj-nxqr-hai>), sob a presidência do Professor Doutor Flávio Luís Beltrame, reuniu-se a Banca Examinadora de defesa de tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas da doutoranda EVELYN ASSIS DE ANDRADE, na linha de pesquisa: Avaliação Química e Biológica de Produtos Naturais, constituída pelo Professor Doutor FLÁVIO LUÍS BELTRAME e demais Doutores (membros titulares): R. THOMAS WILLIAMSON (UNCW/EUA); WENDY K. STRANGMAN (UNCW/EUA); RITA DE CÁSSIA RIBEIRO GONÇALVES (UFES/ES); e VERA LÚCIA PEREIRA DOS SANTOS (UNINTER/PR). Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e à candidata das normas que regem o exame de defesa de tese de Doutorado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores, para arguição. O título do trabalho foi: “ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DE QUALIDADE PARA A DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Kalanchoe*”. Encerrada a defesa, a banca considerou APROVADA a tese, considerada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas. A aluna deverá entregar, no prazo de até 30 (trinta) dias, a versão definitiva da Tese de Doutorado, com as modificações sugeridas pelos membros da Banca Examinadora. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Observações (se necessário): _____

Alteração de título: sim não

Novo título: NÃO SE APLICA



FLÁVIO LUÍS BELTRAME
(UEPG)
Presidente



R. THOMAS WILLIAMSON
(UNCW/EUA)
Titular



WENDY K. STRANGMAN
(UNCW/EUA)
Titular



RITA DE CÁSSIA RIBEIRO GONÇALVES
(UFES/ES)
Titular



VERA LÚCIA PEREIRA DOS SANTOS
(UNINTER/PR)
Titular

Em memória de Rui de Andrade (13/07/1952 - 19/01/2022).
Sua luz guia cada palavra aqui escrita.
Com amor, sua filha.

AGRADECIMENTOS

Ao refletir sobre a jornada que culminou na conclusão desta tese, percebo que esta conquista não é apenas o resultado do meu esforço individual, mas sim a soma de inúmeros atos de generosidade, suporte e amor que recebi ao longo deste caminho. É com profunda gratidão e reconhecimento que estendo meu agradecimento a todos que contribuíram para tornar este sonho uma realidade.

Primeiramente, à minha família de sangue, que me forneceu as raízes e as asas: vocês me deram a vida, a identidade, e o amor incondicional que formaram a base de tudo o que sou. Sem o seu sacrifício, apoio e crença inabalável, eu não estaria aqui.

À minha família científica, que orientou meus passos no labirinto do conhecimento com imensa sabedoria e paciência: a cada orientação, crítica construtiva e momento de aprendizado compartilhado, vocês moldaram meu pensamento e minha paixão pela ciência. Sou eternamente grata pela orientação e pelo tempo dedicado a mim.

À minha família fraternal, os amigos que caminharam ao meu lado e se tornaram irmãos de alma: o apoio, as risadas, os desabafos e os momentos de descontração que compartilhamos foram essenciais para manter minha sanidade e equilíbrio. Vocês enriqueceram esta jornada de maneiras que palavras não podem expressar.

E, por fim, à família que escolhi e que me escolheu, envolvendo-me em um amor que transcende palavras: sua presença, apoio e amor incondicional foram o alicerce sobre o qual construí minha confiança e perseverança. Cada gesto de carinho e compreensão foi um lembrete do porquê vale a pena persistir.

Cada página desta tese é um testemunho não só do meu esforço, mas também do amor, sacrifício e apoio que cada um de vocês me ofereceu. Este não é apenas um marco acadêmico, mas uma celebração da quebra de padrões geracionais.

Esta conquista é, verdadeiramente, nossa.

“Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor, lembre-se:
se escolher o mundo ficará sem o amor,
mas se escolher o amor,
com ele conquistará o mundo”.

Albert Einstein

RESUMO

A sinergia entre o saber tradicional e o rigor científico é fundamental para impulsionar inovações na medicina tradicional e na fitoterapia. Considerando a importância histórica e a crescente relevância das plantas medicinais na farmacologia contemporânea, este estudo apresenta uma análise integrada de espécies do gênero *Kalanchoe*, com ênfase na diferenciação dessas que são frequentemente usadas de maneira intercambiável na medicina popular. Neste contexto, este estudo se concentra em realizar uma distinção e caracterização detalhada das espécies *Kalanchoe crenata*, *Kalanchoe daigremontiana*, *Kalanchoe marmorata*, *Kalanchoe pinnata* e *Kalanchoe x houghtonii*, do ponto de vista morfoanatômico e químico. Através de uma abordagem farmacobotânica aprofundada, quantificação dos compostos fenólicos, avaliação do potencial antioxidante, e definição do perfil químico por técnicas cromatográficas avançadas, os métodos empregados, incluindo microscopia de alta resolução e análises químicas modernas, servem como ferramentas essenciais para o controle de qualidade de extratos vegetais e produtos derivados. Os achados desta pesquisa ressaltam diferenças notáveis entre as espécies investigadas, contribuindo para um melhor uso na medicina tradicional e na preparação de medicamentos fitoterápicos. Adicionalmente, o estudo amplia o entendimento sobre a composição química e as características específicas atribuídas às espécies de *Kalanchoe*, evidenciando a importância de procedimentos rigorosos de controle de qualidade na autenticação de insumos e garantindo a eficácia e segurança dos produtos derivados.

Palavras-chave: Medicina tradicional, Farmacobotânica, Fitoquímica, Química de Produtos Naturais, Controle de Qualidade em Fitoterápicos.

ABSTRACT

The synergy between traditional knowledge and scientific rigor is essential for driving innovations in traditional medicine and herbal therapy. Considering the historical importance and the growing relevance of medicinal plants in contemporary pharmacology, this study presents an integrated analysis of species from the genus *Kalanchoe*, with an emphasis on the differentiation of species that are frequently used interchangeably in folk medicine. In this context, the study focuses on a detailed distinction and characterization of the species *Kalanchoe crenata*, *Kalanchoe daigremontiana*, *Kalanchoe marmorata*, *Kalanchoe pinnata*, and *Kalanchoe x houghtonii*, from morphoanatomical and chemical aspects. Through an in-depth pharmacobotanical approach, quantification of phenolic compounds, evaluation of antioxidant potential, and definition of the chemical profile by advanced chromatographic techniques, the methods employed, including high-resolution microscopy and modern chemical analyses, serve as essential tools for the quality control of plant extracts and derived products. The findings of this research highlight notable differences between the investigated species, contributing to better use in traditional medicine and the preparation of herbal medicines. Additionally, the study expands the understanding of the chemical composition and specific characteristics attributed to the *Kalanchoe* species, underscoring the importance of rigorous quality control procedures in the authentication of inputs, and ensuring the efficacy and safety of derived products.

Keywords: Traditional medicine, Pharmacobotany, Phytochemistry, Natural Product Chemistry, Quality Control in Herbal Medicines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição das espécies da família Crassulaceae	19
Figura 2 – Distribuição das espécies do gênero <i>Kalanchoe</i>	21
Quadro 1 – Aspectos botânicos de espécies de <i>Kalanchoe</i>	23
Figura 3 – Usos populares de espécies do gênero <i>Kalanchoe</i>	32
Quadro 2 – Usos tradicionais de espécies do gênero <i>Kalanchoe</i>	33
Quadro 3 – Glicosídeos cardioativos de espécies de <i>Kalanchoe</i>	42
Figura 4 – Estruturas químicas de glicosídeos cardioativos de espécies de <i>Kalanchoe</i>	47
Quadro 4 – Flavonoides de espécies de <i>Kalanchoe</i>	48
Figura 5 – Estruturas químicas de flavonoides de espécies de <i>Kalanchoe</i>	54
Quadro 5 – Outras classes de compostos identificados em espécies do gênero <i>Kalanchoe</i>	56
Figura 6 – Estruturas químicas de outros metabólitos secundários no gênero <i>Kalanchoe</i>	62
Quadro 6 – Atividades biológicas de compostos isolados do gênero <i>Kalanchoe</i>	73
Figura 7 – Aspectos morfológicos de cinco espécies de <i>Kalanchoe</i>	94
Quadro 7 – Aspectos morfológicos para diferenciação de cinco espécies de <i>Kalanchoe</i>	95
Figura 8 – Aspectos anatômicos de cinco espécies de <i>Kalanchoe</i> por microscopia de luz.....	96
Quadro 8 – Aspectos anatômicos para diferenciação de cinco espécies de <i>Kalanchoe</i>	97
Figura 9 – Análise botânica microscópica de produtos comerciais de <i>Kalanchoe</i> .	102
Figura 10 – Perfil químico por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Performance (CCD-AP) de espécies de <i>Kalanchoe</i>	105
Figura 11 – Cromatogramas de extratos de espécies de <i>Kalanchoe</i>	107
Figura 12 – Fragmentos de massas das substâncias da espécie <i>Kalanchoe</i> <i>daigremontiana</i>	111
Figura 13 – Análise de componentes principais dos extratos aquosos de <i>Kalanchoe</i> por CLUE-EM no modo ESI negativo.....	112

Figura 14 – Análise de componentes principais dos extratos aquosos de <i>Kalanchoe</i> e produtos comerciais por CLUE-EMno modo ESI negativo.	113
Figura 15 – Cromatogramas de extratos aquoso de <i>Kalanchoe daigremontiana</i> e <i>Kalanchoe pinnata</i> e seus respectivos produtos comerciais.....	114
Figura 16 – Aspectos histoquímicos de folhas de <i>K. daigremontiana</i> e <i>K. x houghtonii</i>	123
Figura 17 – Aspectos histoquímicos de pecíolos de <i>K. daigremontiana</i> e <i>K. x houghtonii</i>	125
Figura 18 – Aspectos histoquímicos de caules de <i>K. daigremontiana</i> e <i>K. x houghtonii</i>	126
Figura 19 – CCD-AP <i>fingerprint</i> de extratos de <i>K. daigremontiana</i> e <i>K. x houghtonii</i>	127
Figura 20 – Cromatogramas de <i>K. daigremontiana</i> e <i>K. x houghtonii</i>	128

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	14
APRESENTAÇÃO	16
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA	18
1.1 FAMÍLIA CRASSULACEAE J.St.-Hil.	18
1.2 GÊNERO <i>Kalanchoe</i> Adans	19
1.3 ASPECTOS BOTÂNICOS DO GÊNERO <i>Kalanchoe</i>	20
1.4 USOS POPULARES DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Kalanchoe</i>	30
1.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	38
1.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS	58
1.6.1 Atividade Antioxidante	59
1.6.2 Atividade Antimicrobiana e Antiparasitária	60
1.6.3 Atividade Analgésica, Anti-Inflamatória e Cicatrizante	61
1.6.4 Atividade Cardioprotetora	62
1.6.5 Atividade Citotóxica e Genotóxica	63
1.6.6 Atividades sobre o Sistema Nervoso Central	65
1.6.7 Atividade Hipoglicemiante	65
1.6.8 Outras Atividades	66
1.6.9 Substâncias Isoladas	67
CAPÍTULO 2 – DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE <i>Kalanchoe</i> PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS	82
2.1 MATERIAL E MÉTODOS	84
2.1.1 Coleta e Identificação do Material Vegetal	84
2.1.2 Preparo dos Materiais Vegetais e Extratos	84
2.1.3 Avaliação Botânica e Análise de Pó	84
2.1.4 Análise por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Performance.....	85
2.1.4.1 <i>Preparo dos padrões</i>	85
2.1.4.2 <i>Aplicação e Desenvolvimento</i>	85
2.1.4.3 <i>Derivatização pós-cromatográfica e visualização</i>	86

2.1.5	Análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas	86
2.1.6	Processamento e Análise de Dados	87
2.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
2.2.1	Análise Farmacobotânica.....	88
2.2.2	Análise Química.....	99

CAPÍTULO 3 – ANÁLISE INTEGRADA PARA DIFERENCIAÇÃO PRECISA ENTRE

***Kalanchoe daigremontiana* E *Kalanchoe × houghtonii*.....**

3.1	MATERIAL E MÉTODOS	113
3.1.1	Material Vegetal	113
3.1.2	Avaliação Histoquímica	113
3.1.3	Análise por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Performance	114
3.1.3.1	CCD-AP-Compostos Fenólicos	114
3.1.3.2	CCD-AP- DPPH	114
3.1.3.3	CCD-AP- ABTS	115
3.1.4	Análises <i>In Vitro</i>	115
3.1.4.1	Conteúdo Total de Fenólicos	115
3.1.4.2	Redução do radical DPPH*	116
3.1.4.3	Redução do radical ABTS*+	116
3.1.5	Análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas	116
3.1.6	Processamento de Dados e Análise Estatística	117
3.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	118
3.2.1	Avaliação Histoquímica	118
3.2.2	Análises Químicas e Potencial Antioxidante	124
3.2.2.1	Análise por CCD-AP e CLUE-EM/EM	124
3.2.2.2	Conteúdo Fenólico e Potencial Antioxidante <i>In Vitro</i>	127

CAPÍTULO 4 – ALÉM DE *Kalanchoe*: COLABORAÇÕES E CONTRIBUIÇÕES NO ÂMBITO DO DOUTORADO

CONCLUSÕES	136
REFERÊNCIAS	137

INTRODUÇÃO

Por muitos séculos as plantas têm sido uma rica fonte de obtenção e/ou inspiração para o estudo e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para o tratamento de diversas doenças. Cerca de 21.000 espécies de plantas são possivelmente usadas para fins medicinais, das quais a maioria é barata, prontamente disponível e com poucos efeitos colaterais. Esse enorme potencial oferecido pela natureza precisa ser explorado. Além disso, uma vez que as expectativas do mercado para fármacos produzidos a partir de bibliotecas de drogas sintéticas não foram atendidas até o momento e que os medicamentos derivados de plantas representam 33% da produção total de medicamentos na indústria, atenção significativa é dada às plantas medicinais para o progresso na descoberta de drogas seguras para humanos (Akentieva *et al.*, 2021; Sumudu Chandana; Morlock, 2021).

O estudo científico das propriedades terapêuticas de espécies vegetais parte, em geral, do princípio etnofarmacológico, o qual se baseia no conhecimento popular para a seleção e investigação científica destas, empiricamente utilizadas para fins medicinais. Essas informações auxiliam no direcionamento de estudos farmacológicos, clínicos e químicos que possam confirmar tais indicações, bem como possibilitar o isolamento de novas substâncias que venham a ser responsáveis pelas ações terapêuticas relatadas (Cass; Cassiano, 2015).

Como exemplo clássico, tem-se a morfina, um alcaloide piperidínico de importância milenar, isolado de *Papaver somniferum* em 1804, que serviu de inspiração e modelo até a sua completa modificação estrutural e descoberta dos derivados 4-fenil-piperidínicos como uma nova classe de hipnoanalgésicos. Inúmeras outras classes de metabólitos secundários são representativas da importância dos produtos naturais na descoberta de fármacos, assim como os glicosídeos de *Digitalis*, empregados como cardiotônicos e até hoje não foram identificados nenhum substituto equivalente. E como exemplo mais atual, tem-se a espécie *Cordia verbenacea*, conhecida popularmente como erva-baleeira, a qual deu origem ao produto *Acheflan*, o primeiro anti-inflamatório tópico produzido a partir do extrato de uma planta medicinal brasileira (Atanasov *et al.*, 2021; Barreiro; Bolzani, 2009; Ereno, 2005).

Algumas espécies do gênero *Kalanchoe* têm uma longa história de uso terapêutico na cultura popular, com extensa aplicação em terapias complementares

e alternativas, sendo chamadas de "folha-milagrosa" por suas notáveis propriedades curativas e uso popular para o tratamento de vários problemas de saúde (Akulova-Barlow, 2009; Bhavsar *et al.*, 2018; Mawla *et al.*, 2012; Molina *et al.*, 2019; Stefanowicz- Hajduk *et al.*, 2020; Zawirska-Wojtasiak *et al.*, 2019). Em contrapartida, o mesmo nome popular - atrelado às similaridades morfológicas e estruturais destas espécies - frequentemente causa confusão entre as pessoas que as utilizam para fins medicinais, podendo resultar em problemas como ineficácia e/ou intoxicações.

Considerando isso e tendo em vista que o mercado farmacêutico exige estratégias baseadas em provas de controle de qualidade, em particular as estratégias que incluem a avaliação do perfil de bioatividade de produtos contendo os ingredientes ativos (Sumudu; Chandana; Morlock, 2021), reforça-se a necessidade de aprimorar o conhecimento científico sobre as características botânicas e químicas a espécies de *Kalanchoe* e consequentemente contribuir para a adequada ação farmacológica, principalmente, sobre seus metabólitos.

Compreende-se a importância de realizar estudos incluindo a diferenciação morfoanatômica, identificação e caracterização dos metabólitos bioativos, e realização de testes biológicos para validar cientificamente a indicação popular existente. Tais estudos irão certificar maior segurança e conhecimento quanto aos efeitos farmacológicos atribuídos popularmente a essas espécies (Bugno *et al.*, 2006; Carneiro *et al.*, 2014; Turolla; Nascimento, 2006).

Pelos motivos citados, este trabalho se justifica pela ausência de estudos que permitam a diferenciação das estruturas morfológicas e anatômicas, a determinação da composição química e a avaliação de ações biológicas dos metabólitos secundários produzidos por espécies do gênero *Kalanchoe*, especificamente *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haw., *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier, *Kalanchoe marmorata* Baker, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. e *Kalanchoe x houghtonii* D.B.Ward.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Realizar uma análise integrada dos aspectos químicos e morfoanatômicos das espécies *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haw., *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier, *Kalanchoe marmorata* Baker, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. e *Kalanchoe x houghtonii* D.B.Ward para desenvolver métodos de controle de qualidade e avaliar o potencial terapêutico através de ensaios *in vitro* de atividade antioxidante.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterização Morfoanatômica e Histoquímica: detalhar as estruturas das folhas e caules de *K. crenata*, *K. daigremontiana*, *K. marmorata*, *K. pinnata* e *K. x houghtonii* utilizando técnicas de microscopia e coloração para evidenciar e identificar características distintivas entre as espécies, bem como análise do pó de produtos comerciais de *K. daigremontiana* e *K. pinnata* para avaliar a consistência e autenticidade em relação às características morfoanatômicas determinadas para as espécies vegetais autenticadas;
- Perfil Químico: utilizar Cromatografia de Camada Delgada de Alta Performance (CCD-AP) para elucidar o perfil químico dos extratos das espécies *K. crenata*, *K. daigremontiana*, *K. marmorata*, *K. pinnata* e *K. x houghtonii*, focando na identificação e na quantificação de compostos fenólicos e avaliando suas contribuições para a atividade antioxidante, bem como realizar a análise comparativa com o pó de produtos comerciais de *K. daigremontiana* e *K. pinnata* para avaliar a consistência e autenticidade em relação ao perfil químico determinado para os extratos;
- Caracterização Química: aplicar Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLUE-EM) para uma caracterização detalhada dos constituintes químicos e análise do perfil metabólico dos extratos de folhas das espécies de *K.*

crenata, *K. daigremontiana*, *K. marmorata*, *K. pinnata* e *K. x houghtonii*, visando uma compreensão mais aprofundada de seus componentes bioativos, bem como realizar a análise do pó de produtos comerciais de *K. daigremontiana* e *K. pinnata* para avaliar a consistência e autenticidade em relação ao perfil químico determinado para os extratos;

- Quantificação de Compostos Fenólicos: empregar métodos analíticos para quantificar o conteúdo de compostos fenólicos totais presentes em extratos de folhas de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*, correlacionando-os com potenciais propriedades antioxidantes;
- Avaliação do Potencial Antioxidante: investigar a capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos de folhas de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* através de ensaios padronizados, como a captura de radicais livres DPPH• e ABTS*+, para determinar seu potencial bioativo.

APRESENTAÇÃO

O Capítulo 1 apresenta uma revisão abrangente sobre a diversidade e o potencial biológico do gênero *Kalanchoe*, pertencente à família Crassulaceae. A revisão contempla os principais aspectos publicados na literatura sobre os usos tradicionais, características botânicas, composição química e atividade farmacológica das espécies de *Kalanchoe*.

Adicionalmente, a revisão aborda características distintas e especificidades de cada espécie do gênero *Kalanchoe*, informações as quais servem como ponto de partida para pesquisas científicas que visam validar e compreender os seus usos para fins medicinais. Além disso, destacam-se as lacunas no conhecimento e a necessidade de estudos adicionais para elucidar completamente o perfil fitoquímico e farmacológico das espécies de *Kalanchoe*, enfatizando a importância de abordagens metodológicas apropriadas para isolar e caracterizar compostos bioativos.

No Capítulo 2 é apresentado um estudo focado na diferenciação de espécies de *Kalanchoe* utilizadas como matéria-prima em produtos comerciais. Este estudo aborda uma metodologia multidisciplinar que integra análises farmacobotânicas e perfilagem metabólica por métodos cromatográficos, destacando-se na identificação precisa e na diferenciação de cinco espécies do gênero *Kalanchoe*, sendo elas: *K. crenata*, *K. daigremontiana*, *K. marmorata*, *K. pinnata* e *K. x houghtonii* e análise comparativa do pó de produtos comerciais de *K. daigremontiana* e *K. pinnata*.

Este estudo é particularmente relevante dada a dificuldade histórica em diferenciar espécies de *Kalanchoe* devido às suas semelhanças morfológicas e o uso compartilhado de nomes comuns, que muitas vezes levam a desafios na autenticação de matérias-primas e na avaliação da qualidade de produtos derivados.

Ademais, a investigação conduzida demonstra a aplicação prática de diferentes técnicas para a garantia da qualidade de produtos fitoterápicos no mercado, revelando, por exemplo, a existência de produtos comerciais que não correspondem à composição química esperada das espécies declaradas. Esta descoberta reforça a importância de metodologias rigorosas de controle de qualidade para assegurar a autenticidade e a eficácia dos produtos fitoterápicos disponíveis aos consumidores.

No Capítulo 3 é apresentada uma investigação detalhada e comparativa de duas espécies do gênero, sendo elas: *K. daigremontiana* e *K. × houghtonii*. Estas espécies, conhecidas popularmente como “mãe-de-milhares” ou “mãe-de-milhões”, possuem usos medicinais consagrados, mas frequentemente são confundidas devido à semelhança morfológica e à utilização indistinta na medicina popular. Neste estudo, foram empregadas análises histoquímicas, avaliações do conteúdo fenólico total e do potencial antioxidante, além de perfis metabólicos por cromatografia, diferenciando significativamente *K. daigremontiana* de *K. × houghtonii*. Ao elucidar as características histoquímicas, identificando os principais constituintes químicos e avaliando os efeitos biológicos de seus metabólitos secundários, a pesquisa fornece uma base científica para sua diferenciação e identificação correta, melhorando assim a segurança e eficácia de seu uso medicinal.

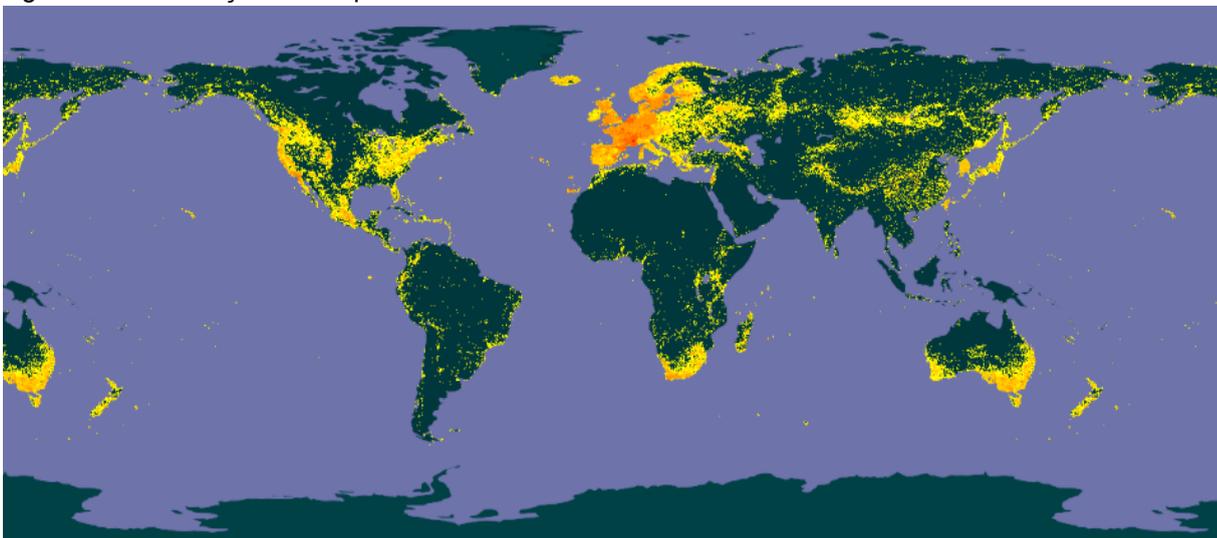
Por fim, o capítulo 4 destaca a diversidade e o impacto das contribuições em outros projetos de pesquisa, refletindo a aplicação dos conhecimentos obtidos em uma ampla gama de contextos científicos. Desde investigações sobre o potencial de frações de extratos do látex de *Euphorbia umbellata* em células leucêmicas e de melanoma, até o estudo das propriedades polifenólicas desta espécie na melhora da disfunção endotelial. Além disso, a aplicação de cristais líquidos como veículo para o óleo de *Croton tiglium* L. em formulações para *peelings* químicos profundos e a utilização de extrato de grãos de cerveja como antioxidantes em biopolímeros ativos baseados em amido, destacam a aplicação prática dos conceitos de fitoquímica, fitofarmacologia e etnobotânica em outras descobertas científicas. Essas colaborações não apenas ampliam o escopo do conhecimento científico em áreas específicas, mas também reforçam a importância da pesquisa multidisciplinar na resolução de desafios complexos em ciência e tecnologia. O engajamento nesses projetos paralelos ilustra o compromisso com a excelência científica e a contribuição para o avanço da pesquisa.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DA LITERATURA

1.1 FAMÍLIA CRASSULACEAE J.St.-Hil.

A família Crassulaceae é composta por 39 gêneros, com espécies de *habitats* secos e rochosos, geralmente terrestres, amplamente distribuídas em regiões temperadas e tropicais, especialmente em regiões montanhosas. As principais áreas de especiação incluem a África e Ásia, predominantemente em Madagascar e Arábia (Fernandes *et al.*, 2019; POWO, 2024a; Smith *et al.*, 2019), porém também são encontradas nas Américas e na Austrália (Figura 1) (GBIF, 2024).

Figura 1 – Distribuição das espécies da família Crassulaceae



Fonte: GBIF (2024). Crassulaceae. Disponível em: <https://www.gbif.org/species/2406>. Acesso em: maio de 2024.

As espécies desta família são herbáceas ou subarborescentes, geralmente anuais, com folhas planas ou cilíndricas, suculentas, opostas ou alternas e com extremidades avermelhadas nas raízes. Suas flores são hermafroditas, com formato pendular, geralmente agrupadas em inflorescências terminais e podem apresentar cores variadas (Moreira *et al.*, 2012; POWO, 2023).

Por serem xeromórficas, toleram adaptações a condições extremas como escassez de água e de luz. Uma característica dessas plantas é a presença de um compartimento nas folhas e tecidos do caule que pode armazenar e inibir a perda de água (Fernandes *et al.*, 2019; Herrera *et al.*, 2011; Milad *et al.*, 2014).

Isso é consequência do metabolismo ácido crassuláceo (*Crassulacean Acid Metabolism* - CAM), uma adaptação metabólica para realizar a fixação fotossintética de CO₂ e redução da perda de água. Durante a noite, e em baixas temperaturas, os estômatos se abrem e a planta pode assimilar o CO₂ atmosférico. No entanto, a luz do dia fecha a estrutura dos estômatos e ocorre a fixação de CO₂ (Moreira *et al.*, 2012; Wild *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2017). Os estômatos têm sido descritos em detalhes na literatura e podem ser considerados marcadores anatômicos da família Crassulaceae (Gotoh *et al.*, 2019).

Estudos fitoquímicos relatam, em sua maioria, o isolamento de compostos fenólicos, compostos esteroidais e glicosídeos cardiotônicos (em especial os bufadienólídeos). Estudos farmacológicos relatam diversas atividades biológicas, como: antioxidante, hipoglicêmica, antimicrobiana, antiulcerogênica, citotóxica, anti-inflamatória, hepato-protetora, analgésica, antimalárica, antimutagênica, entre outras (Eid *et al.*, 2018; Milad *et al.*, 2014).

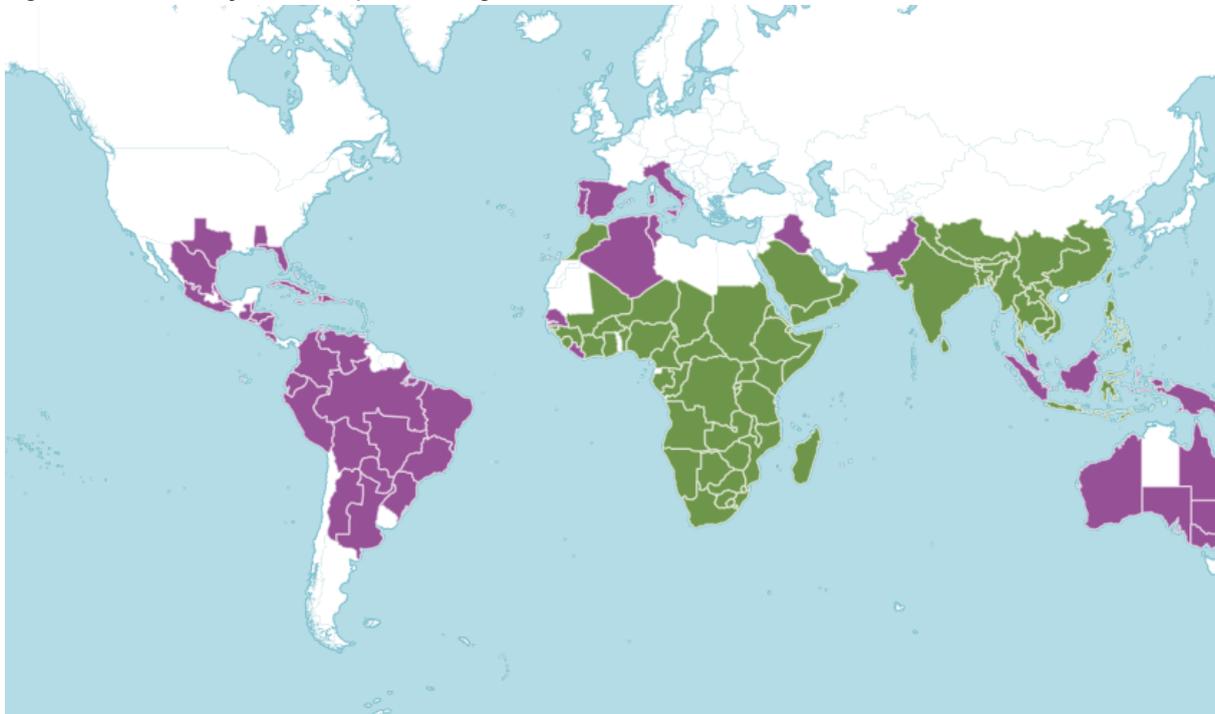
1.2 GÊNERO *Kalanchoe* Adans

O termo *Kalanchoe* foi usado pela primeira vez por Michel Adanson em 1763 e refere-se à transcrição fonética do termo chinês "*Kalan Chauhuy*", que significa "o que cai e cresce", e foi usado para descrever a propagação dos embriões das folhas. Outra explicação para o nome relaciona-o às palavras "*kalanka*" e "*chaya*", que são usadas pelos indígenas brasileiros e significam respectivamente mancha/ferrugem e brilho (aludindo às folhas brilhantes e raízes avermelhadas) (Akulova-Barlow, 2009; Smith *et al.*, 2019).

O gênero *Kalanchoe* compreende 173 espécies aceitas e distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Figura 2) (POWO, 2024b). Constitui um gênero complexo, com uma taxonomia confusa, ainda em construção e, conseqüentemente, não claramente elucidada. Diferentes tendências têm sido notáveis na literatura, tanto em sua nomenclatura quanto em sua sistemática. Estudiosos da área discordam se a classificação é baseada em um único gênero (*Kalanchoe*) ou três seções separadas (*Kalanchoe* Adans, *Bryophyllum* Salisb. e *Kitchingia* Baker). Outros autores propõem uma classificação com 3 subgêneros (*Kalanchoe*, *Bryophyllum* e *Calophygia*), devido a diferentes argumentos evolutivos, características morfológicas e análises moleculares (Smith; Figueiredo; van Wyk,

2019; Garcia-Perez *et al.*, 2020). No presente estudo, abordaremos a premissa de *Kalanchoe* como um único gênero.

Figura 2 – Distribuição das espécies do gênero *Kalanchoe*



Fonte: POWO: Plants of the World Online. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30060186-2#distributions>. Acesso em: maio de 2024.

Notas: verde: espécie nativa; roxo: espécie introduzida.

1.3 ASPECTOS BOTÂNICOS DO GÊNERO *Kalanchoe*

As espécies de *Kalanchoe* são conhecidas popularmente como "mãe-de-milhares" ou "mãe-de-milhões" devido à sua propagação por embriões foliares (também chamados de bulbos foliares), os quais são oriundos das margens das folhas, sendo responsáveis pela tremenda invasividade das espécies do gênero (Ferreira *et al.*, 2014).

O método de reprodução assexuada por auto propagação é considerado a característica mais marcante do gênero, podendo ocorrer de duas maneiras: por raízes aéreas que se desenvolvem ao longo do caule principal para que estas possam ser ancoradas no solo e, eventualmente, formando novos colmos primários a partir das plantas curvadas que se estabelecem como propágulos independentes; e por plântulas jovens que crescem ao longo das bordas das folhas, caem no solo e crescem até a maturidade em um ciclo contínuo, sendo o segundo modo de reprodução o mais recorrente. Em locais abertos adequados (como locais rochosos

ou arenosos), estes podem formar povoamentos densos rapidamente (Ferreira *et al.*, 2014; Herrando-Moraira *et al.*, 2020; Herrera *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2016; Zawirska-Wojtasiak *et al.*, 2019).

Em geral, as espécies do gênero *Kalanchoe* são herbáceas, possuem galhos pequenos e podem atingir de 1 a 1,5 m de altura, principalmente durante a floração. Suas folhas são simples, geralmente opostas e pecioladas, suculentas, ovais e com margem crenada, com 10 a 20 cm de comprimento, onde plântulas adventícias são produzidas. As flores podem medir até 5 cm de comprimento, sendo, em sua maioria, tetrâmeras, pendentes, coloridas e dispostas em inflorescências terminais em forma de corimbo. Os frutos são membranosos, com numerosas sementes. O caule é ereto e recoberto por células epidérmicas impregnadas com resina, formando uma fina camada que pode reduzir a evaporação do líquido (Kamboj; Saluja, 2009; Lorenzi; Matos, 2008; Milad *et al.*, 2014; POWO, 2023).

Os aspectos botânicos de apenas 16 espécies do gênero *Kalanchoe* foram formalmente descritos na literatura (Quadro 1). Mais especificamente, 11 destas possuem alguma descrição macroscópica e as demais possuem avaliação botânica com alguma análise microscópica.

Adicionalmente, traços anatômicos de 15 espécies do gênero foram estudados por Abdel-Raouf (2012). Mais recente, 5 genótipos de *K. blossfeldiana* foram distinguidos por caracterização morfológica, avaliando os aspectos anatômicos da flor e a altura da planta; e perfil molecular, por ferramentas de reação em cadeia de polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) (Al-Khayri *et al.*, 2022).

Quadro 1 – Aspectos botânicos de espécies de *Kalanchoe*.

Espécies	Aspectos Macroscópicos	Aspectos Microscópicos	Referências
<i>K. beharensis</i>	A maior espécie do gênero, com 3 m de altura; caules não-ramificados; folhas em sua maioria nas extremidades dos galhos; lobadas, cobertas por uma camada densa de tricomas; 12-35 cm de comprimento e 7-35 cm de largura.	Ausentes.	Akulova-Barlow, 2009.
<i>K. blossfeldiana</i>	Planta verde-escura, suculenta, e perene, com folhas onduladas e largos cachos de flores acima das folhas. As folhas têm margens lobadas e podem atingir 7,7 cm de comprimento e 3,8 cm de largura. As cores das flores podem variar do tradicional vermelho a amarelo, laranja, salmão e rosa.	Ausentes.	García-Sogo <i>et al.</i> , 2009.
<i>K. daigremontiana</i>	Ervas suculentas perenes de vida curta, monocárpicas multianuais. Sua característica mais marcante é o método de reprodução assexuada por	A epiderme é unisseriada, de parede celular convexa, cutícula cerosa, levemente ondulada e estriada nas células subsidiárias. As folhas são	Akulova-Barlow, 2009; Chernetsky <i>et al.</i> , 2018; Herrera <i>et al.</i> , 2011; Liu <i>et al.</i> , 2016;

	<p>auto propagação. As flores tendem a ser esporádicas (no inverno) e, quando ocorrem, o caule central se alonga verticalmente, desenvolvendo inflorescências terminais contendo flores pequenas e pendentes, com corola de coloração rosa ou lilás. O caule é não-ramificado, com até 1,5 m de altura. As folhas são verde-escuras com manchas marrom-arroxeadas na face abaxial, suculentas, espessas, lanceoladas, com margem serrada, ápice cônico, hidatódios e bulbos adventícios, de onde os propágulos são formados e desenvolvidos.</p>	<p>anfiestomáticas, com estômatos anisocíticos. O mesofilo consiste em uma ou várias camadas de pequenas células aderentes. Nos pecíolos, ocorre 1-3 camadas de colênquima angular. Os feixes vasculares são colaterais. Na nervura central das folhas, bem como nos pecíolos, ocorre 3 feixes grandes circundados por finos feixes laterais. Idioblastos fenólicos estão presentes em células epidérmicas e subepidérmicas, próximo aos elementos de vaso e nos feixes vasculares de maior porte, circundando os pequenos feixes vasculares, dispersos no parênquima esponjoso, como células isoladas ou formando agregados.</p>	<p>Quintero <i>et al.</i>, 2021; Zawirska-Wojtasiak <i>et al.</i>, 2019.</p>
<p><i>K. delagoensis</i></p>	<p>Possui folhas de cor roxo-escuro, apresentando pequenas mudas. Geralmente cresce até cerca de 1 m de</p>	<p>As folhas são tubulares e têm de 6 a 8 botões apicais. A epiderme é unisseriada, com células de paredes anticlinais</p>	<p>Akulova-Barlow, 2009; Casanova <i>et al.</i>, 2020.</p>

	altura antes de florescer. No inverno, a inflorescência terminal carrega flores pendentes em formato de sino de cor laranja ou vermelha, e depois morre.	sinuosas. As folhas são anfiestomáticas, com estômatos anisocíticos. O mesofilo é homogêneo. O sistema vascular tem feixes colaterais distribuídos em arco. Idioblastos antociânicos ocorrem na epiderme, hipoderme, camada abaixo da hipoderme, no clorênquima, ao redor dos feixes vasculares, nos tecidos vasculares e nos botões apicais.	
<i>K. ceratophylla</i>	Espécie perene, suculenta e glabra.	Ausentes.	Lai <i>et al.</i> , 2010.
<i>K. laciniata</i>	Erva perene ou bianual, que cresce de 30 cm a 1,5 m de altura. As folhas são ovais, opostas, suculentas, simples, com pequenos pecíolos, brilhantes, e de cor verde a verde-escura, com margem de dentada a crenada e caules cilíndricos.	Idioblastos antociânicos estão presentes em folhas e caules. A epiderme é unisseriada, a parede periclinal externa das células é convexa e coberta por cutícula. As folhas são anfiestomáticas, o mesofilo é homogêneo, com células irregulares, de formato esférico-elipsoidal. Idioblastos fenólicos estão presentes no mesofilo, próximos à epiderme, nos feixes vasculares e em hidatódios. As folhas	Brzezinka <i>et al.</i> , 2015; Cruz <i>et al.</i> , 2012; Fernandes <i>et al.</i> , 2016.

		demonstram presença de traços adaptativos que permitem a sobrevivência em condições de seca.	
<i>K. laxiflora</i>	Espécie perene, com folhas multicoloridas, crenadas, verdes em condições amenas e rosa ou roxa sob o sol. Os botões florais são praticamente transparentes, porém quando abrem, tornam-se de cor alaranjada.	Ausentes.	Akulova-Barlow, 2009.
<i>K. marmorata</i>	As folhas são largas, ovais, de cor azul-esverdeada, com manchas marrom-arroxeadas, que ficam evidentes no verão e sob alta incidência solar, e desaparecem no inverno. São dispostas em pares opostos, com altura de 30 cm.	Ausentes.	Akulova-Barlow, 2009; Smith <i>et al.</i> , 2019.
<i>K. orgyalis</i>	Arbusto ramificado de crescimento lento que pode atingir de 1 a 2 m de altura. As folhas têm formato de colher, cor	Ausentes.	Akulova-Barlow, 2009.

	<p>cinza ou bronze na face abaxial, com tricomas na face adaxial. Flores de cor amarelo claro surgem no fim do inverno ou no início da primavera, em forma de agregados terminais.</p>		
<p><i>K. pinnata</i></p>	<p>Planta ereta, suculenta, perene e glabra, cresce até 1,5 m em altura, com reprodução por sementes e bulbos foliares. As folhas são verde-escuras, grandes (12-18 cm de comprimento e 6-8 cm de largura), simples, opostas, ovais ou elípticas, com margem serrada-crenada e bulbos, ápice obtuso, base assimétrica e pecíolos longos. As flores são pendentes, em formato de sinos e de cor escura. O caule é oco, obtuso e tetra-angulado. Os frutos cercam o cálice e a corola. As sementes são pequenas, de formato oblongo-elipsoide, raramente estriadas.</p>	<p>As folhas apresentam nervura central com formato côncavo-convexo. A camada epidérmica é delgada, com células pequenas na face adaxial e menos distintas na face abaxial, evidenciando estômatos anisocíticos. O mesofilo é homogêneo. O feixe vascular único é colateral. Cristais prismáticos de oxalato de cálcio estão presentes no parênquima fundamental do pecíolo. Em análise do pó, fragmentos de feixe vascular, epiderme, floema e xilema foram observados. Idioblastos antociânicos estão presentes no caule, pecíolo e folha.</p>	<p>Bhatti <i>et al.</i>, 2012; Bhavsar <i>et al.</i>, 2018; Cruz <i>et al.</i>, 2012; Fernandes <i>et al.</i>, 2016; Majaz <i>et al.</i>, 2011a,b; Quintero <i>et al.</i>, 2021; Zawirska-Wojtasiak <i>et al.</i>, 2019.</p>

<i>K. pumila</i>	Arbusto de 30 cm de altura, com folhas obovadas, opostas, margem dentada-serrada, medindo 2,8 cm de comprimento, 1,7 cm de largura e 2,5 mm de espessura.	Apresenta coloração marrom-avermelhada ou roxa ao longo das margens sob exposição solar, devido a presença de antocianinas na epiderme celular e no mesofilo. As células epidérmicas são isodiamétrico-poligonais ou levemente oblongas, mais numerosas na face abaxial. As paredes anticlinais são ondeadas ou retas, convexas, espessas devido a presença de cera. A cutícula é levemente ondulada, elevada ou com estrias, com estruturas cerosas esparsas, brancas ou cinzas, de formato e tamanho irregulares. As folhas são anfiestomáticas, com estômatos anisocíticos. Os feixes vasculares são colaterais e fechados. As células parenquimáticas do floema e do xilema, as células dos tecidos subepidérmicos, do mesofilo e do clorênquima apresentam taninos.	Chernetsky; Weryszko-Chmielewska, 2008.
------------------	---	--	---

<i>K. rhombopilosa</i>	Planta pequena (menos de 10 cm de altura), floresce na primavera, com folhas triangulares, de margem sinuosa e flores de cor verde-amarelada com linhas vermelhas.	Ausentes.	Akulova-Barlow, 2009.
<i>K. synsepala</i>	Uma das espécies menos usuais do gênero. Produz hastes de propagação laterais. As folhas são arranjadas em rosetas, são espessas, suculentas, suaves, de cor verde-brilhante e com manchas vermelho-arroxeadas ao longo das margens. É dormente no inverno. As flores são pequenas, de cor rosa, tubulares, numerosas e contém tricomas.	Ausentes.	Akulova-Barlow, 2009.
<i>K. tetraphylla</i>	As folhas são dispostas em rosetas, quando jovens têm cor verde; maduras têm cor verde-acinzentada; e, sob exposição solar, tornam-se vermelhas. A inflorescência é terminal, ereta, com	Ausentes.	Akulova-Barlow, 2009.

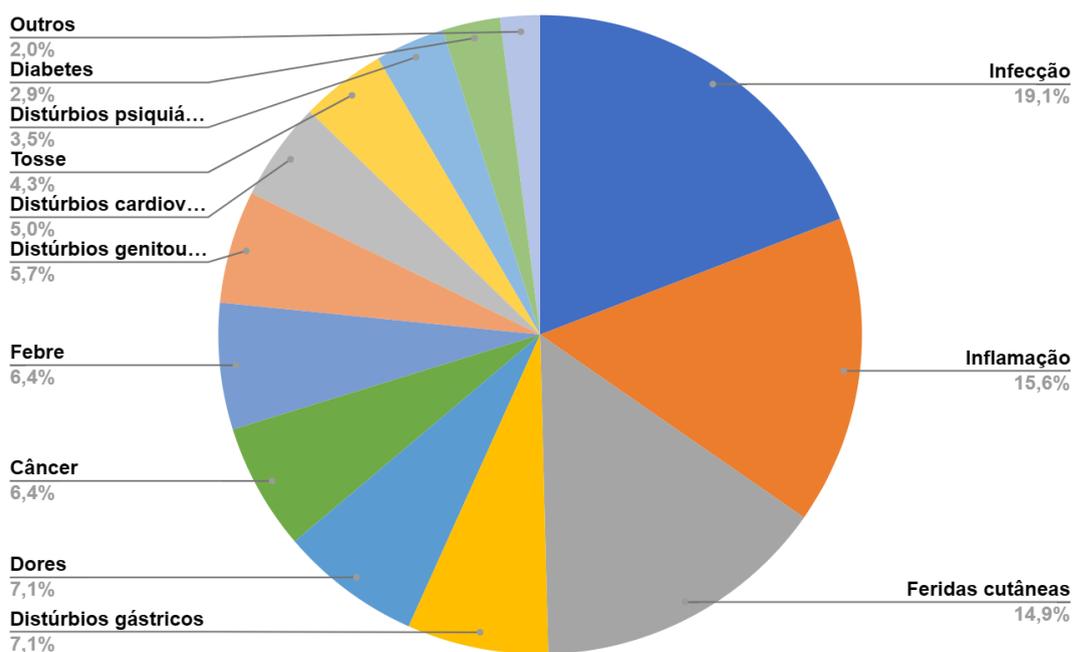
	panículos verdes, densamente agrupados, cerosos, estreitos e com formato de urna.		
<i>K. tomentosa</i>	As folhas são acinzentadas para reflexão dos raios solares e diminuição do superaquecimento, com cerca de 30 cm de altura.	Os tricomas densos crescem em trios e desempenham uma função vital na seca, reduzindo a transpiração na superfície foliar.	Akulova-Barlow, 2009.
<i>K. × houghtonii</i>	Erva perene e ereta; monocárpica; que pode crescer até 1,5 m em altura. As folhas são opostas ou verticiladas, pecioladas, com lâmina foliar simples, com formato triangular a lanceolado e margem serrada. A espécie forma inflorescências corimbiformes com mais de 100 flores pendentes, tetra ou pentâmeras, de cor vermelho-escura.	Ausentes.	Herrando-Moraira <i>et al.</i> , 2020.

Fonte: A autora

1.4 USOS POPULARES DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Kalanchoe*

Algumas espécies do gênero *Kalanchoe* têm uma longa história de uso terapêutico como "folha milagrosa" por causa de suas notáveis propriedades curativas e uso tradicional no tratamento de várias doenças e distúrbios de saúde, principalmente para tratar feridas cutâneas, infecções e inflamações (Figura 3). Até o momento, apenas 21 espécies do gênero *Kalanchoe* foram relatadas quanto aos seus usos populares (Quadro 2). As espécies mais citadas foram: *Kalanchoe crenata*, *Kalanchoe daigremontiana*, *Kalanchoe laciniata* e *Kalanchoe pinnata*. Por outro lado, não há relato na literatura científica que descreve a quantidade de planta ou a dosagem para o uso terapêutico.

Figura 3 – Usos populares de espécies do gênero *Kalanchoe*



Fonte: A autora

Todas as partes de algumas espécies de *Kalanchoe* são utilizadas para fins medicinais, porém o suco (extrato aquoso, produzido por maceração) é citado como a principal forma de preparo. O conhecimento etnomedicinal das espécies de *Kalanchoe* contribui como base para a investigação científica. Esses dados, e na maioria dos casos a falta deles, reforçam a importância de investigações adicionais sobre a química e a bioatividade deste gênero.

Quadro 2 – Usos tradicionais de espécies do gênero *Kalanchoe*

Espécie	Uso popular	Forma de uso e parte da planta	Referências
<i>K. ceratophylla</i>	Analgésico, antitérmico, anti-inflamatório e para o tratamento de lesões.	Administração interna ou externa do extrato bruto ou suco da planta.	Kołodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2016; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Lai <i>et al.</i> , 2010; 2011.
<i>K. crenata</i>	Antidiabético, vermífugo, anti-inflamatório, antimicrobiano, antitussígeno e antisséptico. Tratamento de feridas, abscessos, dor abdominal, asma, dor de cabeça, convulsão, varíola, úlcera péptica, infecções do trato respiratório superior, otite, palpitações, câncer (ou estados de doença com sintomas relacionados ao câncer), diabetes, áreas inchadas por entorse muscular ou mialgias e para curar feridas do	Administração interna do extrato bruto, suco da planta, suco de folhas ou mastigando as folhas. Administração externa do extrato bruto, suco da planta, macerado de folhas e adição em creme, bem como uso das raízes.	Akulova-Barlow, 2009; Asiedu-Gyekye <i>et al.</i> , 2014, 2022; Awortwe <i>et al.</i> , 2015; García-Perez <i>et al.</i> , 2020; Kamgang <i>et al.</i> , 2012; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Kołodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2016; Kuete <i>et al.</i> , 2017; Mutie <i>et al.</i> , 2023; Ngezahayo <i>et al.</i> , 2015; Odukoya; Mmutlane; Ndinteh, 2022; Raadts 1977.

	cordão umbilical em recém-nascidos.		
<i>K. daigremontiana</i>	Anti-inflamatório, antitussígeno, antidiabético, antimicrobiano, antitérmico, antisséptico, carminativo e cardioativo, para tratar lesões e feridas na pele, estancar sangramentos, tratar infecções, reumatismo, dor de ouvido, queimaduras, artrite, distúrbios gástricos e menstruais, disfunção cardiovascular, agitação psíquica, inquietação e ansiedade, alguns tipos de câncer e como quimiopreventivo.	Administração interna ou externa do extrato bruto, suco da planta e uso das raízes.	Akentieva <i>et al.</i> , 2021; Chernetsky <i>et al.</i> , 2018; Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2020; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Mawla <i>et al.</i> , 2012; Molina <i>et al.</i> , 2019; Moniuszko-Szajwaj <i>et al.</i> , 2016; Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020; Zawirska-Wojtasiak <i>et al.</i> , 2019.
<i>K. delagoensis</i>	Antitérmico, antitussígeno, vermífugo e para o tratamento de feridas, epilepsia, doenças neoplásicas, abscessos, contusões, pneumonia, dor de estômago.	Administração interna ou externa do extrato bruto, suco da planta e uso das raízes.	Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2020; Hsieh <i>et al.</i> , 2012; Huang <i>et al.</i> , 2013; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Kołodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2016; Schmidt <i>et al.</i> , 2009.

<i>K. densiflora</i>	Para o tratamento de feridas, problemas de pele e cordão-umbilical, reumatismo, hemorroida, problemas oculares, dores musculares, desconfortos no estômago ou fígado, problemas cardíacos, edema, envenenamento e abortivo.	Administração interna ou externa do extrato bruto, suco da planta e uso das raízes.	Getachew <i>et al.</i> , 2022; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Mutie <i>et al.</i> , 2023; Raadts, 1977.
<i>K. flammea</i>	Antitérmico, anti-inflamatório, para o tratamento de feridas e câncer.	Ausentes.	Arias-González <i>et al.</i> , 2018.
<i>K. fedtschenkoi</i>	Analgésico, antimicrobiano e anticâncer.	Administração interna ou externa. Uso de folhas e raízes.	Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2020; Richwagen <i>et al.</i> , 2019.
<i>K. gastonis-bonnierii</i>	Tratamento de infecções gênito-urinárias e vaginais e como contraceptivo vaginal.	Ausentes.	Palumbo <i>et al.</i> , 2019.
<i>K. germanae</i>	Tratamento de cistos sinoviais.	Administração interna ou externa do extrato bruto ou suco da planta.	Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017.

<i>K. glaucescens</i>	Antitussígeno e antireumático.	Administração interna ou externa do extrato bruto ou suco da planta.	Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Mutie <i>et al.</i> , 2023.
<i>K. integra</i>	Anti-hipertensivo.	Ausentes.	Frimpong-Manso <i>et al.</i> , 2015.
<i>K. laciniata</i>	Anti-inflamatório, antidiabético, anti diarreico, antitérmico, adstringente e antisséptico. Para tratar feridas, dor de cabeça, desconforto cardíaco, distúrbios gástricos, litíase, tosse, picadas de cobra, erisipela, furúnculos e câncer de próstata.	Administração interna do extrato bruto, suco da planta, suco de folhas ou mastigando as folhas. Administração externa do extrato bruto, suco da planta, macerado de folhas e adição em creme.	Akulova-Barlow, 2009; Costa <i>et al.</i> , 2015; Cruz <i>et al.</i> , 2011, 2012; de Araújo <i>et al.</i> , 2018; Fernandes <i>et al.</i> , 2016; Fonseca <i>et al.</i> , 2018; Haile <i>et al.</i> , 2022; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Manan <i>et al.</i> , 2015; Sharif <i>et al.</i> , 2017; Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020.
<i>K. lanceolata</i>	Antidiarreico, anti reumático, para tratamento de hemorroida, espleno e hepatomegalias e dores.	Administração interna ou externa do extrato bruto ou suco da planta.	Getachew <i>et al.</i> , 2022; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Mutie <i>et al.</i> , 2023; Raadts, 1977.
<i>K. marmorata</i>	Antidiarreico, antitussígeno, antitérmico, para o tratamento de feridas, furúnculos, contusões, doença periodontal, lábios	Administração interna ou externa do extrato bruto ou suco da planta.	Bogale <i>et al.</i> , 2023; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Mutie <i>et al.</i> , 2023; Singab <i>et al.</i> , 2011; Tahir <i>et al.</i> , 2023.

	rachados, artrite, úlceras gástricas, infecções de ouvido e olhos, resfriado comum, cólera, problemas hepáticos, rigidez muscular, doenças urinárias e dores de cabeça.		
<i>K. mortgagei</i>	Antimicrobiano, vermífugo, para tratamento de distúrbios digestivos e doenças neoplásicas (via oral e tópica).	Administração interna ou externa. Uso de folhas e raízes.	Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2020; Richwagen <i>et al.</i> , 2019.
<i>K. obtusa</i>	Doenças infantis e como pesticida.	Uso da planta toda.	Mutie <i>et al.</i> , 2023
<i>K. petitiiana</i>	Tratamento de epilepsia, alergias, infecção bacteriana ocular, parasitas intestinais, gonorreia, câncer de pulmão e de pele, sob fraturas ósseas, feridas cutâneas, dor de dente, disenteria, problemas hepáticos, dor de estômago, gastrite e úlcera péptica, inchaço linfático,	Administração interna ou externa do extrato bruto ou suco da planta.	Abebe, 2016; Agize <i>et al.</i> , 2022; Kołodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Mekonnen; Mohammed; Tefera, 2022; Tadesse; Zeleke; Dagnew, 2022.

	problemas nos pés (fungos em unhas, calos, pé de atleta, verrugas plantares etc.).		
<i>K. pinnata</i>	Antipirético, antibacteriano, antisséptico, antirreumático, antimalárico, anti-inflamatório, antiviral, anticâncer, anti-hipertensivo, antidiabético e antipsicótico. Para o tratamento de feridas, queimaduras, disfunções cardiovasculares, distúrbios digestivos e menstruais, infecções cutâneas, respiratórias e geniturinárias, dores de ouvido, cabeça e dente, picadas de insetos, cobras e escorpiões, contusões musculares, cólera, leishmaniose, lepra e litíase. Bioestimulador durante o transplante de pele. Profilaxia do parto prematuro e	Administração interna do extrato bruto, suco da planta toda ou das folhas, infusão ou mastigar as folhas. Administração externa do extrato bruto, suco da planta, macerado de folhas e adição em creme, bem como uso das raízes.	Ahmed; Hughes, 2022; Ahmed <i>et al.</i> , 2013; Akulova-Barlow, 2009; Anadozie <i>et al.</i> , 2018; Bachmann <i>et al.</i> , 2017; Barbhuiya <i>et al.</i> , 2022; Bhandari <i>et al.</i> , 2021; Bhatti <i>et al.</i> , 2012; Bhavsar; Chandel, 2019; Bopda <i>et al.</i> , 2014; Clemen-Pascual <i>et al.</i> , 2022; Coutinho <i>et al.</i> , 2020; Cruz <i>et al.</i> , 2011, 2012a,b; Cryer <i>et al.</i> , 2017; de Araújo <i>et al.</i> , 2018; El Abdellaoui <i>et al.</i> , 2010; Fernandes <i>et al.</i> , 2016, 2021; Ferreira <i>et al.</i> , 2014; Furer <i>et al.</i> , 2016; Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2020; Gomes <i>et al.</i> , 2010; Kadam <i>et al.</i> , 2020; Kolodziejczyk-Czepas; Stochmal, 2017; Kolodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2016; Kukuia <i>et al.</i> , 2015; Leal-Costa

	auxiliar na recuperação pós-parto; diabetes, resfriado, fraturas ósseas, vírus Chikungunya e contra sintomas de COVID-19.		<i>et al.</i> , 2010; Lebedeva <i>et al.</i> , 2017; Majaz <i>et al.</i> , 2011a, b; Mawla <i>et al.</i> , 2012; Mora-Pérez; Hernández-Medel, 2016; Mourão <i>et al.</i> , 1999; Muzitano <i>et al.</i> , 2011; Nascimento <i>et al.</i> , 2013, 2015, 2018; Oufir <i>et al.</i> , 2015; Patil <i>et al.</i> , 2013; Paul <i>et al.</i> , 2023; Santos <i>et al.</i> , 2021; Yuliani, Dewijanti, Banjarnahor, 2016; Zakharchenko <i>et al.</i> , 2016a,b, 2017.
<i>K. prittwitzii</i>	Rigidez nas juntas e reumatismo.	Uso das folhas.	Mutie <i>et al.</i> , 2023.
<i>K. serrata</i>	Anti-inflamatório, antiviral, antitérmico e para o tratamento de dor.	Uso das folhas e raízes.	Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2020
<i>K. x houghtonii</i>	Antirreumático, antitussígeno, antitérmico, anti-inflamatório e para tratar infecções.	Ausentes.	Moniuszko-Szajwaj <i>et al.</i> , 2016

Fonte: A autora

1.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A literatura científica apresenta 124 metabólitos químicos identificados e isolados das espécies do gênero *Kalanchoe*, como discriminados nos Quadros 3 a 5 e Figuras 4 a 6.

Glicosídeos cardioativos (como a classe dos bufadienolídeos) foram identificados em diferentes extratos (aquoso, diclorometano, etanólico, metanólico e acetato de etila), de folhas, raízes e flores das espécies *K. ceratophylla*, *K. daigremontiana*, *K. delagoensis*, *K. hybrida*, *K. lanceolata* e *K. pinnata* (compostos **1-39**, Quadro 3 e Figura 4).

Quadro 3 – Glicosídeos cardioativos de espécies de *Kalanchoe*.

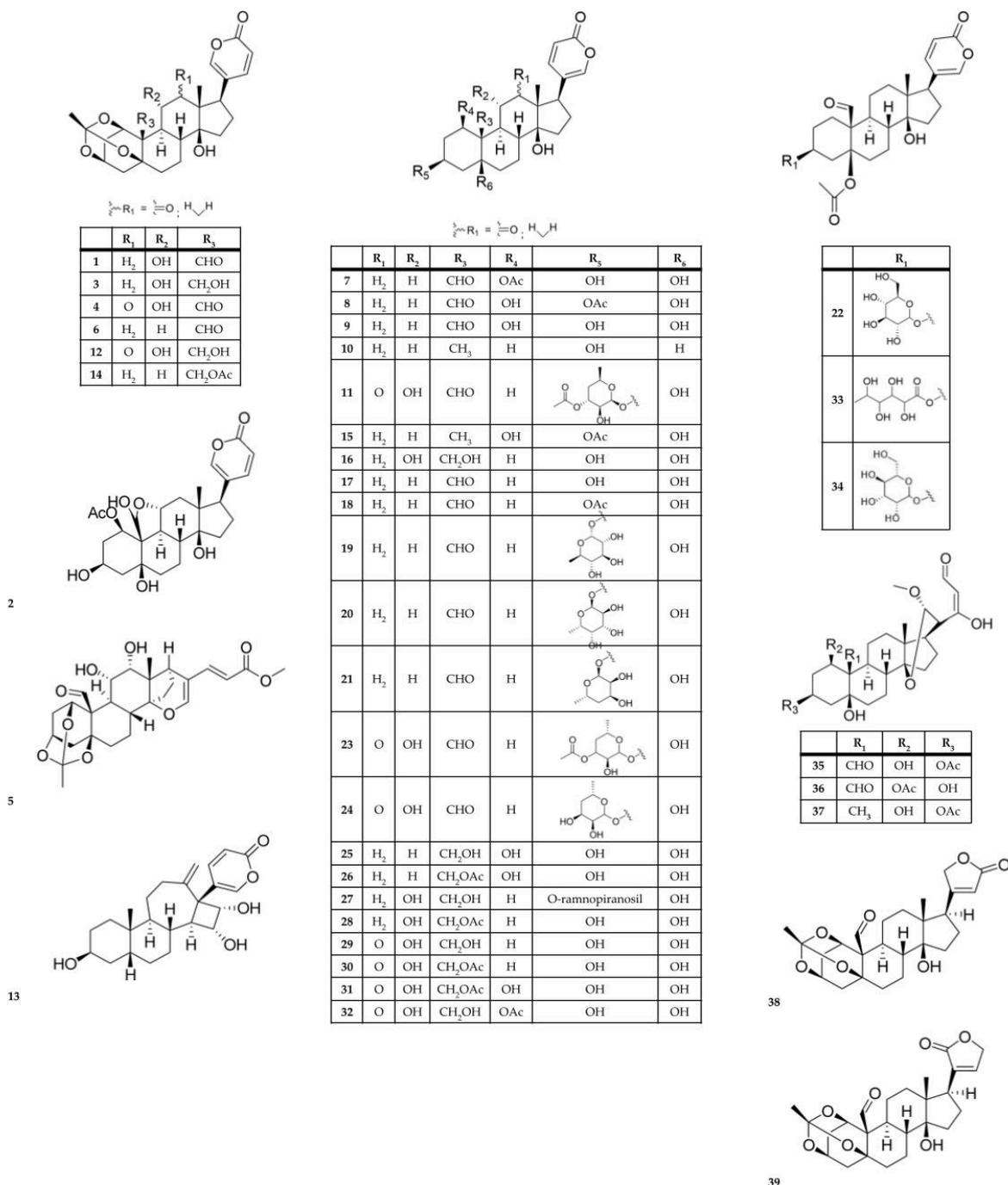
Extratos e/ou partes da planta	Nome dos compostos	Espécies	Referências
Extrato diclorometano; extrato metanólico de partes aéreas; flores.	briofilina A (briotoxina C) (1)	<i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Capon <i>et al.</i> , 1986; Huang <i>et al.</i> , 2013a; Mckenzie <i>et al.</i> , 1987; Oufir <i>et al.</i> , 2015; Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020a; Supratman <i>et al.</i> , 2000; Wu <i>et al.</i> , 2006; Yamagishi <i>et al.</i> , 1989.
Extrato aquoso de raízes ou partes aéreas; extrato metanólico de partes aéreas.	briofilina B (2)	<i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Kołodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018; Mckenzie <i>et al.</i> , 1987; Moniuszko-Szajwaj <i>et al.</i> , 2016; Wu <i>et al.</i> , 2006; Yamagishi <i>et al.</i> , 1989.
Extrato diclorometano; extrato metanólico de folhas; fração diclorometano de extrato metanólico.	briofilina C (3) daigremontianina (4) metil-daigremonato (5)	<i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020a; Supratman <i>et al.</i> , 2000; Wagner; Fischer; Lotter, 1985.
Extrato diclorometano; extrato aquoso de raízes.	bersaldegenina-1,3,5-ortoacetato (6)	<i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Huang <i>et al.</i> , 2013a; Kołodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018; Moniuszko-Szajwaj <i>et al.</i> , 2016; Oufir <i>et al.</i>

			<i>al.</i> , 2015; Stefanowicz- Hajduk <i>et al.</i> , 2020a.
Extrato aquoso de raízes; extrato etanólico e diclorometano de folhas.	bersaldegenina 1-acetato (7)	<i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Huang <i>et al.</i> , 2013a; Kolodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018; Moniuszko- Szajwaj <i>et al.</i> , 2016; Oufir <i>et al.</i> , 2015; Stefanowicz- Hajduk <i>et al.</i> , 2020a.
Extrato etanólico e diclorometano de folhas.	bersaldegenina 3-acetato (8)	<i>K. pinnata</i> .	Oufir <i>et al.</i> , 2015; Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020a; Yamagishi <i>et al.</i> , 1989.
Extrato aquoso de raízes.	bersaldegenina (9)	<i>K. daigremontiana</i> .	Kolodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018; Moniuszko- Szajwaj <i>et al.</i> , 2016.
Extrato etanólico e diclorometano de folhas.	bufalina (10)	<i>K. pinnata</i> .	Oufir <i>et al.</i> , 2015.
Flores.	briotoxina A (11)	<i>K. delagoensis</i> .	Mckenzie <i>et al.</i> , 1987.
Extrato aquoso de raízes; flores.	briotoxina B (12)	<i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Capon <i>et al.</i> , 1986; Kolodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018; Mckenzie <i>et al.</i> , 1987; Moniuszko- Szajwaj <i>et al.</i> , 2016.

Extrato acuoso de folhas.	bufadienolídeo A (13) bufadienolídeo B (14)	<i>K. daigremontiana</i> .	Ürményi <i>et al.</i> , 2016.
Extrato acuoso de raízes.	daigredorigenina 3-acetato (15) 11 α ,19-dihidroxitelocinobufagin a (16)	<i>K. daigremontiana</i> .	Kolodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018; Moniuszko- Szajwaj <i>et al.</i> , 2016.
Extrato metanólico de partes aéreas.	helebrigenina (17)	<i>K. ceratophylla</i> .	Wu <i>et al.</i> , 2006.
Extrato metanólico de partes aéreas.	helebrigenina 3-acetato (18)	<i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. daigremontiana</i> .	Kolodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018; Wu <i>et al.</i> , 2006.
Extrato metanólico de partes aéreas.	kalanchosideo A (19) kalanchosideo B (20) kalanchosideo C (21)	<i>K. ceratophylla</i> .	Wu <i>et al.</i> , 2006.
Extrato metanólico de partes aéreas.	tesiusideo (22)	<i>K. ceratophylla</i> .	Wu <i>et al.</i> , 2006.
Extrato etanólico.	kalantubosideo A (23) kalantubosideo B (24)	<i>K. delagoensis</i> .	Huang <i>et al.</i> , 2013a.
Extrato acuoso de raízes.	kalandaigremosideo A (25)	<i>K. daigremontiana</i> .	Moniuszko- Szajwaj <i>et al.</i> , 2016.

	kalandaigremosideo B (26) kalandaigremosideo C (27) kalandaigremosideo D (28) kalandaigremosideo E (29) kalandaigremosideo F (30) kalandaigremosideo G (31) kalandaigremosideo H (32)		
Extrato acetato de etila da planta fresca.	lanceotoxina A (33) lanceotoxina B (34)	<i>K. lanceolata.</i>	Anderson <i>et al.</i> , 1984.
Extrato metanólico.	kalanhibrina A (35) kalanhibrina B (36) kalanhibrina C (37)	<i>K. hybrida.</i>	Kuo <i>et al.</i> , 2008.
Extrato etanólico da planta.	kalantubolideo A (38) kalantubolideo B (39)	<i>K. delagoensis.</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013a.

Fonte: A autora

Figura 4 – Estruturas químicas de glicosídeos cardioativos de espécies de *Kalanchoe*

Fonte: A autora

Flavonoides (como os derivados de quercetina e campeferol) são os compostos mais comumente identificados em extratos (aquoso, etanólico, hidroalcoólico, metanólico, acetato de etila) de caules, folhas e flores das espécies *K. blossfeldiana*, *K. ceratophylla*; *K. daigremontiana*, *K. delagoensis*, *K. fedtschenkoi*, *K. laciniata*, *K. longiflora*, *K. mortgagei*, *K. pinnata* (compostos **40-78**, Quadro 4, Figura 5).

Quadro 4 – Flavonoides de espécies de *Kalanchoe*

Extratos e/ou partes da planta	Nome dos compostos	Espécies	Referências
Flores; extrato etanólico de folhas.	quercetina (40)	<i>K. blossfeldiana</i> ; <i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i> <i>K. fedtschenkoi</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. mortagei</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Chibli <i>et al.</i> , 2014; Coutinho <i>et al.</i> , 2012; Elansary <i>et al.</i> , 2018; Elizondo-Luévano <i>et al.</i> , 2021; Hegazy <i>et al.</i> , 2021; Huang <i>et al.</i> , 2013; Liu <i>et al.</i> , 1989; Nielsen <i>et al.</i> , 2005; Richwagen <i>et al.</i> , 2019.
Extrato de flores.	isoquercetina (41)	<i>K. blossfeldiana</i> ; <i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. pinnata</i> .	CoutinhO <i>et al.</i> , 2012; Elansary <i>et al.</i> , 2018; Nielsen <i>et al.</i> , 2005; Sarkar <i>et al.</i> , 2015; Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020b.
Extrato de flores.	miquelianina (42)	<i>K. pinnata</i> .	Coutinho <i>et al.</i> , 2012.
Extrato aquoso e metanólico de folhas.	quercitrina (43)	<i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. pinnata</i> .	Coutinho <i>et al.</i> , 2012; Cruz <i>et al.</i> , 2012; Elansary <i>et al.</i> , 2018; Fürer <i>et al.</i> , 2013; Hegazy <i>et al.</i> , 2021;

			Liu <i>et al.</i> , 1989; Muzitano <i>et al.</i> , 2006, 2011.
Flores; extrato aquoso de folhas.	quercetina-3-O- β -D-xilopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranosideo (44)	<i>K. blossfeldiana</i> ; <i>K. daigremontiana</i> .	Nielsen <i>et al.</i> , 2005; Ürményi <i>et al.</i> , 2016.
Extrato aquoso e metanólico de folhas; extrato de flores.	quercetina 3-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranosideo (45)	<i>K. pinnata</i> .	Coutinho <i>et al.</i> , 2012; Ferreira <i>et al.</i> , 2014; Furer <i>et al.</i> , 2013; Muzitano <i>et al.</i> , 2006, 2011; Nascimento <i>et al.</i> , 2013.
Extrato metanólico de folhas.	quercetina 3-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranosideo-7-O- β -D-glucopiranosideo (46)	<i>K. pinnata</i> .	Furer <i>et al.</i> , 2013.
Extrato etanólico de folhas.	rutina (47)	<i>K. pinnata</i> .	Chibli <i>et al.</i> , 2014.
Extrato metanólico e hidroetanólico de folhas.	campeferol (48)	<i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. fedtschenkoi</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. pinnata</i> .	de Araújo <i>et al.</i> , 2018, 2019; Elansary <i>et al.</i> , 2018; Furer <i>et al.</i> , 2013; Fernandes <i>et al.</i> , 2016; Hegazy <i>et al.</i> , 2021; Liu <i>et al.</i> , 1989; Richwagen <i>et al.</i> , 2019.

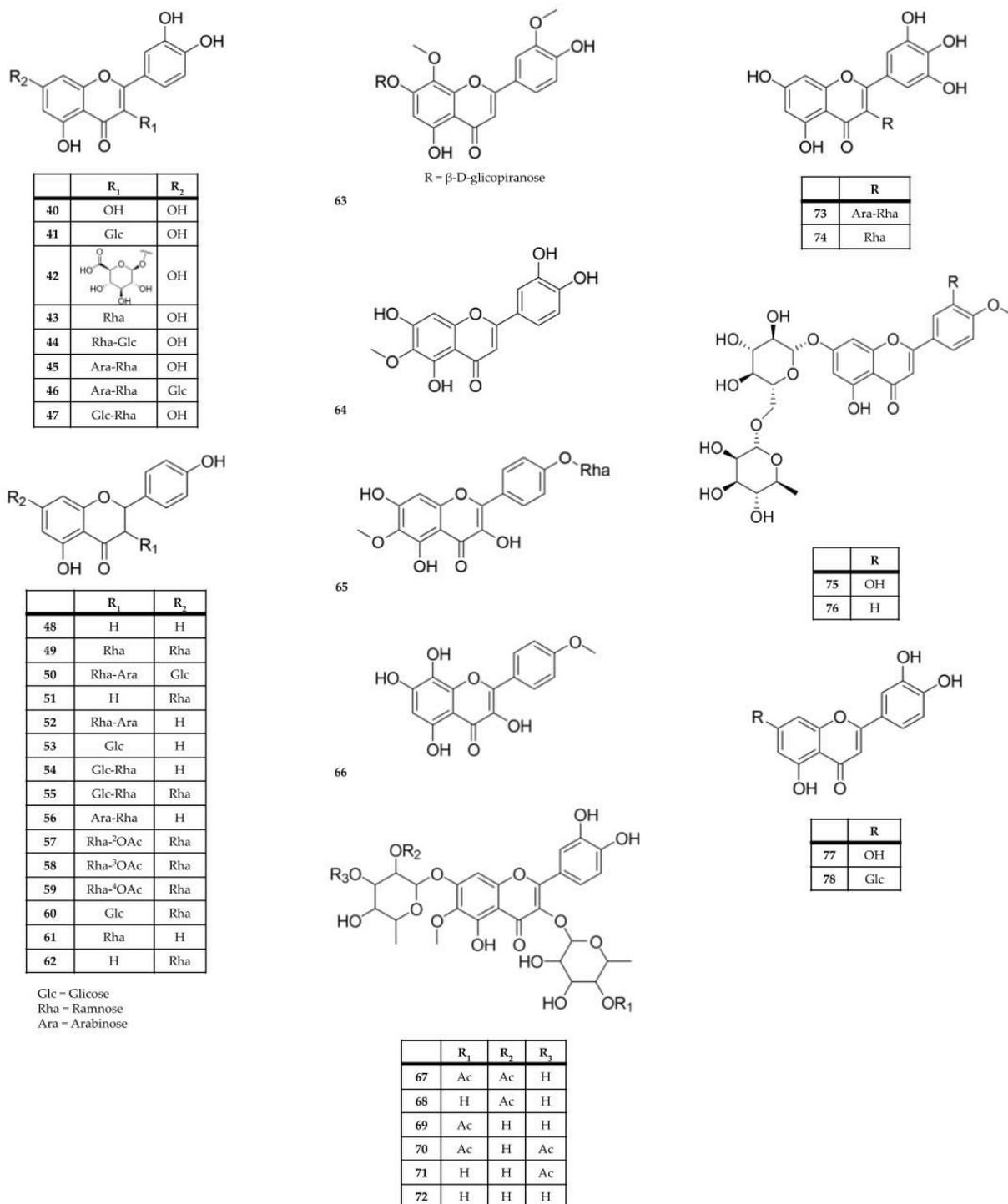
Extrato aquoso e etanólico.	kaempferitrina (49) daigremontriosídeo (50)	<i>K. daigremontiana.</i>	Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020b.
Folhas.	campeferol 7-O-ramnosídeo (51)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>K. longiflora.</i>	Elansary <i>et al.</i> , 2018; Hegazy <i>et al.</i> , 2021.
Extrato metanólico de folhas.	campeferol 3-O-xilosil-ramnosídeo (52)	<i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. pinnata.</i>	Fürer <i>et al.</i> , 2013; Stefanowicz-Hajduk <i>et al.</i> , 2020b; Ürményi <i>et al.</i> , 2016.
Folhas.	trifolina (53)	<i>K. delagoensis.</i>	Elansary <i>et al.</i> , 2018.
Folhas.	nicotiflorina (54)	<i>K. longiflora</i> ; <i>K. pinnata.</i>	El Abdellaoui <i>et al.</i> , 2010; Hegazy <i>et al.</i> , 2021.
Folhas.	robinina (55)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>K. longiflora.</i>	Elansary <i>et al.</i> , 2018; Hegazy <i>et al.</i> , 2021.
Extrato aquoso e metanólico de folhas.	kapinnatosídeo (56)	<i>K. pinnata.</i>	Fürer <i>et al.</i> , 2013; Muzitano <i>et al.</i> , 2006; Nascimento <i>et al.</i> , 2013.

<p>Extrato acetato de etila da planta.</p>	<p>campeferol 3-O-α-L-(2-O-acetyl)rhamnopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside (57) campeferol 3-O-α-L-(3-O-acetyl)rhamnopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside (58) campeferol 3-O-α-L-(4-O-acetyl)rhamnopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside (59) campeferol 3-O-α-D-glucopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside (60) afzelina (61) α-ramnoisorobina (62)</p>	<p><i>K. pinnata.</i></p>	<p>Tatsimo <i>et al.</i>, 2012.</p>
<p>Extrato aquoso de folhas.</p>	<p>4',5-dihydroxy-3',8-dimethoxyflavone 7-O-β-D-glucopyranoside (63)</p>	<p><i>K. pinnata.</i></p>	<p>Muzitano <i>et al.</i>, 2006.</p>

Partes aéreas; extrato metanólico de caules.	eupafolina (64)	<i>K. ceratophylla.</i>	Lai <i>et al.</i> , 2011; Liu <i>et al.</i> , 1989.
Partes aéreas.	eupafolin 4'-O-rhamnoside (65)	<i>K. ceratophylla.</i>	Liu <i>et al.</i> , 1989.
Extrato etanólico da planta.	4'-methoxyherbacetin (66)	<i>K. delagoensis.</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013.
Caules e folhas.	kalambroside A (67) kalambroside B (68) kalambroside C (69) patuletina 3-O-(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosil)-7-O-(3'-O-acetil- α -L-ramnopiranosideo) (70) patuletina 3-O- α -L-ramnopiranosil-7-O-(3'-O-acetil- α -L-ramnopiranosideo) (71)	<i>K. laciniata.</i>	Costa <i>et al.</i> , 1994.

Caules e folhas; extrato hidroetanólico de folhas.	patuletina 3-O- α -L-ramnopiranosil-7-O- α -L-r amnopiranosídeo (72)	<i>K. laciniata.</i>	Costa <i>et al.</i> , 1994, 2015; Fernandes <i>et al.</i> , 2016.
Extrato metanólico de folhas.	miricetina 3-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α - L-ramnopiranosídeo (73) miricetrina (74) diosmina (75) acacetina 7-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - D-glicopiranosídeo (76)	<i>K. pinnata.</i>	Fürer <i>et al.</i> , 2013.
Extrato etanólico de folhas.	luteolina (77)	<i>K. ceratophylla;</i> <i>K. pinnata.</i>	Chibli <i>et al.</i> , 2014; Liu <i>et al.</i> , 1989.
Extrato etanólico de folhas.	luteolina 7-O- β -D-glicosídeo (78)	<i>K. pinnata.</i>	Chibli <i>et al.</i> , 2014.

Fonte: A autora

Figura 5 – Estruturas químicas de flavonoides de espécies de *Kalanchoe*

Fonte: A autora

Recentemente, Garcia-Perez *et al.* (2022) implementaram uma abordagem que abrange técnicas de metabolômica e *machine learning* para investigar espécies *K. daigremontiana*, *K. x houghtonii* e *K. delagoensis* sob condições controladas de cultivo. Ao empregar a metabolômica, 460 compostos fenólicos foram reportados. Adicionalmente, o estudo previu com sucesso o impacto e as interações envolvidas

no crescimento de células vegetais, bem como a biossíntese de várias subfamílias de polifenóis.

Vários outros metabólitos secundários foram isolados de extratos aquosos, etanólicos, hexânicos e metanólico de raízes, folhas e/ou da planta toda de diferentes espécies de *Kalanchoe* (*K. ceratophylla*, *K. daigremontiana*, *K. delagoensis*, *K. fedtschenkoi*, *K. longiflora*, *K. marnieriana*, *K. miniata*, *K. pinnata*, *Kalanchoe spp.*) e descritos na literatura (compostos **79-124**, Quadro 5, Figura 6).

Quadro 5 – Outras classes de compostos identificados em espécies do gênero *Kalanchoe*

Classes	Partes das plantas	Nomes dos compostos	Espécies	Referências
Aurona	Raízes	hovetricosídeo C (79)	<i>K. daigremontiana</i>	Kołodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018.
Cumarina		7-hidroxicumarina (80)	<i>K. ceratophylla</i>	Liu <i>et al.</i> , 1989.
Glicosídeos	Raízes	KPB 100 (81) KPB 200 (82) esquisandrisídeo (83)	<i>K. pinnata</i> <i>K. daigremontiana</i>	Cryer <i>et al.</i> , 2017, Kołodziejczyk-Czepas <i>et al.</i> , 2018.
Lipídio	Planta toda	tauro lipídio C (84)	<i>K. delagoensis</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013 ^a .
Megastigmano	Planta toda	(6S,7R,8R,9S)-6-oxaspiro-7,8-dihidroximegastigmano-4-en-3-ona (tubiflorona) (85)	<i>K. delagoensis</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013 ^a .
Ácidos fenólicos	Folhas	ácido ferúlico (86)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>Kalanchoe sp.</i> <i>K. daigremontiana</i> <i>K. pinnata</i>	Chernetsky <i>et al.</i> , 2018, Elansary <i>et al.</i> , 2018, Bogucka-Kocka <i>et al.</i> , 2018, Gand; Gupta, 1973.

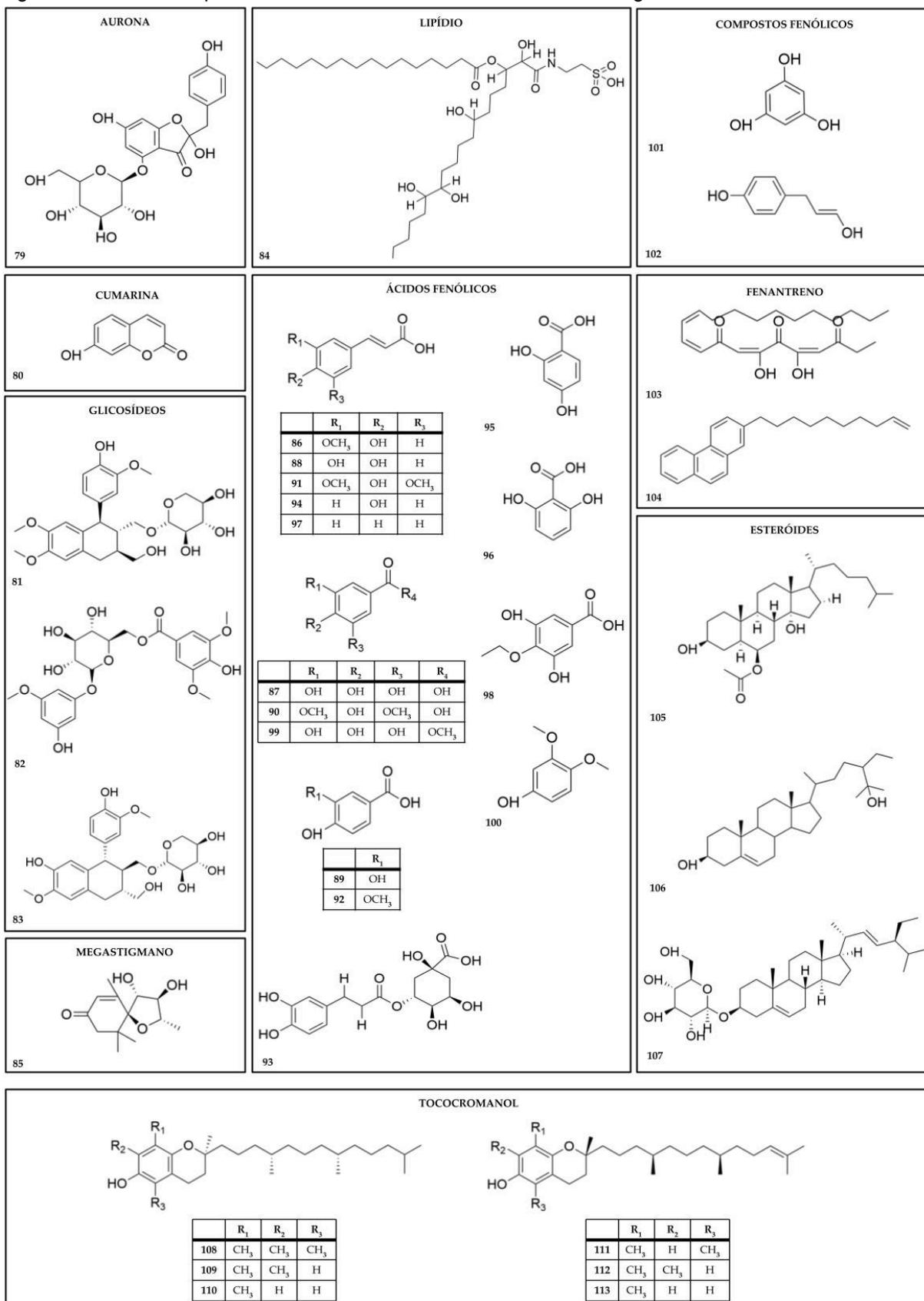
	Planta toda; Folhas	ácido gálico (87)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>Kalanchoe sp.</i> ; <i>K. daigremontiana</i>	Chernetsky et al., 2018, Huang et al., 2013a, Elansary et al., 2018, Bogucka-Kocka et al., 2018.
	Folhas	ácido cafeico (88)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>Kalanchoe sp.</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. daigremontiana</i> <i>K. pinnata</i>	Chernetsky et al., 2018, Elansary et al., 2018, 126, Bogucka-Kocka et al., 2018, Gand; Gupta, 1973.
	Folhas	ácido protocatecuico (89)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>Kalanchoe sp.</i> ; <i>K. daigremontiana</i>	Chernetsky et al., 2018, Elansary et al., 2018, Bogucka-Kocka et al., 2018.
	Planta toda; Folhas	ácido siríngico (90)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>Kalanchoe spp.</i> <i>K. pinnata</i>	Huang et al., 2013a, Elansary et al., 2018, Bogucka-Kocka et al., 2018.
	Folhas	ácido sináptico (91)	<i>Kalanchoe sp.</i>	Bogucka-Kocka et al., 2018

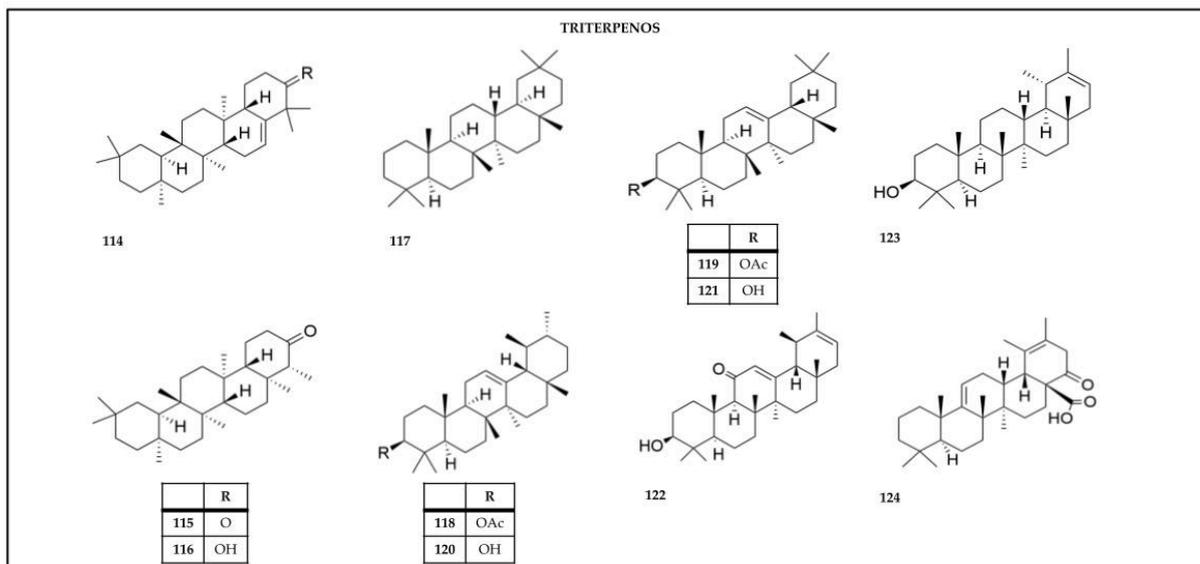
	Planta toda; Folhas	ácido vanílico (92)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>Kalanchoe sp.</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013a, Bogucka-Kocka <i>et al.</i> , 2018, Gaind; Gupta, 1973.
	Folhas	ácido clorogênico (93)	<i>Kalanchoe sp.</i> ; <i>K. longiflora</i>	Bogucka-Kocka <i>et al.</i> , 2018.
	Folhas	ácido p-cumárico (94)	<i>Kalanchoe sp.</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. daigremontiana</i> <i>K. pinnata</i>	Chernetsky <i>et al.</i> , 2018, 126, Bogucka-Kocka <i>et al.</i> , 2018, Gaind; Gupta, 1973.
	Folhas	ácido β -resorcílico (95) ácido γ -resorcílico (96)	<i>Kalanchoe sp.</i>	Bogucka-Kocka <i>et al.</i> , 2018.
	Planta toda	ácido cinâmico (97) ácido 4-O-etil gálico (98) metil galato (99)	<i>K. delagoensis</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013 ^a .
Outros fenólicos	Planta toda	floroglucinol (101) 3,4-dihidroxi-alilbenzeno (102)	<i>K. delagoensis</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013 ^a .
Fenantreno	Folhas	briofolenona (103) 2(9-decenil) fenantreno (104)	<i>K. pinnata</i>	Siddiqui <i>et al.</i> , 1989.

Esteroides	Folhas	briofilol (105) 24-etil-25-hidroxicolesterol (106)	<i>K. pinnata</i>	Siddiqui <i>et al.</i> , 1989.
	Planta toda	estigmasterol-O-D-glicosídeo (107)	<i>K. delagoensis</i>	Huang <i>et al.</i> , 2013 ^a .
Tococromanol	Folhas	α -tocoferol (108) γ -tocoferol (109) δ -tocoferol (110) β -tocomonoenol (111) γ -tocomonoenol (112) δ -tocomonoenol (113)	<i>K. daigremontiana</i>	Kruk <i>et al.</i> , 2011.
Triterpeno	Partes aéreas; Flores	friedelina (114)	<i>K. fedtschenkoi</i> ; <i>K. marnieriana</i> ; <i>K. daigremontiana</i> <i>K. integra</i>	Gaind; Gupta, 1973, Siems <i>et al.</i> , 1995, Van Maarseveen; Jetter, 2009.
		glutinona (115)	<i>K. miniata</i>	Siems <i>et al.</i> , 1995.
		glut-5-en-3- β -ol (glutinol) (116)	<i>K. fedtschenkoi</i> ; <i>K. daigremontiana</i> <i>K. integra</i>	Gaind; Gupta, 1973, Siems <i>et al.</i> , 1995, Sharkar <i>et al.</i> , 2013.
	Folhas	18 α -oleanano (117)	<i>K. pinnata</i>	Siddiqui <i>et al.</i> , 1989.

		α -amirin acetato (118)		
		β -amirin acetato (119)	<i>K. pinnata</i> ; <i>K. miniata</i>	Siddiqui <i>et al.</i> , 1989, Siems <i>et al.</i> , 1995.
		α -amirin (120)	<i>K. pinnata</i> <i>K. daigremontiana</i>	Siddiqui <i>et al.</i> , 1989, Sharkar <i>et al.</i> , 2013.
		β -amirin (121)	<i>K. pinnata</i> ;	Siddiqui <i>et al.</i> , 1989, Van Maarseveen; Jetter, 2009, Sharkar <i>et al.</i> , 2013.
	Folhas; Flores	briofinol (122) Ψ -taraxasterol (123) briofolona (124)	<i>K. daigremontiana</i> <i>K. pinnata</i> <i>K. integra</i>	Gaund; Gupta, 1973, Siddiqui <i>et al.</i> , 1989.

Fonte: A autora

Figura 6 – Estruturas químicas de outros metabólitos secundários no gênero *Kalanchoe*



Fonte: A autora

Até o momento, das 4 espécies mais relatadas como plantas medicinais com uso etnofarmacológico (*K. pinnata*, *K. laciniata*, *K. crenata* e *K. daigremontiana*), apenas 2 tiveram glicosídeos cardíacos identificados em estudos publicados (*K. pinnata* e *K. daigremontiana*). Por outro lado, compostos da classe dos flavonoides foram identificados nas 4 espécies.

Além disso, embora o suco ou extrato bruto (produzido por maceração) seja a forma etnomedicinal mais descrita na literatura, os estudos fitoquímicos são geralmente baseados em extratos orgânicos polares (etanol, metanol) preparados a partir de folhas, caules, raízes, flores, ou da planta inteira. Poucos estudos usando solventes apolares ou aquosos foram identificados. Esta é uma observação importante, pois sabe-se que o conhecimento popular precisa ser confirmado, e a presença dos compostos biológicos em um extrato está relacionada ao solvente e ao procedimento utilizado para sua obtenção.

1.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Na medicina popular, as espécies de *Kalanchoe* são relatadas para uso em diversas condições e doenças. Pesquisas científicas têm explorado extratos de diferentes partes dessas plantas, revelando suas capacidades em termos de atividades citotóxicas, antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, entre outras. A seguir, são detalhadas as descobertas relacionadas a cada tipo de atividade biológica, fornecendo uma visão abrangente do valor medicinal dos extratos de *Kalanchoe*. Destas espécies, 4 foram testadas, porém não são relatadas

na literatura quanto aos usos populares, sendo elas: *K. blossfeldiana*, *K. longiflora*, *K. scapigera* e *K. rhombopilosa*.

1.6.1 Atividade Antioxidante

Kalanchoe daigremontiana revelou atividade antioxidante significativa em frações ricas em bufadienolídeos isoladas de suas raízes, com EC₅₀ de 21,80 µg/mL contra radicais DPPH. Também apresentou efeitos protetores moderados contra estresse oxidativo induzido por peroxinitrito e protegeu níveis de 3-nitrotirosina e grupos tiol (50 µg/mL). Sua ação antioxidante foi eficaz na inibição da geração de hidroperóxidos e TBARS (1–5 e 25–50 µg/mL, respectivamente) e mostrou inibição não competitiva de uma serina proteinase-trombina (1–50 µg/mL) (CI₅₀: 2,79 µg/mL) e plasmina (0,05–50 µg/mL). Estudos de *docking* indicaram que compostos como bersaldegenina 1-acetato (7) e briotoxinas (1, 11-12) têm potencial para regular alostericamente a ativação do plasminogênio (Kołodziejczyk-Czepas *et al.*, 2016; 2017; 2018). Além disso, as nanopartículas de *K. daigremontiana* exibiram propriedades antioxidantes similares a *Silybum marianum*, indicando possível sinergia (Viršile *et al.*, 2022).

Kalanchoe glaucescens destacou-se com a segunda maior atividade antioxidante entre 57 extratos de 18 plantas testadas em um estudo comparativo (Adam *et al.*, 2018). Da mesma maneira, *Kalanchoe laciniata* foi confirmada como uma fonte natural de antioxidantes, com pesquisas que mostraram eficácia consistente nesse sentido (Fonseca *et al.*, 2018, Mayorga *et al.*, 2019).

Kalanchoe pinnata demonstrou potente atividade antioxidante dose-dependente em diferentes extratos. Seu extrato aquoso também protegeu a aorta de ratos e outros órgãos de alterações adversas causadas por intoxicação de CCl₄, inibindo a arginase II e aumentando o status antioxidante. Em comparação com outros extratos (aquoso e éter de petróleo) obtidos das folhas, o extrato etanólico mostrou o maior efeito inibitório radical pelo DPPH, alcançando 49,5 ± 5,6% (2000 µg/mL). O extrato etanólico do caule/casca exibiu atividade antioxidante considerável pelo método DPPH, enquanto o extrato metanólico das folhas inibiu 69,77% dos radicais DPPH (CI₅₀ 37,28 µg/mL) (Anadozie *et al.*, 2018; Bhandari *et al.*, 2021; Bhatti *et al.*, 2012; Bopda *et al.*, 2014; Kenderson; Kagoro; Adalakun, 2021; Nascimento *et al.*, 2013; Quintero *et al.*, 2021).

A concentração de vitamina C no extrato aquoso de duas espécies de *Kalanchoe* (*K. daigremontiana* e *K. pinnata*) foi avaliada e comparada; com resultados mais expressivos para o extrato aquoso de *K. pinnata* (81 mg/100 g) (Zawirska-Wojtasiak *et al.*, 2019).

Kalanchoe scapigera e *K. rhombopilosa* foram as duas espécies mais eficazes em um estudo que avaliou 34 sucos de diferentes espécies de *Kalanchoe*, com atividades antioxidantes de 1981 mg/L e 1911 mg/L, respectivamente (Sazhina *et al.*, 2014).

1.6.2 Atividade Antimicrobiana e Antiparasitária

Kalanchoe blossfeldiana apresentou propriedades antimicrobianas promissoras quando seu extrato aquoso foi combinado com nanopartículas de óxido de zinco, demonstrando forte potencial antibacteriano e antifúngico. O extrato etanólico desta espécie mostrou efeitos antibacterianos superiores em comparação com *K. daigremontiana* e *K. pinnata*, inibindo *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. hirae*. Curiosamente, apesar dessa eficácia, o extrato não continha bufadienolídeos, que geralmente são conhecidos por causar tais efeitos (Aldalbahi *et al.*, 2020; Stefanowicz-Hajduk *et al.*, 2020).

Kalanchoe ceratophylla revelou notáveis propriedades antivirais contra os enterovírus EV71 e CVA16. O extrato de folhas mostrou citotoxicidade mínima, enquanto exibia atividade antiviral dependente da dose, reduzindo os efeitos citopáticos, formação de placas e produção de vírus. Além disso, o extrato foi mais eficaz na inibição desses vírus do que ácido ferúlico, quercetina e campeferol, sendo considerado um potencial agente anti-enteroviral seguro (Wang *et al.*, 2012).

Kalanchoe daigremontiana tem extratos brutos de folhas que demonstraram atividade antiviral e forte ação antibacteriana contra *E. coli* e *S. aureus*. Além disso, o extrato metanólico das folhas apresentou alta atividade antiparasitária contra *E. histolytica* e *T. vaginalis*, destacando seu potencial na medicina tradicional (Elizondo-Luevano *et al.*, 2021; Molina *et al.*, 2019; Urményi *et al.*, 2016).

Kalanchoe laciniata demonstrou atividade antimicrobiana com seus extratos aquoso-metanólico e n-hexano, sendo este último mais sensível à *E. coli*. O extrato hidroetanólico das folhas também mostrou reduzir o crescimento de *Salmonella*, liberando o conteúdo bacteriano (Fonseca *et al.*, 2018; Manan *et al.*, 2015; Mayorga *et al.*, 2019; Sharif *et al.*, 2017).

Kalanchoe pinnata teve extratos de diferentes partes avaliados quanto à atividade antimicrobiana. O extrato metanólico das raízes foi eficaz contra *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, mas não apresentou atividade contra *C. albicans*. O extrato etanólico da casca do caule foi ativo contra várias bactérias e fungos, inibindo *B. cereus*, *E. coli* e outros microrganismos, mas mostrou-se inativo contra *S. typhi* e *C. albicans*. A eficácia oral de *K. pinnata* também se estende à leishmaniose visceral, com redução significativa da carga parasitária hepática e esplênica (Gomes *et al.*, 2010; Kenderson; Kagoro; Adelakun, 2021; Majaz *et al.*, 2011; Torres-Santos *et al.*, 2003).

Kalanchoe longiflora mostrou atividades antitripanossoma, antimalárica e antileishmanial em comparação com outras espécies. O extrato de folhas inibiu *T. brucei* com uma concentração de 17,6 µg/mL, enquanto sua potente ação inibidora da enzima topoisomerase I sugere seu potencial como agente anti-trypanosoma (Hegazy *et al.*, 2021).

1.6.3 Atividade Analgésica, Anti-Inflamatória e Cicatrizante

Kalanchoe ceratophylla apresentou tanto efeitos anti-inflamatórios quanto analgésicos significativos. O extrato metanólico de seus caules mostrou propriedades anti-inflamatórias eficazes, com mecanismos bem discutidos nos estudos de Lai *et al.* (2010, 2011). Esses efeitos foram complementados por suas propriedades analgésicas, tornando esta espécie potencial fonte de compostos terapêuticos.

Kalanchoe crenata teve seus extratos de caule avaliados para atividades analgésicas. Os extratos de diclorometano/metanol e suas frações mostraram ter atividades analgésicas tanto periféricas quanto centrais (Nguelefack *et al.*, 2006).

Kalanchoe daigremontiana e *Kalanchoe pinnata* foram comparadas quanto à atividade anti-inflamatória de seus extratos e *K. daigremontiana* destacou-se com seus extratos aquoso e éter de petróleo exibindo os maiores efeitos inibitórios. Em estudos mais aprofundados, *K. pinnata* também demonstrou efeitos antinociceptivos, antiedematogênicos e anti-inflamatórios, especialmente nas frações de acetato de etila e butanol de suas flores. Estes efeitos foram associados à inibição da COX e à redução do TNF- α , com seus flavonoides supressores de T sendo considerados úteis para doenças inflamatórias (Coutinho *et al.*, 2012; Ferreira *et al.*, 2014).

Kalanchoe laciniata teve seus extratos das folhas, colhidas antes e durante a floração, avaliados para atividade anti-inflamatória. Os extratos de folhas colhidas antes da floração inibiram o edema da pata em camundongos, enquanto os extratos das folhas colhidas durante a floração não tiveram efeito inibitório. Outros estudos revelaram que *K. laciniata* também possui propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias (Costa *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2000; Mourão *et al.*, 1999).

Kalanchoe pinnata demonstrou também um potente efeito cicatrizante. Seu extrato aquoso mostrou eficácia em cicatrização de úlceras e atividade gastroprotetora, possivelmente devido ao efeito sinérgico de seus flavonoides e outros compostos. Estudos comparativos entre *K. pinnata* e *K. laciniata* revelaram que ambos os extratos tinham efeitos gastroprotetores, enquanto *K. pinnata* foi particularmente eficaz contra envenenamento por *B. jararaca* (de Araújo *et al.*, 2018; 2023; Fernandes *et al.*, 2016). Além disso, formulações tópicas contendo extrato aquoso e quercetina 3-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosídeo resultaram em melhor reepitelização e densa formação de fibras de colágeno, indicando um potencial lucrativo do uso do extrato completo (Coutinho *et al.*, 2020).

1.6.4 Atividade Cardioprotetora

Kalanchoe crenata tem mostrado potencial como agente cardioprotetor em estudos pré-clínicos. O extrato etanólico da planta apresentou efeitos protetores contra a cardiotoxicidade induzida por doxorubicina em ratos da linhagem Sprague-Dawley, sugerindo sua utilidade como complemento ao tratamento quimioterápico para mitigar os efeitos colaterais cardíacos (Asiedu-Gyekye *et al.*, 2022).

Além disso, o extrato aquoso foi avaliado para medir os elementos presentes, e as quantidades de cálcio, potássio e magnésio encontradas indicam uma possível correlação com o uso tradicional da planta no tratamento da hipertensão e arritmias. No entanto, a presença de metais pesados como chumbo e arsênio inorgânico pode representar um risco significativo à saúde, o que ressalta a necessidade de mais pesquisas e controle de qualidade no uso terapêutico (Frimpong-Manso *et al.*, 2015).

1.6.5 Atividade Citotóxica e Genotóxica

O extrato metanólico de *K. blossfeldiana* demonstrou potenciais efeitos citotóxicos e formação de biofilme, além de propriedades anti citocinas (Sarkar *et al.*, 2015). O extrato aquoso de *K. blossfeldiana* em nanopartículas de óxido de zinco revelou uma potente citotoxicidade contra células HeLa (Aldalbahi *et al.*, 2020). Em comparação com outras duas espécies (*K. daigremontiana* e *K. pinnata*), o extrato etanólico de *K. blossfeldiana* exibiu a atividade citotóxica mais potente (CI_{50} : <19 $\mu\text{g/mL}$ para células HeLa e SKOV-3), embora não conter bufadienolídeos, conhecidos por elicitar esses efeitos citotóxicos (Stefanowicz-Hajduk *et al.*, 2020).

O extrato metanólico de *K. crenata* apresentou segurança em ensaios de 14 dias em animais ao ser administrada via oral. Seus extratos metanólicos e suas frações apresentaram inibição significativa do citocromo CYP3A4; sugerindo a fração metanólica como potencial fonte de um novo medicamento oral anti-nefropático (Asiedu-Gyekye *et al.*, 2014; Awortwe *et al.*, 2015; Kamgang *et al.*, 2012). O extrato metanólico, em comparação com outras cinco espécies, também revelou notável atividade citotóxica em diferentes linhagens celulares, variando a CI_{50} de 2,33 $\mu\text{g/mL}$ (SPC212, mesotelioma) a 28,96 $\mu\text{g/mL}$ (HepG2, hepatocarcinoma), e indução de apoptose via produção de espécies reativas de oxigênio (Kuete *et al.*, 2017).

Extratos de raízes de *K. daigremontiana* foram avaliados em comparação com outras plantas (*Cyphomandra betacea*, *Robinia pseudoacacia*, *Nothofagus pumilio* e *Rosmarinus officinalis*) em um conjunto de ensaios *in vitro* e nos ensaios citotóxicos, foi a única espécie considerada altamente tóxica (Virsilie *et al.*, 2022). Os efeitos citotóxicos de *K. daigremontiana* também foram investigados em relação ao adenocarcinoma humano (HeLa), células ováricas (SKOV-3), de mama (MCF-7) e de melanoma (A375) (Stefanowicz-Hajduk *et al.*, 2020; 2022), e células de mieloma múltiplo humano (Akentieva *et al.*, 2021). A fração de diclorometano mostrou atividade potente contra as linhagens celulares ($CI_{50} \leq 10 \mu\text{g/mL}$), provavelmente devido à presença de bersaldegenina-1,3,5-ortoacetato (Akulova-Barlow, 2009). O extrato aquoso reduziu a viabilidade das células tumorais em 13% e exibiu sinergismo com a doxorubicina, modificando o metabolismo celular e promovendo a morte das células e contribuindo para seus efeitos antitumorais.

Os extratos de n-hexano e etanol de *K. delagoensis* sugerem potencial de cicatrização de feridas (Schmidt *et al.*, 2009), enquanto sua fração solúvel em n-butanol inibiu a proliferação celular, afetando os processos de divisão (Hsieh *et al.*, 2012). Além disso, o extrato aquoso induziu a parada do ciclo celular e inibiu o crescimento tumoral, sugerindo sua eficácia como agente antitumoral (Hsieh *et al.*, 2015).

O extrato de acetato de etila de *K. flammaea* apresentou citotoxicidade seletiva contra linhagens celulares de câncer de próstata. Frações ricas em ácido cumárico e ácido palmítico, isoladas desse extrato, demonstraram citotoxicidade seletiva contra células PC-3 (Arias-González *et al.*, 2018). Além disso, uma fração rica em ácidos graxos obtida do extrato etanólico de *K. pinnata* demonstrou inibição da proliferação de linfócitos *in vitro* e atividade imunossupressora *in vivo* (Almeida *et al.*, 2000).

Quatro tratamentos (250 µg/mL por 72 h) com diferentes partes do extrato aquoso de *K. gastonis-bonnieri* inibiram a proliferação de células de hiperplasia prostática benigna (HPB) (13,5–56,7%), com destaque para a eficácia do extrato aquoso de partes subterrâneas, o qual foi o mais ativo, estimulando mudanças nas células de HPB e modulando processos cruciais como proliferação, viabilidade e apoptose (Palumbo *et al.*, 2019).

A espécie *K. glaucescens* foi comparada a outras plantas e mostrou citotoxicidade considerável contra células de leucemia (Adam *et al.*, 2018).

Kalanchoe laciniata apresentou significativa mutagenicidade e citotoxicidade com seus extratos aquoso-metanólico e n-hexano (Manan *et al.*, 2015; Sharif *et al.*, 2017). Extratos hidroetanólicos obtidos de suas folhas também inibiram células 3T3 (normal) e a linha 786–0 (carcinoma renal) (92,23% de inibição celular). Em teste *in vivo*, este extrato causou alterações hepáticas sem sinais de toxicidade significativa (Fonseca *et al.*, 2018, Mayorga *et al.*, 2019).

Kalanchoe pinnata demonstrou propriedades citotóxicas em diferentes extratos, embora com uma fraca resposta genotóxica. Isso indica que seu uso deve ser restrito para evitar danos ao DNA ou efeito mutagênico (Bhavsar; Chandel, 2019; Nascimento *et al.*, 2018; Saravanan; Murugan; Kumaravel, 2020). O extrato de clorofórmio obtido das folhas apresentou potencial como anticâncer e terapêutico anti-HPV para o tratamento da infecção por HPV e câncer cervical (Mahata *et al.*, 2012). O extrato etanólico de *K. pinnata*, comparado ao extrato etanólico de outras três espécies do gênero (*K. daigremontiana*, *K. milloti* e *K. nyikae*), demonstrou

maior citotoxicidade contra linfoma, de maneira dose-dependente (Bogucka-Kocka *et al.*, 2018). Diversos compostos bioativos foram identificados nesta espécie e, por meio de abordagem molecular, sugerem mecanismos de atividades anticâncer complexas (Hernandez-Caballero *et al.*, 2022).

1.6.6 Atividades sobre o Sistema Nervoso Central

Kalanchoe crenata teve seu extrato de diclorometano/metanol e frações avaliadas para efeitos no sistema nervoso central. Eles demonstraram atividade anticonvulsivante significativa, indicando o potencial terapêutico da planta no tratamento de convulsões (Nguelefack *et al.*, 2006).

Kalanchoe pinnata revelou efeitos benéficos nas convulsões e na memória. O extrato metanólico das raízes reduziu a atividade anticonvulsivante com doses crescentes, enquanto o extrato metanólico dos caules mostrou um efeito dose-dependente que aumentava com doses mais altas. A mistura de clorofórmio e acetato de etila preservou esse efeito. Além disso, uma dose de 400 mg/kg do extrato metanólico melhorou significativamente a memória e o aprendizado dos camundongos (Bhandarl *et al.*, 2021; Mora-Perez; Hernandez-Medel, 2016).

Outro estudo utilizando peixes-zebra larvais revelou que o extrato aquoso das folhas de *K. pinnata* apresentou efeitos ansiolíticos e psicoativos de forma dose-dependente, contribuindo para uma compreensão mais profunda de seus mecanismos subjacentes e fornecendo *insights* sobre seu uso seguro no tratamento de distúrbios do humor (Pereira *et al.*, 2022).

Por fim, o potencial antidepressivo do extrato aquoso pode estar associado a uma interação complexa entre os sistemas serotoninérgico, opioidérgico e noradrenérgico, sugerindo sua utilidade no tratamento de transtornos depressivos (Kukuia *et al.*, 2015).

1.6.7 Atividade Hipoglicemiante

Kalanchoe pinnata demonstrou notável atividade hipoglicêmica e efeitos positivos sobre as células beta do pâncreas. O extrato etanólico dessa espécie mostrou uma melhora significativa no número de células de Langerhans pancreáticas com uma dose média de 11,6 mg/kg, promovendo assim a redução dos níveis de glicose no sangue. Além disso, a fração de diclorometano do extrato

aquoso apresentou um efeito secretagogo de insulina dependente da dose, reduzindo os níveis de glicose no sangue em jejum de 228 mg/dL para 116 mg/dL com uma dose de 10 mg/kg. A fração de diclorometano do extrato aquoso também melhorou os níveis de hemoglobina glicada, de 12,9% em controles diabéticos para 8,4%, além de restaurar os níveis de insulina e normalizar o perfil lipídico (Patil *et al.*, 2013; Yuliani, Dewijanti, Banjarnahor, 2016).

As propriedades antioxidantes de *K. pinnata*, especialmente quando combinada com metformina, foram exploradas, revelando efeitos positivos. O tratamento com *K. pinnata* (400 µg/mL) aumentou significativamente a atividade da catalase tanto em mioblastos esqueléticos humanos não diabéticos quanto diabéticos, além de reduzir os níveis de malondialdeído. A combinação de *K. pinnata* com metformina modulou respostas antioxidantes, aumentando a atividade da superóxido dismutase e os níveis de glutathione reduzida, ao mesmo tempo que reduziu os níveis de glutathione, tanto em células não diabéticas quanto em células estressadas pelo H₂O₂. Esses achados indicam que esta combinação pode abordar complicações fisiopatológicas associadas ao estresse oxidativo em diabéticos tipo II (Ramon *et al.*, 2023).

1.6.8 Outras Atividades

Kalanchoe laciniata mostrou uma impressionante capacidade de inibir a nucleação, o crescimento e a agregação de cristais de CaOx, sugerindo seu potencial no tratamento da urolitíase. Estudos comparativos com outras plantas, como *Drymoglossum piloselloides* e *Aegle marmelos*, confirmaram essa propriedade nos extratos aquosos, etanólicos e de hexano das folhas. A triagem fitoquímica indicou a presença de vários compostos bioativos, incluindo açúcares redutores, proteínas, flavonoides, taninos e polifenóis, que podem contribuir para essas propriedades terapêuticas (Hewagama; Hewawasam, 2022).

Kalanchoe pinnata foi avaliada por seus efeitos na contratilidade do detrusor, fornecendo *insights* sobre seu potencial no tratamento da bexiga hiperativa. Diferentes preparações, como suco prensado, frações enriquecidas com flavonoides, frações enriquecidas com bufadienolídeos e uma mistura de flavonoides agliconas foram testadas. Enquanto o suco prensado aumentou a força de contração das tiras musculares, frações enriquecidas com bufadienolídeos e mistura de flavonoides agliconas reduziram essa força de forma dose-dependente, fornecendo

suporte para o uso no tratamento dessa condição. O suco prensado também demonstrou eficácia no controle da contratilidade uterina, diminuindo o sinal de ocitocina e mostrando sinergia ao ser combinado com frações enriquecidas. No entanto, os estudos sugerem que o suco prensado sozinho tem uma potência mais elevada na inibição da ativação induzida pela ocitocina (Bachman *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2021).

Além disso, o extrato aquoso de *K. pinnata* foi tão eficaz quanto os beta-agonistas no tratamento do parto prematuro e foi significativamente mais bem tolerado. Um produto de mercado à base de suco prensado de *K. pinnata* foi testado em estudos prospectivos com mulheres grávidas, pacientes com câncer e pessoas com problemas de sono, mostrando-se uma opção adequada para todas essas condições (Lambrigger-Steiner *et al.*, 2014; Simões-Wüst *et al.*, 2015).

1.6.9 Substâncias Isoladas

Existem poucos estudos sobre o isolamento e caracterização de moléculas bioativas de espécies de *Kalanchoe* correlacionadas com seu potencial farmacológico. Informações detalhadas sobre os estudos relatados na literatura podem ser observadas no Quadro 6.

Quadro 6 – Atividades biológicas de compostos isolados do gênero *Kalanchoe*

Espécies e parte da planta	Compostos testados	Atividade farmacológica e ensaio utilizado	Resultados obtidos	Mecanismo de ação	Referências
<p><i>K. delagoensis</i> Planta toda</p>	<p>quercetina (40) tubiflorona (85) ácido siríngico (90) ácido 4-O-etilgálico (98) 3,4-dimetoxifenol (100) floroglucinol (101) 3,4-diidroxiálilbenzeno (102)</p>	<p>Anti-inflamatório Ensaio de produção de óxido nítrico (NO) induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em células RAW 264.7</p>	<p>Os compostos demonstraram relações dose-dependentes para a produção de NO induzida por LPS. O ensaio MTT mostrou alta viabilidade celular na presença de LPS no meio de cultura em várias concentrações. Os resultados mostraram que a quercetina (40) e 3,4-diidroxiálilbenzeno (102) possuíam atividades inibidoras</p>	<p>Ausentes.</p>	<p>Huang <i>et al.</i>, 2013a.</p>

			de NO, enquanto tubiflorona (85) , ácido siríngico e 3,4-dimetoxifenol (100) exibiram atividades fracas.		
	kalantubolideo A (38) kalantubolideo B (39) kalantubosideo A (23) kalantubosideo B (24) briotoxina C (1) bersaldegénina 1,3,5-ortoacetato (6) bersaldegénina 1-acetato (7) tauro lipídio C (84) ácido gálico (87)	Citotoxicidade Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> , análise do ciclo celular e ensaio de apoptose.	Cardenólídeos (kalantubolideo A (38) e kalantubolideo B (39)) e bufadienólídeos glicosilados (kalantubosídeo A (23) , kalantubosídeo B (24) , briotoxina C (1) , bersaldegénina 1,3,5-ortoacetato (6) , bersaldegénina-1-acetato (7)) demonstraram citotoxicidade contra	Ausentes.	Huang <i>et al.</i> , 2013b.

	ácido cinâmico (97) ácido ferúlico (86) estigmasterol-O-D-gl icosídeo (107)		4 células tumorais humanas (A549, Cal-27, A2058 e HL-60) com CI_{50} na faixa de 0,01 μ M a 10,66 μ M. Cardenolídeos (kalantubolídeo A (38) e kalantubolídeo B (39)) também demonstraram citotoxicidade significativa contra células HL-60. Adicionalmente, kalantubosídeo A (23), kalantubosídeo B (24), briotoxina C (1), bersaldegenina 1,3,5-ortoacetato (6) e bersaldegenina		
--	---	--	--	--	--

			1-acetato (7) bloquearam o ciclo celular na fase G2/M e induziram a apoptose em células HL-60.		
<i>K. pinnata</i> Planta toda	briofilina A (1) briofilina B (2) bersaldegenina 3-acetato (8)	Citotoxicidade Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> .	Briofilina A (1) , briofilina B (2) e bersaldegenina 3-acetato (8) apresentaram potente efeito citotóxico.	Ausentes.	Yamagishi <i>et al.</i> , 1989.
<i>K. pinnata</i> Raízes	KPB-100 (81) KPB-200 (82)	Antiviral Ensaio de inibição da propagação e redução do rendimento do vírus vaccinia e ensaio de inibição do efeito citopático viral do mutante 2-TK do α -herpesvírus humano.	Ambos compostos são promissores para otimização sintética e estudos <i>in vivo</i> contra α -herpesvírus humano 1 e 2 e vaccinia virus. KPB-100 (122) inibiu	Os autores consideram que estudos futuros são necessários para estabelecimento do mecanismo de ação desses compostos.	Cryer <i>et al.</i> , 2017.

			fortemente todos os vírus testados.		
<i>K. pinnata</i> Flores	quercetina 3-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranosídeo (45)	Anti-inflamatório Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.	O flavonoide (45) (1, 3 e 10 mg/kg) produziu inibição dose-dependente no número de contorções abdominais induzidas por ácido acético em 20,5% (44,2 \pm 3,1), 35,8% (35,7 \pm 4,5) e 50,5% (27,5 \pm 3,5), respectivamente (DI ₅₀ 9,4 mg/kg), quando comparado ao veículo (55,6 \pm 3,3). O controle positivo (indometacina, 10 mg/kg) reduziu o número de	O grupamento aglicona quercetina presente na estrutura do composto isolado (45) demonstrou ser um agente antiinflamatório e imunossupressor. Este flavonol tem um efeito imunomodulatório bem conhecido via regulação dos mediadores inflamatórios, bem como inibindo citocinas e induzindo a expressão de óxido nítrico sintase pela inibição de NF- κ B.	Ferreira <i>et al.</i> , 2014.

			contrações em 56,5% (24,2 ± 3,5).		
		Anti-inflamatório Ensaio de pleurisia induzida por carragenina.	O flavonoide (45) (0,3, 1,0 e 3,0 mg/kg) exibiu uma redução dose-dependente na migração de leucócitos em 8,0% (6,9 ± 0,6 leucócitos × 10 ⁶ /mL), 38,8% (4,6 ± 0,2 leucócitos × 10 ⁶ /mL) e 57,2% (3,2 ± 0,3 leucócitos × 10 ⁶ /mL), respectivamente (DI ₅₀ 2,0 mg/kg), e o controle positivo (dexametasona, 2 mg/kg), inibiu em 71,9% (2,1 ± 0,2 leucócitos × 10 ⁶ /mL)	A redução na migração total de leucócitos para a cavidade pleural induzida por carragenina é dependente da síntese de mediadores leucotrienos quimioatraentes, como LTB ₄ , citocinas IL-1 e TNF-α e quimiocinas.	

			comparado ao veículo (7,5 ± 0,6 leucócitos × 10 ⁶ /mL).	
		Anti-inflamatório Ensaio <i>in vivo</i> de edema de orelha induzido por óleo de cróton.	O pré-tratamento com o flavonoide (45) (0,3, 1,0 ou 3,0 mg/kg) produziu efeito antiedematogênico relacionado à dose de 38,2% (4,2 ± 0,4 mg), 54,4% (3,1 ± 0,4 mg) e 70,6% (2,0 ± 0,4 mg), respectivamente, enquanto o tratamento com dexametasona (2 mg/kg) reduziu o edema de orelha em 85,3% (1,0 ± 0,4 mg) quando comparado	A formação de edema é inicialmente mediada por histamina e serotonina e posteriormente pela liberação de prostaglandinas. Prostaglandinas desempenham um papel importante na sinalização de inflamação, dor, rubor, edema, calor e perda de função. A biossíntese de PGE ₂ , a principal prostaglandina inflamatória, envolve 3

			ao veículo (6,8 ± 0,6 mg), com DI ₅₀ 0,76 mg/kg.	enzimas-chave, fosfolipase A2, ciclooxigenase (COX) e PGE sintase.	
		Anti-inflamatório Ensaio de medição de TNF-α <i>ex vivo</i> .	O flavonoide (45) (3,0 mg/kg) diminuiu a concentração de TNF-α em exsudato pleural em 66,6% (22,6 ± 3,1 pg/mL) em comparação ao veículo (67,5 ± 4,9 pg/mL), e dexametasona (2 mg/kg) reduziu a concentração de TNF-α em 74,5% (17,2 ± 3,2 pg/mL).	O pré-tratamento reduziu a concentração de TNF-α em exsudato pleural, sugerindo a produção de um efeito anti-inflamatório, pelo menos em parte, pela inibição do TNF-α.	
		Anti-inflamatório Ensaio <i>in vitro</i> de inibição da ciclooxigenase (COX).	O flavonoide (45) inibiu COX-1 e COX-2 em atividades <i>in vitro</i>	Alguns flavonoides reduzem a síntese de PGE2 pela inibição da	

			($CI_{50} = 3,8 \times 10^{-5} M$ (22,1 $\mu g/mL$) e $CI_{50} \geq 8,4 \times 10^{-5} M$, respectivamente), com índice de seletividade (IS) $<0,44$. O controle positivo indometacina também inibiu as atividades de COX-1 e COX-2 ($CI_{50} = 5,9$ e $31,2 \mu g/mL$, respectivamente, e IS = 0,19).	atividade das enzimas ou pela inibição da expressão de enzimas inflamatórias, COX-2, ou PGES-1 microsomal.	
<i>K. pinnata</i> Folhas	quercetin 3-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranosídeo (45)	Cicatrização de feridas Modelo <i>in vivo</i> de excisão de rato.	Um creme contendo quercetina 3-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-ramnopiranosídeo (45) (0,15%) foi desenvolvido e	Agentes cicatrizantes de feridas podem agir na inflamação, na proliferação celular e/ou fase de remodelação. Sintomas clássicos de	Coutinho <i>et al.</i> , 2020.

			<p>topicamente comparado a um creme contendo o extrato aquoso. Ambos os cremes mostraram uma melhor re-epitelização e densas fibras de colágeno em comparação ao controle.</p>	<p>inflamação são causados pela liberação de prostaglandinas, leucotrienos e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A potente atividade antioxidante e a atividade antiinflamatória <i>in vivo</i> exibidos por quercetina 3-O-α-L-arabinopiranosil-(1\rightarrow2)-α-L-ramnopiranosídeo (45) podem explicar a performance cicatrizante, sendo consideradas como as principais atividades responsáveis pela</p>	
--	--	--	--	--	--

				atividade cicatrizante desta espécie.	
	<p>quercetina</p> <p>3-O-α-L-arabinopiranosil-(1\rightarrow2)-O-α-L-ramnopiranosideo (45)</p> <p>campeferol</p> <p>3-O-α-L-arabinopiranosil-(1\rightarrow2)-O-α-L-ramnopiranosideo (56)</p>	<p>Antioxidante</p> <p>Ensaio <i>in vitro</i> DPPH e ABTS.</p> <hr/> <p>Anti-inflamatório</p> <p>Ensaio de inibição da xantina oxidase (XO).</p>	<p>Compostos derivados de campeferol e quercetina inibiram moderadamente a XO, enquanto apenas os derivados de quercetina demonstraram moderada atividade antioxidante, sugerindo que quercetina 3-O-α-L-arabinopiranosil-(1\rightarrow2)-α-L-ramnopiranosídeo (45) pode ser indicado como um marcador específico desta espécie.</p>	<p>Ausentes.</p>	<p>Fernandes <i>et al.</i>, 2021.</p>

quercitrina (43)	Anti-anafilático Hipersensibilização de camundongos e desafio antigênico, medição de IgE-específica, proliferação de células T, produção de citocinas, degranulação de mastócitos no mesentério e ensaio de liberação de histamina.	Pré-tratamento com quercitrina (43) mostrou efeito protetor em morte causada por choque anafilático. Nesse estudo, o tratamento conferiu resistência ao choque anafilático fatal em 75% dos animais.	O mecanismo de ação da quercitrina ainda é desconhecido.	Cruz <i>et al.</i> , 2018.
	Anti-inflamatório Ativação de mastócitos <i>in vitro</i> e modelo de doença alérgica das vias aéreas <i>in vivo</i>	Tratamento com quercitrina (43) não afetou os parâmetros testados.		Cruz <i>et al.</i> , 2012.
	Antileishmania Ensaio <i>in vitro</i> de atividade anti amastigota e anti promastigota	Fracionamento direcionado com etil acetato guiado por atividade anti amastigota levou ao		Muzitano <i>et al.</i> , 2006.

			isolamento de quercitrina (43) , inibindo 93,9% do crescimento amastigota (100 µg/mL, 223 µM). O composto exibiu atividade significativa antileishmania.		
	briofillina A (1) briofillina C (3)	Inseticida Bioensaio com bicho-da-seda.	Briofilina A (1) e briofilina C (3) mostraram potente atividade inseticida contra bicho-da-seda (<i>Bombyx mori</i>).	Os autores sugerem que a porção 1,3,5-ortoacetato desempenha um papel importante na atividade inseticida.	Supratman <i>et al.</i> , 2000.
	briofillina A (1) briofillina B (2) briofillina C (3)	Antiviral Ensaio de ativação do vírus Epstein-Barr induzido por promotor tumoral.	Briofilina A (1) , bersaldegénina 1,3,5-ortoacetato (6) e daigremontianina (4) mostraram potencial atividade	Promotores tumorais possivelmente induzem a ativação do vírus Epstein-Barr via ativação da proteína quinase C e proteína	Supratman <i>et al.</i> , 2001.
<i>K. x houghtonni</i> Folhas	daigremontianina (4)				

	bersaldegenina 1,3,5-ortoacetato (6)		inibitória no vírus Epstein-Barr, porém briofilina A (1) foi a mais efetiva (CI ₅₀ : 0,4 μM). Os resultados sugerem que os bufadienólídeos são potentes agentes quimiopreventivos.	quinase mitógeno-ativada.	
--	---	--	---	------------------------------	--

Fonte: A autora.

CAPÍTULO 2 - DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DE *KALANCHOE* PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS

Produtos à base de plantas são encontrados globalmente sob várias denominações, de acordo com os quadros regulatórios de seus respectivos países. No Brasil, esses produtos são categorizados como medicamentos fitoterápicos ou produtos tradicionais fitoterápicos (ANVISA, 2014), enquanto nos Estados Unidos, são comumente vendidos como suplementos dietéticos sob a Lei de Saúde e Educação sobre Suplementos Dietéticos de 1994 (USC, 1994). Essa variação nos padrões regulatórios internacionais tende a impactar na qualidade das plantas medicinais e seus derivados, bem como na autenticidade das matérias-primas vegetais disponíveis no mercado. A adulteração, um problema prevalente neste setor, é frequentemente exacerbada pelas semelhanças morfológicas entre espécies de plantas e o uso de mesmo nome popular. Essas práticas dentro da indústria de fitoterápicos podem comprometer a eficácia terapêutica desses produtos e, em certos casos, representar riscos de intoxicação para os consumidores (Manfron, 2021).

Um exemplo de plantas que se encaixam neste cenário são as espécies do gênero *Kalanchoe*. Andrade *et al.* (2023) já destacaram a dificuldade em distinguir as espécies deste gênero devido ao grande número de espécies que compartilham nomes comuns e semelhanças morfológicas, o que frequentemente leva à má identificação de suas características taxonômicas. Espécies como *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier. e *Kalanchoe x houghtonii* D.B.Ward demonstram notáveis semelhanças morfológicas e são frequentemente referidas pelo mesmo nome comum, resultando em confusão quanto ao seu uso etnomedicinal. Da mesma forma, os usos sobrepostos de *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haw., *Kalanchoe marmorata* Baker e *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. em várias aplicações terapêuticas refletem de sua similaridade etnofarmacológica, reforçando a necessidade de identificação precisa de cada espécie para aproveitamento total de seus potenciais terapêuticos.

A análise botânica destes materiais vegetais é um passo crucial para garantir diferenciação, qualidade, segurança e consistência. Além disso, a identificação química pode ser usada como uma ferramenta importante para complementar a identificação completa dessas matérias-primas (USP, 2015).

A Cromatografia de Camada Delgada de Alta Eficiência (CCD-AP) é a técnica preferida para analisar drogas vegetais. Ela serve como uma ferramenta poderosa para comparar rapidamente múltiplas amostras em paralelo, detectar adulteração, monitorar pureza e estabilidade, e identificar e quantificar compostos marcadores tanto em matérias-primas quanto em produtos acabados (CAMAG, 2023).

Adicionalmente, o perfil metabolômico por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massas (CLUE-EM) é considerado uma ferramenta avançada para caracterizar a composição de matrizes de plantas e auxiliar na identificação de moléculas bioativas e marcadores químicos (Perez de Souza *et al.*, 2019).

A abordagem analítica que combina exame microscópico com análise química pode fornecer *insights* abrangentes sobre as características das espécies (Plumb *et al.*, 2006). Na presente investigação, uma abordagem multidisciplinar combinando análise morfoanatômica, perfil metabolômico por CLUE-EM e CCD-AP foi empregada para caracterizar e diferenciar de forma abrangente cinco espécies de *Kalanchoe*, especificamente *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haw., *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier, *Kalanchoe marmorata* Baker, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. e *Kalanchoe x houghtonii* D.B.Ward e produtos comerciais de *K. daigremontiana* e *K. pinnata*.

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 Coleta e Identificação do Material Vegetal

Partes vegetativas aéreas frescas de cinco espécies do gênero *Kalanchoe* foram coletadas em Ponta Grossa, PR, Brasil (25°5'38"S 50°12'34"W). As plantas floridas foram usadas para a preparação de espécimes de herbário e foram identificadas como *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haw., *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier., *Kalanchoe marmorata* Baker, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. e *Kalanchoe x houghtonii* D.B.Ward. Os espécimes foram depositados no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG) sob os números de registro 22929, 22778, 22779, 23063 e 22808, respectivamente. O acesso ao material botânico foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob o registro AFDD6B4.

2.1.2 Preparo dos Materiais Vegetais e Extratos

Folhas frescas de cada espécie foram coletadas, trituradas e extraídas com água destilada usando turbo extração (1:10, p/v, 5 minutos); posteriormente, os extratos foram filtrados e liofilizados. Cápsulas de produtos comerciais adquiridos de três diferentes empresas, alegando conter 100 % de extrato de *Kalanchoe* (1 amostra rotulada como *K. daigremontiana* e 2 amostras rotuladas como *K. pinnata*), foram processadas usando um procedimento idêntico ao utilizado para os extratos de folhas frescas. Os extratos foram diluídos para uma concentração de 0,1 mg/mL (MeCN: H₂O, 1:1, v/v) antes da análise por CLUE-EM e 20 mg/mL (em água) para análise por CCD-AP.

2.1.3 Avaliação Botânica e Análise de Pó

As amostras (folhas e caules) foram fixadas por 5 dias em uma solução de formalina: ácido acético: álcool 70 % (FAA 5:5:90, v/v/v) (Johansen, 1940). Posteriormente, foram lavadas com água purificada e armazenadas em etanol 70 % (v/v) (Berlyn; Miksche, 1976). Para o exame microscópico do material vegetal, seções paradérmicas e transversais foram preparadas. Em seguida, as seções

obtidas foram coradas com Azul de Astra e fucsina básica (Roeser, 1972), bem como azul de toluidina (O'brien; Feder; Mccully, 1964). Lâminas semi permanentes foram montadas em lâminas de vidro, sendo a glicerina 50% (v/v) o meio de montagem. As lâminas foram imediatamente fotografadas e analisadas sob um microscópio óptico acoplado a uma câmera fotográfica (modelo Olympus CX31 com unidade de controle C7070) para uma descrição detalhada da anatomia de folhas e caules.

Para análise do pó, foi empregada uma avaliação microscópica meticulosa, preparando lâminas do material em pó das cápsulas de produtos comercialmente disponíveis adquiridos de três diferentes empresas que alegam conter 100% de espécies de *Kalanchoe*, sendo elas: produto comercial de *Kalanchoe daigremontiana* (KDCP); produto comercial de *Kalanchoe pinnata* de marca 1 (KPCP1); e produto comercial de *Kalanchoe pinnata* de marca 2 (KPCP2). Nesta análise, foram utilizados Azul de Astra e fucsina básica, safranina (Fuchs, 1963) como reagentes, bem como solução de iodo para detectar grãos de amido (Berlyn; Miksche, 1976). Esta análise foi realizada com técnicas usuais farmacognósticas para garantir a autenticidade e pureza dos produtos.

2.1.4 Análise por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Performance

2.1.4.1 Preparo dos padrões

Soluções de estoque de quercetina, rutina, ácido clorogênico e campeferol foram preparadas a 1 mg/mL cada uma em metanol. O ácido clorogênico, a quercetina e o campeferol foram diluídos a 200 µg/mL, enquanto a rutina foi preparada a 400 µg/mL. O mix universal CCD-AP foi usado como um teste de adequação do sistema (*System Suitability Test*, SST) e preparado conforme Do *et al.* (2021).

2.1.4.2 Aplicação e Desenvolvimento

A análise foi conduzida usando um sistema CCD-AP PRO da empresa CAMAG (Wilmington, NC) equipado com quatro módulos. As placas foram colocadas em suportes e armazenadas no módulo *Plate Storage* PRO e transportadas para o módulo *Application* PRO para aplicação posterior. Amostra (10 µL), soluções SST e

padrão (2 µL) foram aplicadas em uma placa de sílica-gel CCD-AP 20 × 10 cm F254 (Merck, Alemanha) conforme o capítulo geral <203> da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP, 2017).

Após a aplicação, a placa foi automaticamente transportada por esteiras até o módulo *Development* PRO e desenvolvida com uma solução recém-preparada de acetato de n-butila, metanol, água e ácido fórmico (7,5:2:1:1, v/v/v/v). Primeiramente, a placa foi ativada por 10 minutos soprando ar de uma garrafa contendo uma solução saturada de MgCl₂ para dentro da câmara. A fase gasosa foi gerada no tubo condicionador com a fase móvel a 25 % de potência da bomba e enviada para a câmara de forma controlada para condicionar a placa de 30 a 70 mm de distância de desenvolvimento. Em seguida, a placa foi secada na câmara e visualizada sob comprimento de onda UV 254 nm usando um TLC *Visualizer 2* da CAMAG.

2.1.4.3 Derivatização pós-cromatográfica e visualização

A placa foi aquecida a 100 °C por 90 segundos e depois derivatizada com 1,5 mL do reagente de produtos naturais (*Natural Product*, NP) (1g de 2-aminoetil difenilborato dissolvido em 100mL de metanol) sob pressão reduzida usando o módulo *Derivatization* PRO com bico 1 e nível de pulverização 3. As imagens foram registradas usando um TLC *Visualizer 2* sob comprimento de onda UV 366 nm em modo de reflexão e transmissão.

Um modo de detecção adicional foi adicionado pulverizando 1,8 mL do reagente anisaldeído (85 mL de metanol resfriado com gelo misturado lentamente com 10 mL de ácido acético e 5 mL de ácido sulfúrico). Permitindo que a mistura esfriar até a temperatura ambiente, 0,5 mL de anisaldeído (p-metoxibenzaldeído) foi adicionado sob pressão reduzida usando o módulo *Derivatization* PRO com bico 2 e nível de pulverização 2, e então a placa foi aquecida a 100 °C por 90 segundos. As imagens foram registradas sob comprimento de onda UV 366 nm.

2.1.5 Análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLUE-EM/EM)

Dados CLUE-EM para extratos aquosos de espécies de *Kalanchoe* foram adquiridos usando um Waters® I-Class UPLC acoplado a um Espectrômetro de Massas do tipo Quadrupolo Tempo de Voo (*Quadrupole Time of Flight*, Q-TOF)

Waters® G2-XS. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna de fase reversa Acquity UPLC®BEH C₁₈ 1,7 µm, 2,1 x 100 mm com 0,1 % de ácido fórmico em água (v/v) (A) e 0,01 % de ácido fórmico em acetonitrila (B) como fase móvel binária. Todas as amostras foram analisadas usando um programa de eluição em gradiente, começando com 15% de B e aumentando para 30% de B ao longo de 4 minutos, mantendo por 3 minutos, aumentando ainda mais para 100% de B até 8,2 minutos e, em seguida, reequilibrando às condições iniciais até 10 minutos. A taxa de fluxo foi definida em 0,45 mL/min. O volume de injeção da amostra foi de 3 µL e a temperatura da coluna foi mantida a 30 °C. O espectrômetro de massas estava equipado com uma fonte ESI e operado em modos de íons positivos e negativos. A faixa de massa de varredura foi de 50–1800. A faixa de energia de colisão MS^E foi ajustada entre 35-45 V e a tensão do cone foi mantida em 40 V. Amostras em triplicata foram preparadas de cada extrato de planta e os frascos foram randomizados antes da amostragem. Informações de correção de massa foram adquiridas para cada amostra com infusão contínua de uma solução de 0,2 ng/mL de leucina encefalina a uma taxa de fluxo de 10 µL/min, gerando um íon de referência para o modo de íon positivo ($[M+H]^+$ = 556,2771) e modo de íon negativo ($[M-H]^-$ = 554,2615) para garantir a precisão durante a análise de espectrometria de massas. A correção de massa foi aplicada após a aquisição no *software* Progenesis.

2.1.6 Processamento e Análise de Dados

Os dados CLUE-EM foram gerados usando o MassLynx™ (versão 4.2). Os dados brutos foram então importados para o *software* Progenesis QI (versão 3.0.3), onde os espectros foram alinhados. O conjunto de características de massa resultante foi então filtrado pela remoção de características com abundância máxima nas amostras de controle experimental. Características também foram excluídas se tivessem tempo de retenção cromatográfica menor que 0,75 minutos ou maior que 6 minutos, e se tivessem uma abundância máxima de íons menor que 1000. Finalmente, características foram removidas se seu valor de *p* por Anova fosse maior que 0,05. Todos os dados foram normalizados para a intensidade total de íons por cromatograma, e a Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis*, PCA) foi realizada.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 Análise Farmacobotânica

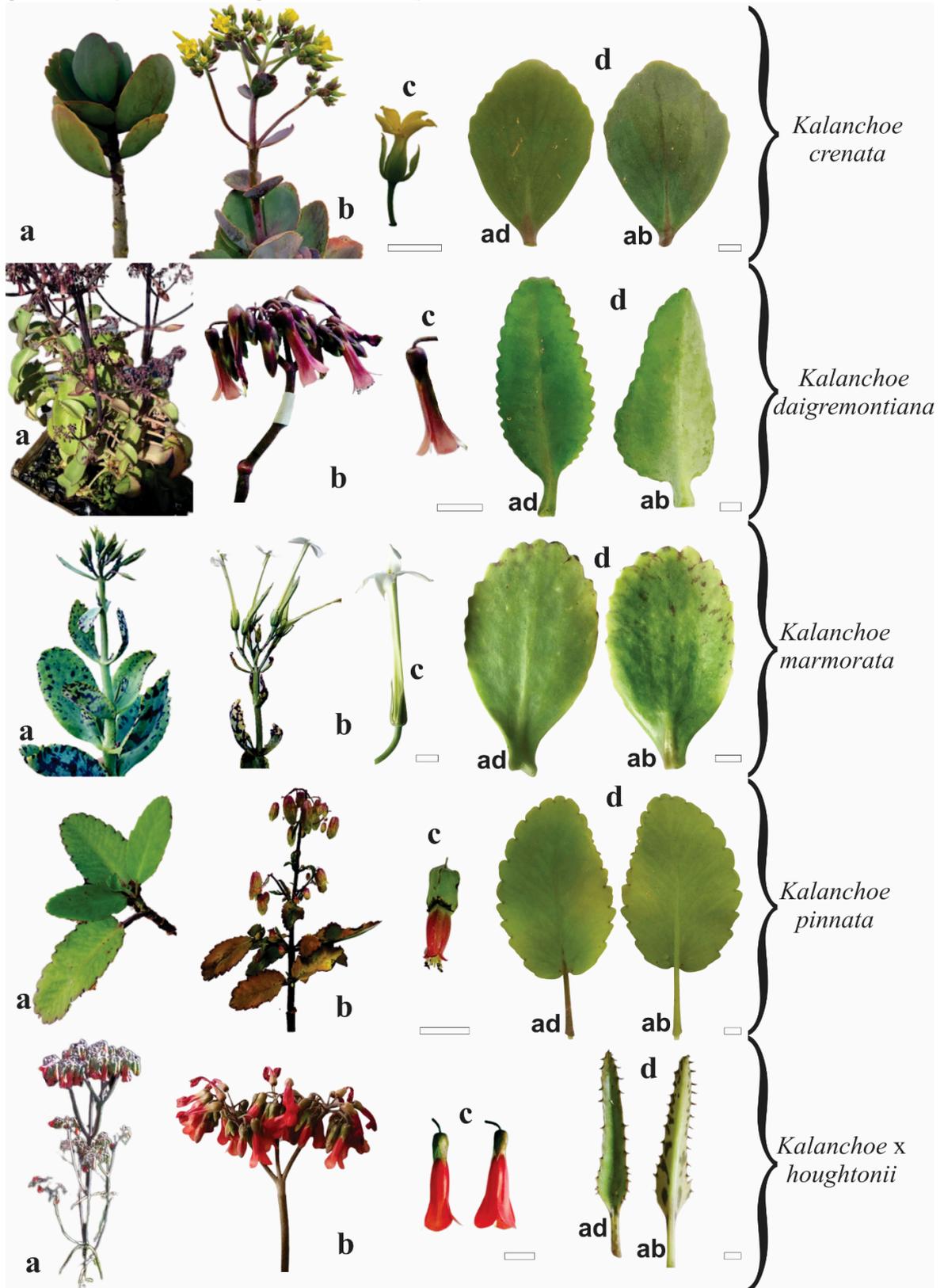
Todas as folhas das cinco espécies de *Kalanchoe* analisadas neste estudo são suculentas, glabras, lisas e exibem filotaxia oposta-cruzada (Figura 7a). A floração de todas essas espécies pode ser observada durante a estação de inverno, quando o pedúnculo principal se alonga verticalmente (Figura 7b,c).

Diferenças chave residem em relação ao tamanho, forma, ápice, base e características das margens das folhas (Figura 7d, Quadro 7). Particularmente notáveis são as manchas distintas em *K. x houghtonii* e *K. marmorata*, e as variadas formas e tamanhos de folhas dessas espécies, destacando as principais diferenças entre elas e auxiliando em sua identificação e classificação.

A Figura 7 e o Quadro 7 fornecem descrições detalhadas dos aspectos morfológicos das flores e folhas das cinco espécies de *Kalanchoe*. Nas flores, características importantes para sua diferenciação são destacadas, como o tipo de inflorescência (terminal ou corimbiforme), cor (variando de branco a vermelho), tamanho (variando de 2 a 10 cm de comprimento) e forma (estrelada ou em forma de sino).

Aspectos anatômicos detalhados das cinco espécies de *Kalanchoe* são apresentados na Figura 8. Além disso, o Quadro 8 fornece descrições detalhadas das características anatômicas das folhas das espécies de *Kalanchoe* estudadas. Cada espécie exibe características anatômicas únicas em suas folhas (lâmina e pecíolo), auxiliando na identificação. As diferenças que auxiliam na diferenciação das espécies deste estudo residem principalmente nos padrões das paredes celulares anticliniais epidérmicas e no formato da nervura central, bem como formato e arranjo dos feixes vasculares dos pecíolos.

Figura 7 – Aspectos morfológicos de cinco espécies de *Kalanchoe*.



Fonte: A autora

Notas: Partes aéreas (a); inflorescência terminal (b); flores (c); folhas (d). ad: face adaxial; ab: face abaxial. Barra de escala: 1 cm.

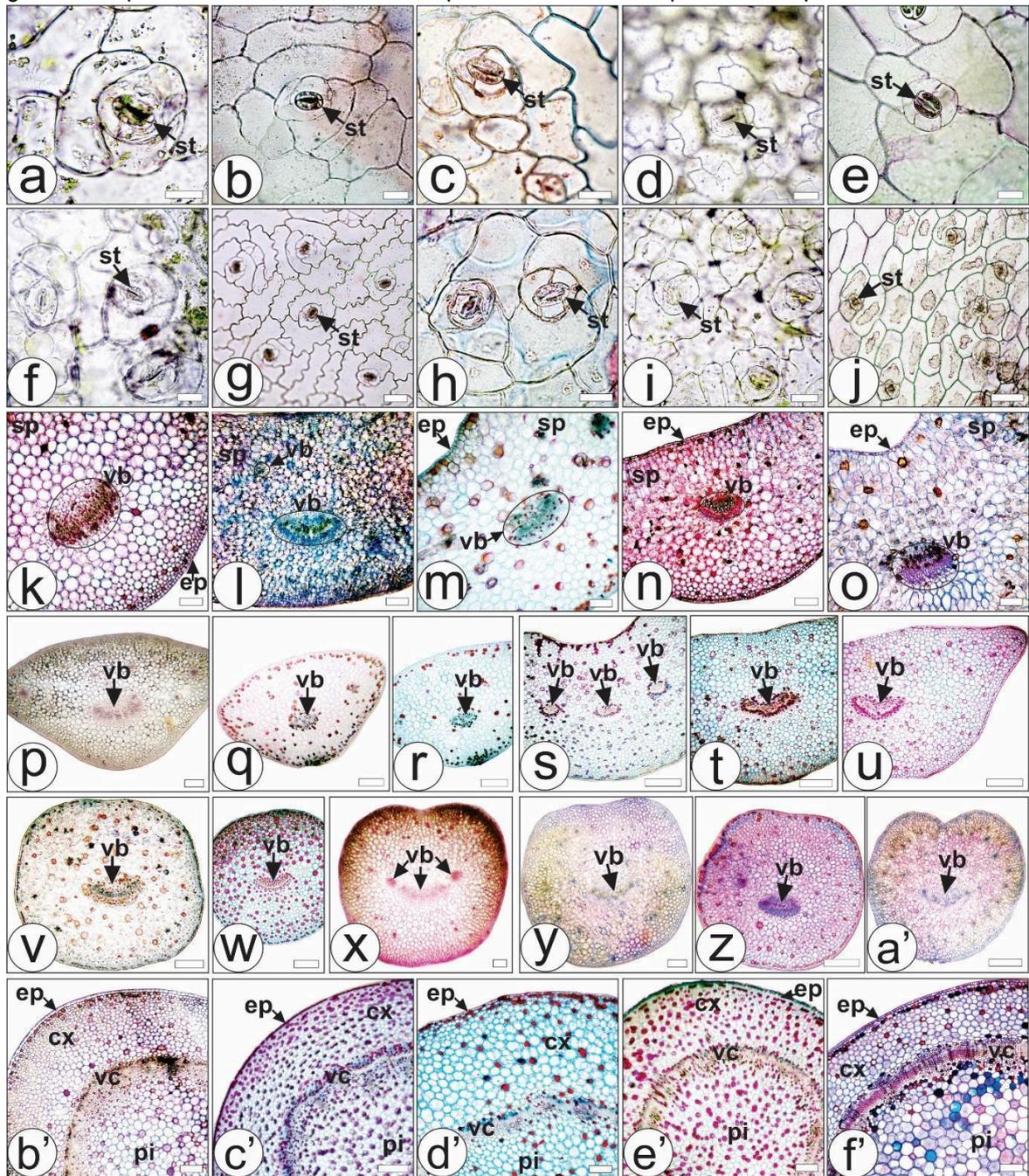
Quadro 7 – Aspectos morfológicos para diferenciação de cinco espécies de *Kalanchoe*.

Espécie		<i>K. crenata</i>	<i>K. daigremontiana</i>	<i>K. marmorata</i>	<i>K. pinnata</i>	<i>K. x houghtonii</i>	
Folhas	Cor	Verde brilhante	Verde brilhante	Verde brilhante, com manchas roxas em ambas as faces predominante na superfície abaxial	Verde brilhante	Verde escuro, com manchas marrom-arroxeadas na face abaxial	
	Tamanho (cm)	Comprimento	5-10	7-15	5-10	5-10	7-10
		Largura	3-6	4-4,5	3-6	3-6	3-4
	Forma	Obovada a oval	Oblonga a oval	Obovada a oval	Obovada a oval	Lanceolada	
	Ápice	Obtuso	Obtuso	Arredondado	Obtuso	Acuminado	
	Base	Cuneada	Assimétrica	Atenuada	Truncada	Atenuada	
	Margem	Crenada	Crenada	Crenada	Crenada	Denteada	
Flores	Aspecto da Inflorescência	Terminal	Terminal Corimbiforme	Terminal	Terminal Corimbiforme	Terminal Corimbiforme	

	Cor	Amarela	Rosa a lilás	Branca	Rosa	Vermelho
	Comprimento (cm)	3-5	2-3	6-10	2-3	3-5
	Formato	Estrela	Sino	Estrela	Sino	Sino

Fonte: A autora

Figura 8 – Aspectos anatômicos de cinco espécies de *Kalanchoe* por microscopia de luz.



Fonte: A autora

Notas: *K. crenata* (a,f,k,p-r,b'), *K. daigremontiana* (b,g,l,s-u,c'), *K. marmorata* (c,h,m,d'), *K. pinnata* (d,i,n,v-x,e'), *K. x houghtonii* (e,j,o,y,z,a'-f'). Superfície adaxial da folha (a-e); superfície abaxial da folha (f-j); lâmina da folha em corte transversal (a-o); região distal do pecíolo em corte transversal (p,s,v,y), região medial do pecíolo em corte transversal (q,t,v,z), região proximal do pecíolo em corte transversal (r,u,x,a'); caule em corte transversal (b'-f'). Azul de astra e fucsina básica (a-k,m-x,y,z,a'-f'); azul de toluidina (l,y,a'). cx: córtex; ep: epiderme; pi: medula; sp: parênquima esponjoso; st: estômatos; vb: feixe vascular; vc: cilindro vascular. Barra de escala: 25 µm (a,c,d,f,h-j); 50 µm (b,e,g); 125 µm (y); 250 µm (k-o,z,a'-f'); 500 µm (p-x).

<i>K. pinnata</i>	Sinuoso	Ondeada	Plano-con vexo	Circular	1 colateral em arco aberto	Circular	1 colateral em arco aberto	Côncavo-c onvexo	1 colateral em arco aberto, 2 traços dorsais
<i>K. x houghtonii</i>	Reto	Ondeada	Côncavo- convexo	Levemente côncavo-c onvexo	1 colateral em arco aberto	Circular	1 colateral em arco aberto	Côncavo-c onvexo	1 colateral em arco aberto

Fonte: A autora

Estas características morfológicas detalhadas são cruciais para a identificação precisa e classificação das espécies de *Kalanchoe*. No presente estudo, também foram observados propágulos foliares emergindo das estruturas secas das inflorescências terminais após o período de floração. Este é um dos métodos de propagação de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*. Este tipo de propagação floral ainda não havia sido descrito na literatura.

A característica de *K. daigremontiana* ser monocárpica e multianual, junto com inflorescências terminais de pequenas flores cor-de-rosa em forma de sino, foi descrita por Akulova-Barlow (2009). As características das folhas lanceoladas e serrilhadas de *K. x houghtonii*, junto com inflorescências corimbiformes de flores pendentes, tetrâmeras ou pentâmeras, com coloração vermelho escuro, também foram observadas por Herrando-Moraira *et al.* (2020) para esta espécie. As características da cor das folhas já foram descritas por Akulova-Barlow (2009), Majaz *et al.* (2011) e Bhatti *et al.* (2012). Outros autores referiram-se a ambas as espécies como *K. daigremontiana*, mas forneceram descrições e imagens de *K. x houghtonii*, como nos estudos de Liu *et al.* (2016), Chernetsky *et al.* (2018) e Zawirska-Wojtasiak *et al.* (2019).

Quando se tem a planta inteira, caracteres morfológicos podem ser suficientes para se determinar a autenticidade de uma espécie vegetal. Contudo, em se tratando de droga vegetal, que é comercializada na forma rasurada ou pulverizada, características microscópicas (marcadores botânicos) são altamente valiosas para o controle da qualidade, pois se mantêm constantes mesmo após o processamento de secagem das espécies vegetais (Manfron, 2021).

As paredes celulares epidérmicas anticlinais são delgadas em todas as espécies (Figura 8). Na literatura, foi encontrado que para *K. pinnata*, as paredes celulares epidérmicas anticlinais são sinuosas em ambas as superfícies; para *K. crenata*, as paredes celulares epidérmicas anticlinais são retas a ligeiramente sinuosas na superfície adaxial enquanto aparecem sinuosas na superfície abaxial; para *Kalanchoe pumila* Baker, as paredes celulares anticlinais variam de retas a onduladas, com a epiderme abaxial composta por células menores em comparação com as da superfície adaxial (Chernetsky; Weryszko-Chmielewska, 2008; Moreira *et al.*, 2012). A forma das paredes celulares epidérmicas anticlinais pode ser

considerada um bom parâmetro para diferenciação entre as espécies no gênero *Kalanchoe*.

A epiderme das folhas e dos caules é unisseriada com cutículas delgadas e lisas; e o mesofilo é homogêneo, com parênquima esponjoso (Figura 8). A presença de uma cutícula delgada também foi relatada para o caule de *K. daigremontiana* por Abdel-Raouf (2012). De acordo com dados da literatura, a epiderme de *K. x houghtonii* é unisseriada, e a cutícula é espessa, de lisa a levemente ondulada, com estriações distintas nas células subsidiárias e com depósitos de cera (Chernetsky et al., 2018; Chernetsky; Weryszko-Chmielewska, 2008).

Adicionalmente, segundo Chernetsky et al. (2018), três grandes feixes estão presentes nas nervuras centrais das folhas de *K. x houghtonii*, diferente do que é encontrado no presente estudo. Secções transversais mostram feixes vasculares laterais finos rodeando os grandes feixes nas lâminas das folhas.

Os estômatos das cinco espécies são do tipo anisocítico, presentes em ambas as superfícies das folhas, descrevendo-as como anfiestomáticas (Figura 8). Essas características são comuns em espécies do gênero *Kalanchoe* e da família Crassulaceae (Chernetsky; Weryszko-Chmielewska, 2008; Chernetsky et al., 2018; Duarte; Zaneti, 2002; Metcalfe; Chalk, 1950; Moreira et al., 2012).

No presente estudo, os caules de todas as espécies mostraram uma forma circular, com várias camadas de colênquima do tipo angular e um cilindro vascular contínuo (Figura 8). Não foram encontrados tricomas nas espécies estudadas. Tricomas são raramente encontrados na família Crassulaceae (Metcalfe; Chalk, 1950). Abdel-Raouf (2012) estudou 15 espécies do gênero *Kalanchoe*, relatando tricomas em apenas três espécies, sendo elas: *Kalanchoe beharensis* Drake, *Kalanchoe tomentosa* Baker e *Kalanchoe caniflora* Adams. Chernetsky e Weryszko-Chmielewska (2008) não observaram tricomas na superfície da folha de *K. pumila*.

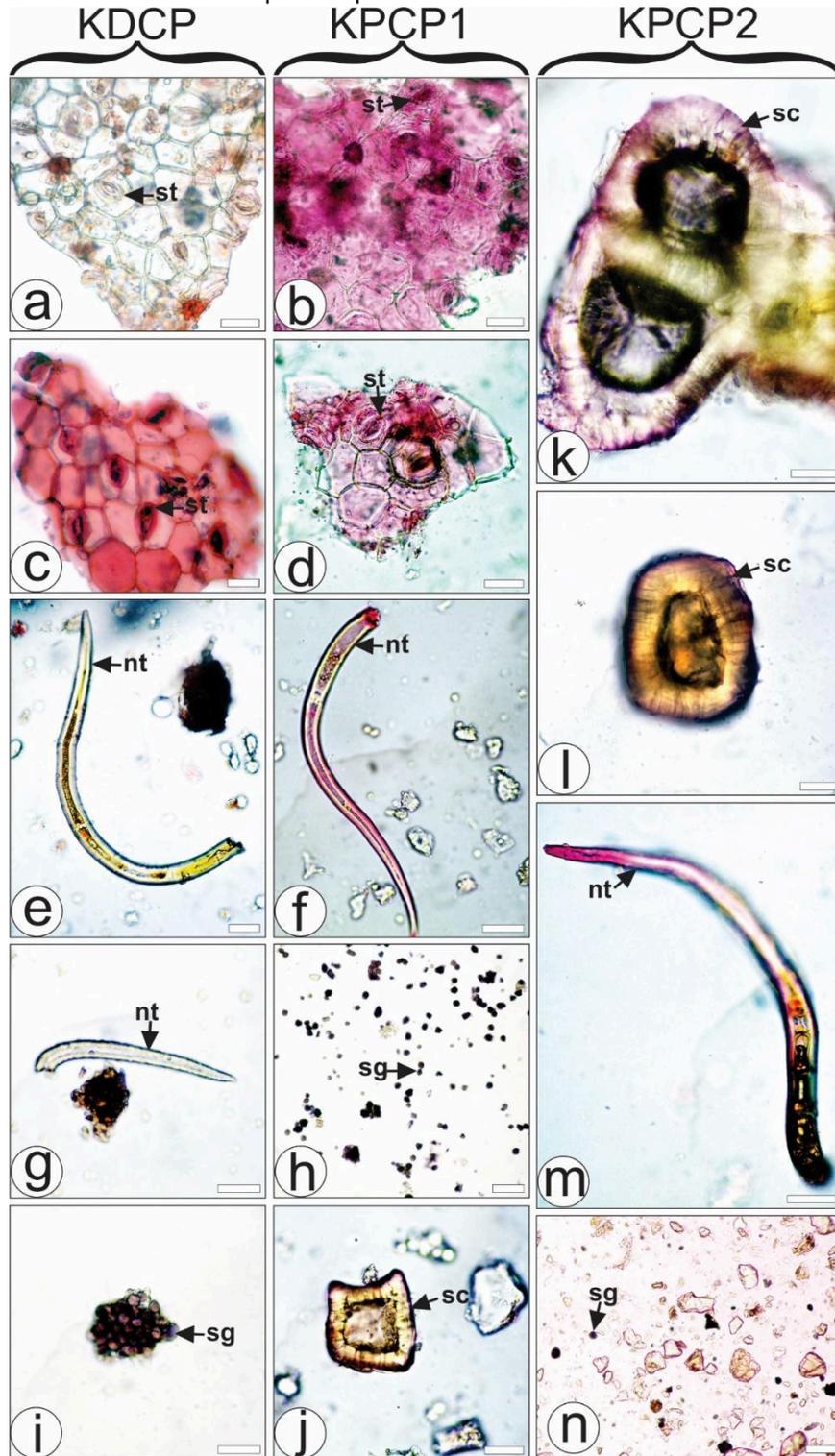
Na indústria farmacêutica e de fitoterápicos, análises botânicas e fitoquímicas são essenciais para garantir a qualidade e segurança dos produtos acabados. A importância de tais avaliações é particularmente enfatizada quando surgem discrepâncias, como é o caso do produto comercial que não corresponde aos extratos das espécies de *Kalanchoe*.

Dessa forma, a análise farmacobotânica, como ilustrada na Figura 9, revela adulterações nos produtos comerciais quando comparados ao material vegetal autenticado. No produto comercial de *K. daigremontiana* (KDCP) são encontradas: células epidérmicas com paredes anticlinais espessas e retas, bem como estômatos do tipo paracítico (Figura 9a,c), e tricoma tector simples (Figura 9e,g). Essas características são diferentes daquelas encontradas no material autenticado (Figura 8b,g; Quadro 8). Grãos de amido também são detectados na amostra KDCP (Figura 9i), esses tipos de amido foram previamente detectados em *K. daigremontiana* (Andrade *et al.*, 2024).

No produto comercial de *K. pinnata* da marca 1 (KPCP1) foram encontradas: células epidérmicas com paredes anticlinais espessas e retas (Figura 9b,d), tricoma tector simples (Figura 9f) e células pétreas (braquiesclereídes) (Figura 9j). Essas características não são encontradas no material autenticado (Figura 8d,i; Quadro 8). Além disso, grãos de amido poliédricos são encontrados na amostra KPCP1 (Figura 9h), é interessante apontar que grãos de amido poliédricos são comumente encontrados nas sementes da espécie *Zea mays* L. (Poaceae) (SBFGnosia, 2024).

No produto comercial de *K. pinnata* da marca 2 (KPCP2) foram encontrados: tricoma tector simples (Figura 9m), células pétreas (braquiesclereídes) (Figura 9k,l) e grãos de amido arredondados (Figura 9n). Tricomas tectores e braquiesclereídes não são encontrados no material autenticado (Figura 8d,i,n,v-x,e'; Quadro 8).

Figura 9 – Análise botânica microscópica de produtos comerciais de *Kalanchoe*.



Fonte: A autora

Notas: Produto comercial de *Kalanchoe daigremontiana* (KDCCP), produto comercial de *Kalanchoe pinnata* marca 1 (KPCP1) e produto comercial de *Kalanchoe pinnata* marca 2 (KPCP2). Azul de Astra e fucsina básica (b,d,e-g,j,k-m); safranina (a,c); solução de iodo (h,i,n). nt: tricoma não glandular; sc: célula esclereídea; sg: grão de amido; st: estômatos. Barra de escala: 25 μm (b-g,i-m); 50 μm (a,n); 100 μm (h).

Adulterantes foram detectados nas três amostras comerciais (KDCP, KPCP1 e KPCP2), enfatizando que estas não têm como objetivo comercializar um produto de qualidade, e mais importante, com a espécie botânica correta. Mundialmente, a quantidade de produtos herbais adulterados varia significativamente entre os continentes, com a África em primeiro lugar (60%), seguida pela América do Sul (57%), Austrália (44%), Europa (28%), América do Norte (27%) e Ásia (25%). Fica claro que a baixa qualidade das plantas medicinais e dos medicamentos à base de plantas, bem como de seus produtos derivados, é um problema global. Características microscópicas são muito úteis para a análise de materiais vegetais secos, cujas características não são significativamente alteradas em relação ao material fresco (Manfron, 2021).

Para complementar e determinar a qualidade e autenticidade do produto comercial, combinar essas observações microscópicas com análises fitoquímicas é essencial.

2.2.2 Análise Química

Para além do exame microscópico, a análise química pode aprimorar a caracterização da composição dos extratos. Flavonoides e ácidos fenólicos, metabólitos secundários prevalentes em plantas, são utilizados para gerar impressões digitais (*fingerprints*) para identificação química. A Cromatografia de Camada Delgada de Alta Performance (CCD-AP) se destaca entre as técnicas por sua ampla aplicação em identificação, para a qual diversos métodos foram estabelecidos.

Os dados sobre a composição química das espécies de *Kalanchoe* em bancos de dados científicos dos últimos 40 anos relataram 124 compostos, principalmente compostos fenólicos, e em sua maioria presentes em *K. daigremontiana* e *K. pinnata*. Os compostos fenólicos são considerados importantes constituintes bioativos, responsáveis pelas propriedades medicinais atribuídas ao gênero *Kalanchoe*. Flavonoides, incluindo derivados glicosilados de quercetina, patuletina e campeferol, foram identificados e relatados em extratos foliares aquosos, hidroalcoólicos e alcoólicos de várias espécies de *Kalanchoe*. Derivados específicos de quercetina, como quercetina 3-O-ramnopiranosídeo (quercitrina) e quercetina 3-O- α -L-arabinopiranosil (1 \rightarrow 2) α -L-ramnopiranosídeo (QAR), são

destacados por suas propriedades bioativas, incluindo antimicrobianas, antivirais, anti-inflamatórias, antioxidantes e efeitos de cicatrização de feridas (Andrade *et al.*, 2023; García-Pérez *et al.*, 2020; Nascimento *et al.*, 2023). Portanto, o presente estudo focou especificamente nos compostos fenólicos.

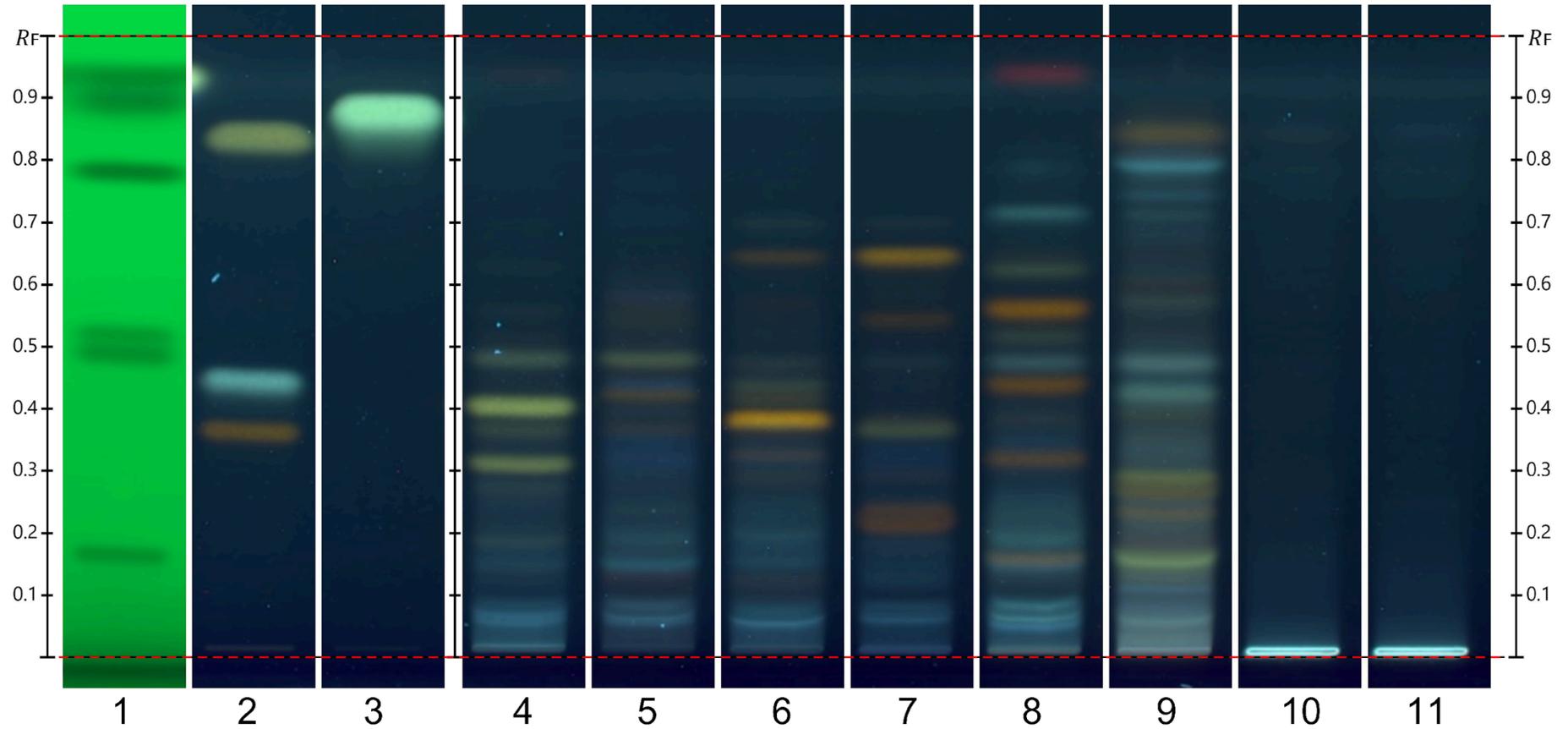
Recentemente, um método que separa ácidos fenólicos, flavonoides não glicosilados e flavonoides altamente glicosilados foi relatado usando um sistema CCD-AP *offline* (Perera *et al.*, 2021). O método *offline* tem sido usado com sucesso para autenticar outras espécies e amostras comerciais (Antunes *et al.*, 2023). No presente estudo, pela primeira vez, o método foi transferido para um sistema totalmente automatizado que permite a análise de múltiplas amostras com autonomia durante o processo.

A Figura 10 permite a identificação de bandas e pontos visíveis, fornecendo uma avaliação qualitativa dos compostos nos padrões e amostras comerciais. Sob luz UV (366 nm), o reagente NP destacou a presença de compostos fenólicos, particularmente flavonoides, nas espécies de *Kalanchoe*. Após a aplicação de anisaldeído sobre a placa tratada com NP e aquecimento, foi possível identificar a presença de compostos apresentando funções aldeídos e cetonas, reforçando que os compostos presentes nos extratos poderiam estar relacionados à classe dos flavonoides.

A comparação entre as amostras dos cinco extratos de *Kalanchoe* usando análise CCD-AP revelou diferenças em seus perfis, indicativas da presença de compostos únicos entre as espécies. Também permitiu identificar correspondências, fornecendo *insights* sobre a autenticidade e qualidade dos produtos comerciais.

As amostras comerciais mostraram diferenças em relação às amostras de extratos de *Kalanchoe*. Não foi possível identificar a presença de flavonoides nas amostras comerciais analisadas neste estudo. Consequentemente, a autenticidade e a origem adequada das espécies de *Kalanchoe* em amostras comerciais não puderam ser validadas, pois não coincidiram com os respectivos extratos das plantas utilizadas como referência de comparação. Não há dados na literatura que apresentem o perfil cromatográfico por CCD-AP para espécies de *Kalanchoe*.

Figura 10 – Perfil químico por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Performance (CCD-AP) de espécies de *Kalanchoe*

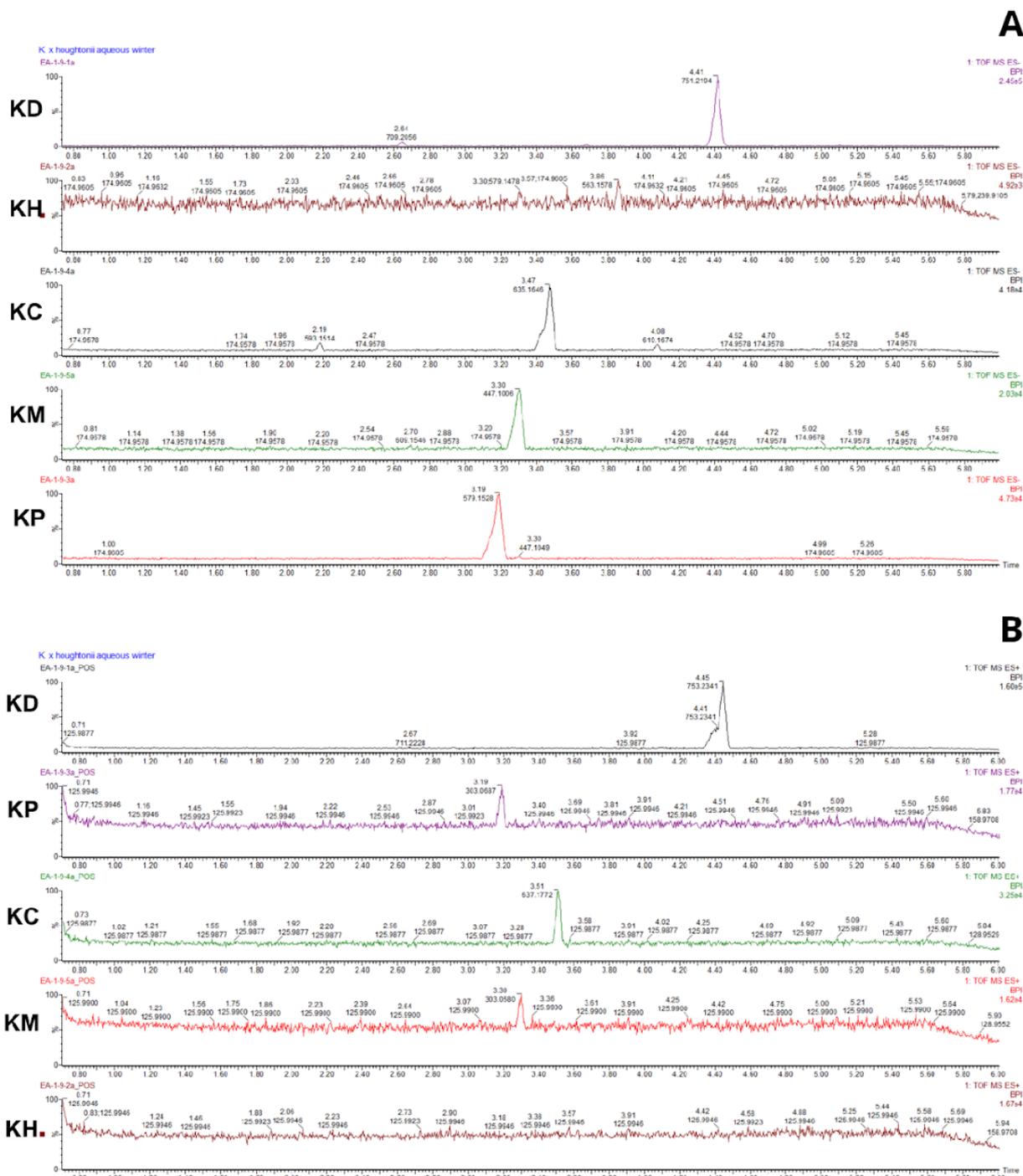


Fonte: A autora

Notas: 1: SST; 2: Acido clorogenico, rutina, quercetina; 3: campeferol; 4: extrato aquoso de *K. daigremontiana*; 5: extrato aquoso de *K. x houghtonii*; 6: extrato aquoso de *K. pinnata*; 7: extrato aquoso de *K. marmorata*; 8: extrato aquoso de *K. crenata*; 9: produto comercial de *K. daigremontiana*; 10: produto comercial de marca 1 de *K. pinnata*; 11: produto comercial de marca 2 de *K. pinnata*.

Para complementar a primeira análise cromatográfica (CCD-AP), foi realizada uma avaliação comparativa usando CLUE-EM/EM (modos de íon positivo e negativo). A Figura 11 mostra os cromatogramas de picos de base (*Base Peak Chromatogram*, BPC) dos extratos das espécies de *Kalanchoe*. Curiosamente, os extratos de cada espécie apresentaram dominância de apenas 1 composto principal e não houve semelhanças entre o metabólito principal de cada espécie.

Os cromatogramas resultantes exibiram variações significativas entre a constituição química das espécies de *Kalanchoe*, como evidenciado pelos perfis distintos das substâncias. Os achados são consistentes com a pesquisa conduzida por Garcia-Perez e colaboradores (2021b), mostrando que as espécies de *Kalanchoe* são ricas em compostos fenólicos bioativos. Em seus estudos, uma abordagem combinatória envolvendo metabolômica não direcionada de três espécies de *Kalanchoe* (*K. daigremontiana*, *K. delagoensis* e *K. x houghtonii*) e *machine learning* foi empregada para investigar os fatores que influenciam a biossíntese de compostos fenólicos. Neste estudo, os resultados indicaram que as espécies continham uma diversidade de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, antocianinas e subfamílias como catecois, lignanas, estilbenos, flavonas, flavanonas. Esse resultado ajuda a entender que a biossíntese de compostos fenólicos em *Kalanchoe* dá suporte ao relevante potencial medicinal do gênero.

Figura 11 – Cromatogramas de extratos de espécies de *Kalanchoe*

Fonte: A autora

Notas: ESI modo negativo (A), ESI modo positivo (B). KD: *Kalanchoe daigremontiana*; KH: *Kalanchoe x houghtonii*; KC: *Kalanchoe crenata*; KM: *Kalanchoe marmorata*; KP: *Kalanchoe pinnata*.

Um total de 14 compostos principais (6 de *K. daigremontiana*, 4 de *K. crenata*, 3 de *K. marmorata* e 1 de *K. pinnata*) foram sugeridos identificação e selecionados como possíveis marcadores químicos. O processo de tentativa de identificação

envolveu a análise dos padrões de fragmentação combinados com a literatura disponível sobre o gênero *Kalanchoe* (Tabela 1).

Tabela 1 – Potenciais marcadores químicos para diferenciação de espécies de *Kalanchoe*

nº	Tempo de retenção (min)	m/z [M-H] ⁻	m/z [M+H] ⁺	Espécie
1	0,98	623,1360	625,1526	<i>K. marmorata</i>
2	1,66	609,1445	611,1727	<i>K. crenata</i>
3	2,20	593,1514	595,1681	<i>K. crenata</i>
4	2,66	709,2056	711,2228	<i>K. daigremontiana</i>
5	2,70	609,1596	611,1626	<i>K. marmorata</i>
6	3,19	579,1528	581,1891	<i>K. pinnata</i>
7	3,30	447,1006	449,1178	<i>K. marmorata</i>
8	3,49	635,1646	637,1772	<i>K. crenata</i>
9	3,70	751,2138	753,2341	<i>K. daigremontiana</i>
10	3,87	751,2194	753,2285	<i>K. daigremontiana</i>
11	4,09	619,1673	621,1852	<i>K. crenata</i>
12	4,25	781,2288	783,2523	<i>K. daigremontiana</i>
13	4,44	751,2194	753,2341	<i>K. daigremontiana</i>
14	5,06	823,2378	825,2578	<i>K. daigremontiana</i>

Fonte: A autora

No processo de tentativa de identificação dos 14 compostos, torna-se imperativo alinhar as razões massa/carga (m/z) tanto para [M-H]⁻ quanto para [M+H]⁺ com compostos reconhecidos tipicamente identificados no gênero *Kalanchoe*, conforme a literatura relacionada. Para os valores de m/z específicos associados às espécies, as identificações propostas são baseadas em substâncias semelhantes encontradas nas espécies de *Kalanchoe* e compostos fenólicos bioativos

relacionados. Os dados de fragmentação MS^E revelaram a presença de m/z [M-H]⁻: 301, m/z [M+H]⁺: 303 para os compostos de 1 a 3 e de 5 a 8; e m/z [M-H]⁻: 285, m/z [M+H]⁺: 287 para os compostos 4 e de 9 a 14, sugerindo, respectivamente, o núcleo de quercetina (Chen *et al.*, 2016) e campeferol (Tsimogiannis *et al.*, 2007).

As substâncias observadas nos extratos de *K. marmorata* e de *K. pinnata*, bem como as encontradas no extrato de *K. crenata* com m/z [M-H]⁻: 609,1445; 593,1514; 635,1646; [M+H]⁺: 611,1727; 595,1681; 637,1772 podem ser representativas de derivados glicosilados de quercetina descritos em estudo com extratos aquosos de *K. brasiliensis* e *K. pinnata* (de Araújo *et al.*, 2019). A substância de m/z [M-H]⁻: 593,1514; [M+H]⁺: 595,1681 presente no extrato de *K. crenata* é sugestiva possivelmente de quercetin-3-O-deoxihexose(1-2) deoxy hexoside, composto previamente descrito por Nielsen *et al.* (2005) em flores de variedades da espécie *K. blossfeldiana*.

A substância presente no extrato de *K. marmorata* com m/z [M-H]⁻: 447,1006; [M+H]⁺: 449,1178 potencialmente sugere um flavonol glicosilado, possivelmente quercetina 7-O-ramnosídeo (vincetoxincosídeo b) ou quercitrina (Xiao *et al.*, 2018). A substância de m/z [M-H]⁻: 609,1596; [M+H]⁺: 611,1626 presente no extrato de *K. marmorata* é sugestiva de um flavonol glicosilado, possivelmente quercetina 3-O-rutinosídeo, conhecida como rutina.

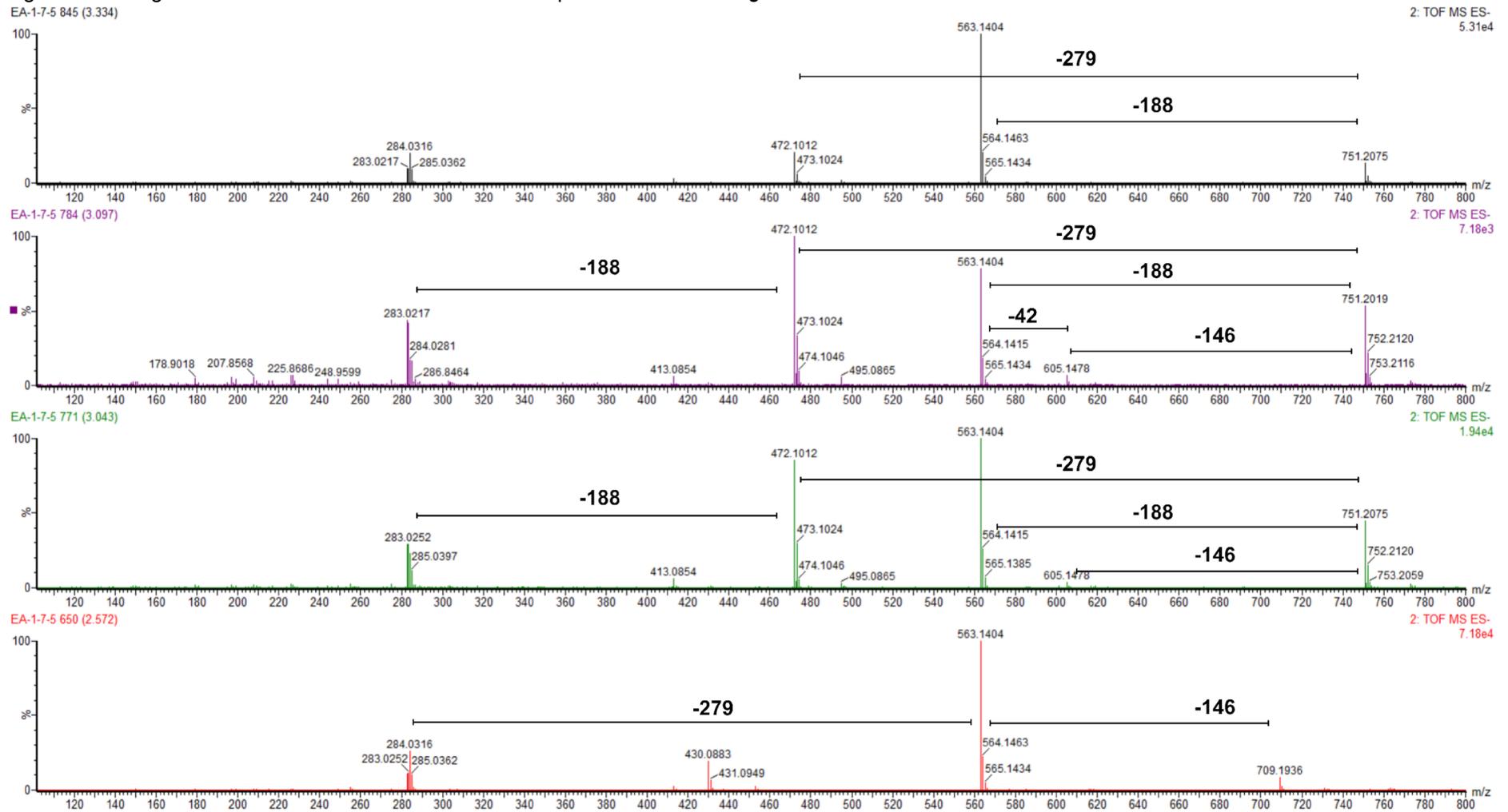
Em todas as substâncias observadas no extrato de *K. daigremontiana* e também a substância observada em *K. crenata* com m/z [M-H]⁻: 619,1673; [M+H]⁺: 621,1852, sugere-se a identificação de formas de derivados glicosilados de campeferol. As substâncias observadas no extrato de *K. daigremontiana* também implicam flavonoides altamente glicosilados ou compostos polifenólicos maiores (de Araújo *et al.*, 2019; Stefanowicz-Hajduk *et al.*, 2020; Ürményi *et al.*, 2016; Beszterda; Frański, 2021). A fragmentação de massas das substâncias observadas para *K. daigremontiana* é apresentada na figura 12.

É importante ressaltar que não há relatos na literatura de identificação sobre as massas observadas para a espécie *Kalanchoe daigremontiana*. No entanto, como essas massas parecem corresponder às substâncias majoritárias da espécie, os fragmentos de massas observados foram interpretados com base na literatura disponível para outras espécies de *Kalanchoe* e/ou outros compostos fenólicos de plantas. A perda de [M - 42]⁻ indica a remoção de um grupo acetato. A perda de [M

- 146]⁻ reflete a perda de uma unidade de desoxi-hexose. A perda de [M - 162]⁻ indica a eliminação de uma unidade de hexose. A remoção de [M - 188]⁻ está associada a um grupo acetil-desoxi-hexose. Por fim, a perda de [M - 279]⁻ sugere a eliminação de uma unidade diglicosil. Essas perdas são consistentes com estruturas de flavonoides e compostos glicosilados previamente descritos na literatura (Beszterda; Frański, 2021; Nielsen *et al.*, 2005; Ürményi *et al.*, 2016).

Flavonoides, incluindo derivados de quercetina e campeferol, foram identificados e relatados em extratos aquosos de folhas de *K. daigremontiana* e *K. pinnata* (Andrade *et al.*, 2023; García-Perez *et al.*, 2020). Esses resultados adicionam ao entendimento dos compostos fenólicos em espécies de *Kalanchoe*, apoiando o relevante potencial medicinal deste gênero. As tentativas de identificações necessitam de confirmação adicional por meio de comparação com padrões e análise espectroscópica detalhada.

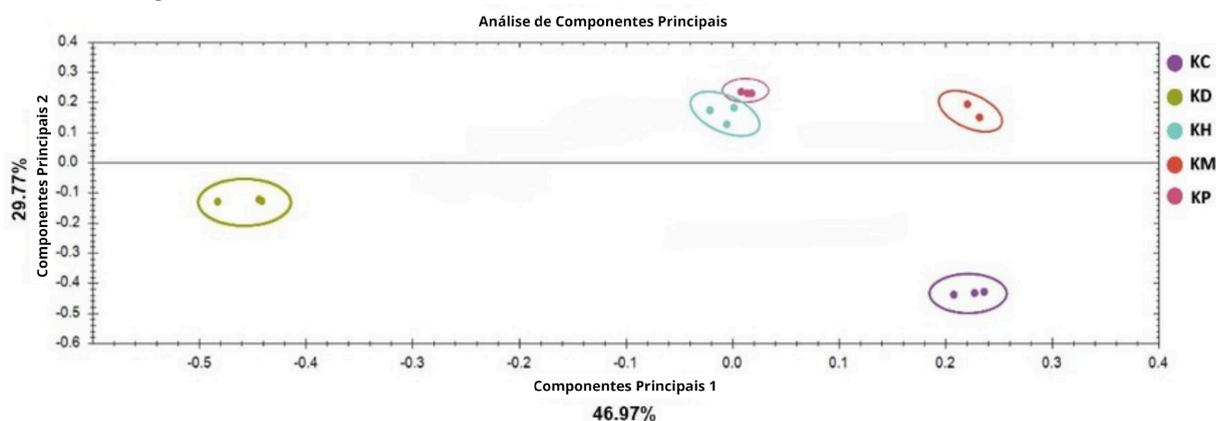
Figura 12 – Fragmentos de massas das substâncias da espécie *Kalanchoe daigremontiana*.



Fonte: A autora

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada para identificar as diferenças nos perfis metabólicos entre as espécies de *Kalanchoe* e seus respectivos produtos comerciais. Dados químicos dos extratos de cinco espécies de *Kalanchoe* (*K. crenata* (KC), *K. daigremontiana* (KD), *K. marmorata* (KM), *K. pinnata* (KP) e *K. x houghtonii* (KH)), e produtos comerciais (CP) (KDCP, KPCP1 e KPCP2) foram analisados e comparados. Na Figura 13, é possível ver que as amostras são exibidas essencialmente em cinco grupos. No meio do gráfico, é possível observar que as amostras de *K. pinnata* e *K. x houghtonii* apresentam perfil químico semelhante, mas diferente das outras três espécies analisadas, mostrando diferenças químicas entre as espécies.

Figura 13 – Análise de componentes principais dos extratos aquosos de *Kalanchoe* por CLUE-EM no modo ESI negativo.



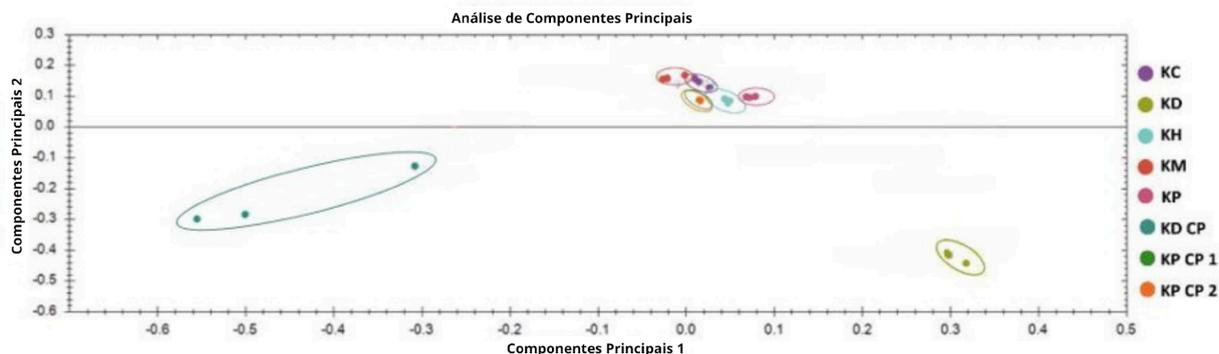
Fonte: A autora

Notas: KC: *Kalanchoe crenata*; KD: *Kalanchoe daigremontiana*; KH: *Kalanchoe x houghtonii*; KM: *Kalanchoe marmorata*; KP: *Kalanchoe pinnata*.

Os padrões distintos de agrupamento observados no gráfico PCA indicam diferenças específicas de cada espécie na composição de metabólitos, o que contribui significativamente para a compreensão da diversidade química das espécies de *Kalanchoe*. Essa análise fornece informações valiosas sobre as variações de metabólitos entre diferentes espécies, destacando a utilidade potencial do perfilamento metabólico como uma ferramenta para identificação e diferenciação de espécies (Antonio *et al.*, 2020; Kiran *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2012).

No entanto, quando os produtos comerciais são adicionados à análise, o perfil PCA muda, conforme mostrado na Figura 14.

Figura 14 - Análise de componentes principais dos extratos aquosos de *Kalanchoe* e produtos comerciais por CLUE-EM no modo ESI negativo.



Fonte: A autora

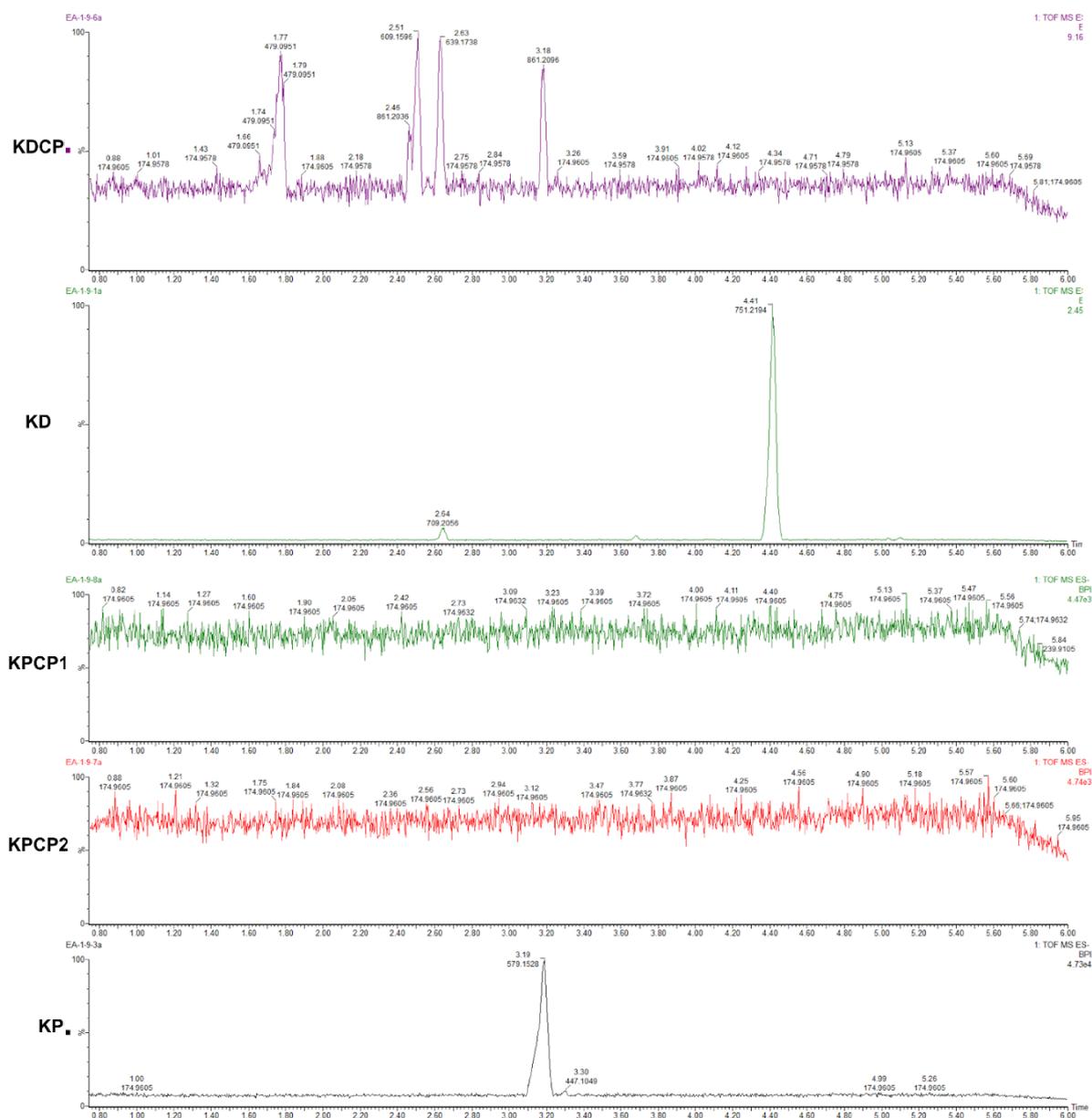
Notas: KC: *Kalanchoe crenata*; KD: *Kalanchoe daigremontiana*; KH: *Kalanchoe x houghtonii*; KM: *Kalanchoe marmorata*; KP: *Kalanchoe pinnata*; KD CP: produto comercial de *K. daigremontiana*; KPCP1: produto comercial de *K. pinnata* 1; KPCP2: produto comercial de *K. pinnata* 2.

A análise indicou que o perfil metabólico de *K. daigremontiana* é distintamente diferente das outras espécies bem como das amostras comerciais rotuladas como possuindo extrato de *K. daigremontiana*. A análise dos cromatogramas dos produtos comerciais mostrou uma completa ausência de metabólitos principais presentes nos extratos de *Kalanchoe*, mesmo quando testados em uma concentração 10 vezes maior (Figura 15).

A análise de produtos comerciais declarados como preparados a partir de *K. daigremontiana* e *K. pinnata* apresentou perfis de metabólitos marcadamente diferentes dos respectivos extratos. Existem várias explicações possíveis para essa discrepância, incluindo diferenças no manejo das plantas, adulterações e até mesmo a troca de espécies (Snoussi *et al.*, 2021).

Os achados descritos para os extratos de *Kalanchoe* e seus produtos comerciais confirmam a necessidade de uma caracterização abrangente e controle de qualidade na produção de medicamentos fitoterápicos derivados de espécies de *Kalanchoe*. Diferenças na composição de produtos naturais podem ser atribuídas a vários fatores, incluindo práticas agrícolas, métodos de extração, técnicas de preparação e condições de armazenamento, que podem contribuir para variações no conteúdo de compostos entre diferentes lotes, influenciando potencialmente a atividade fisiológica ou farmacológica dos produtos. Portanto, a implementação de análise metabolômica não direcionada pode servir como uma ferramenta valiosa para melhorar a qualidade desses produtos (Mattoli; Gianni; Burico, 2023).

Figura 15 – Cromatogramas de extratos aquoso de *Kalanchoe daigremontiana* e *Kalanchoe pinnata* e seus respectivos produtos comerciais.



Fonte: A autora

Notas: KDCP: produto comercial de *K. daigremontiana*; KD: extrato aquoso de *K. daigremontiana*; KPCP1: produto comercial de *K. pinnata* marca 1; KPCP2: produto comercial de *K. pinnata* marca 2; KP: extrato aquoso de *K. pinnata*.

CAPÍTULO 3 - ANÁLISE INTEGRADA PARA DIFERENCIAÇÃO PRECISA ENTRE *Kalanchoe daigremontiana* E *Kalanchoe* × *houghtonii*

A exploração de plantas medicinais é dificultada pela existência de múltiplas espécies que compartilham nomes comuns ou características morfológicas, levando a confusões e potenciais erros perigosos durante a pesquisa preliminar (Akentieva *et al.*, 2021; Chandana; Morlock, 2021).

Um exemplo claro dessa confusão é encontrado no gênero *Kalanchoe*, renomado por suas aplicações terapêuticas em diferentes culturas. Espécies como *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* são conhecidas como "folha-milagrosa" por suas pronunciadas propriedades curativas (Akulova-Barlow, 2009; Bhavsar *et al.*, 2018; Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2016; Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2017; Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2018; Molina *et al.*, 2019; Stefanowicz-Hajduk *et al.*, 2020; Zawirska-Wojtasiak *et al.*, 2019). No entanto, seus nomes vernáculos compartilhados e semelhanças morfológicas frequentemente resultam em sua identificação e uso equivocados, levantando preocupações sobre a eficácia e segurança do tratamento.

Com sua ampla distribuição e propriedades medicinais reconhecidas, *K. daigremontiana* tem sido foco de extensa pesquisa. Estudos documentaram suas atividades antioxidante, citotóxica, antimicrobiana, anti-inflamatória e antiviral, além de seus efeitos inibitórios sobre as enzimas trombina e plasmina (Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2016; Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2017; Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2018; Molina *et al.*, 2019; Quintero *et al.*, 2021; Stefanowicz-Hajduk *et al.*, 2020; Ürményi *et al.*, 2016).

Por outro lado, *K. x houghtonii*, uma espécie artificial da hibridização de *K. daigremontiana* e *K. delagoensis*, tem sido menos estudada. Inicialmente não reconhecida e erroneamente nomeada devido à sua semelhança próxima com suas espécies parentais, esse híbrido foi oficialmente descrito apenas em 2006 (Herrando-Moraira *et al.*, 2020). Sua capacidade de auto propagação através de propágulos de folhas, um traço herdado de *K. daigremontiana*, levou ao seu nome popular "mãe-de-milhares". Infelizmente, essa semelhança também alimentou a intercambialidade e confusão entre essas espécies no uso medicinal, destacado pelo relato errôneo em vários estudos (Chernetsky *et al.*, 2018; Quintero *et al.*, 2021).

Dado esse cenário de confusão e o significativo potencial medicinal dessas espécies, o presente estudo busca elucidar as distinções histoquímicas, químicas e biológicas entre *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*. Ao avaliar suas estruturas histoquímicas, identificar os principais constituintes químicos e analisar os efeitos biológicos de seus metabólitos secundários, este estudo visa fornecer uma base científica para a localização e identificação dos metabólitos nos tecidos vegetais, além de suas atividades biológicas, aumentando a segurança e eficácia de seu uso medicinal.

3.1 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1 Material Vegetal

Os materiais vegetais foram coletados durante o inverno, no período de floração, para garantir um perfil fitoquímico estável. A coleta ocorreu em Ponta Grossa, Paraná, Brasil (25°5'38"S 50°12'34"W) em 2021. As espécies foram identificadas pelo Dr. Gustavo Heiden da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e pelo Dr. Vijayasankar Raman, botânico e taxonomista nacional na equipe de Serviços de Identificação Nacional na divisão APHIS-PPQ-PEIP (USDA), foram registradas e depositadas pela Dra. Rosângela Capuano Tardivo no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG) como *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H.Perrier e *Kalanchoe x houghtonii* D.B.Ward, com os números de registro 22778 e 22808, respectivamente.

O acesso aos materiais botânicos foi documentado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o registro AFDD6B4. Os extratos foram preparados triturando folhas frescas e extraíndo-as com água destilada (1:10, p/v) à temperatura ambiente em um liquidificador de alta velocidade por 5 minutos, um método projetado para se assemelhar às práticas tradicionais. Para preservar a integridade dos extratos, estes foram filtrados, liofilizados e armazenados sob refrigeração a 5 °C até a realização dos experimentos.

3.1.2 Avaliação Histoquímica

As folhas e caules de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* foram fixadas por 5 dias em uma solução de formalina: ácido acético: álcool 70% (FAA 5:5:90, v/v/v) (Johansen, 1940). Posteriormente, foram lavadas com água purificada e armazenadas em etanol 70% (v/v) (Berlyn; Miksche, 1976).

Análises histoquímicas foram realizadas em seções transversais do material armazenado. As principais classes de metabólitos secundários de *Kalanchoe* foram investigadas usando os seguintes reagentes: floroglucinol/HCl para identificar elementos lignificados (Oliveira; Akisue; Akisue, 2014), Sudan III para observar a presença de substâncias lipofílicas (Pearse, 1972), cloreto férrico 2% (v/v)

(Johansen, 1940) e dicromato de potássio 10% (v/v) para detectar compostos fenólicos (Gabe, 1968), azul de metileno 1% (v/v) para evidenciar mucilagens (Oliveira; Akisue; Akisue, 2014) e iodo 1% (v/v) para identificar a presença de amido (Johansen, 1940). As lâminas foram imediatamente fotografadas e analisadas sob um microscópio óptico acoplado com uma câmera fotográfica (modelo Olympus CX31 com unidade de controle C 7070) para uma descrição detalhada das características.

3.1.3 Análise por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Performance

Extratos secos de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* foram solubilizados em uma concentração de 10 mg/mL em água. Soluções padrão de quercetina, ácido clorogênico e campeferol foram preparadas a 0,2 mg/mL, enquanto a rutina foi preparada a 0,4 mg/mL. Para o Teste de Adequação do Sistema (*System Suitability Test*, SST), soluções padrão foram preparadas a 0,5 mg/mL para guanosina e 1,0 mg/mL para timidina e 9-hidroxi fluoreno. Foram aplicados 2 µL do SST e dos padrões e 10 µL das amostras em uma placa de sílica gel de 20 x 10 cm (comprimento x altura) (Merck) usando um amostrador automático (*Automatic TLC Sampler 4*, CAMAG) com os parâmetros descritos no capítulo <203> da Farmacopeia Americana (USP, 2017). O solvente de desenvolvimento utilizado foi composto por acetato de n-butila, metanol, água e ácido fórmico (7,5:2:1:1, v/v/v/v) (PERERA *et al.*, 2021) e a placa foi desenvolvida usando uma câmara de desenvolvimento automática (*Automatic developing chamber 2*, CAMAG).

3.1.3.1 CCD-AP-Compostos Fenólicos

Para a detecção do conteúdo fenólico, a placa foi imersa no reagente de Folin-Ciocalteu, diluído 1:10 (v:v) em metanol, usando o dispositivo de imersão (CAMAG® *Immersion Device*, CAMAG), sob condições de tempo 0 e velocidade 5. A placa foi deixada em temperatura ambiente por 30 minutos e, em seguida, imagens sob luz branca de transmissão usando um visualizador de placas (TLC *Visualizer 2*, CAMAG) foram registradas.

3.1.3.2 CCD-AP-DPPH[•]

Para testar a atividade antioxidante por CCD-AP utilizando DPPH[•], 3 mL de solução de DPPH 0,05% em metanol foram pulverizados na placa usando um Derivatizador (*Derivatizer*, CAMAG) com um bico azul ajustado para o nível de pulverização 3. Após a derivatização, a placa foi mantida no escuro por 30 minutos e, em seguida, imagens sob luz branca de transmissão usando um visualizador de placas (TLC *Visualizer 2*, CAMAG) foram registradas.

3.1.3.3 CCD-AP-ABTS^{•+}

Para o ensaio antioxidante por CCD-AP utilizando ABTS^{•+}, 3 mL de solução de ABTS 0,04% em água e posteriormente diluído 1:1 em metanol foram pulverizados na placa com o Derivatizador (*Derivatizer*, CAMAG) usando um bico amarelo ajustado para o nível de pulverização 3. Após 30 minutos, as imagens sob luz branca de transmissão foram capturadas com o visualizador de placas (TLC *Visualizer 2*, CAMAG).

3.1.4 Análises *In Vitro*

3.1.4.1 Conteúdo Total de Fenólicos

Para a quantificação *in vitro* (Swain; Hills, 1959), os extratos foram preparados em uma concentração de 1 mg/mL. Para cada ensaio, 0,5 mL do extrato foi misturado com 6,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 30 segundos, foram adicionados 2,5 mL de carbonato de sódio a 10,6% e a mistura foi incubada a 50 °C por 5 minutos. A absorbância foi medida a 715 nm. Uma curva de calibração de ácido gálico (50 a 1000 µg/mL) foi usada para quantificação. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de extrato. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata.

3.1.4.2 Redução do radical DPPH

Para o ensaio *in vitro*, a capacidade antioxidante foi avaliada usando o método DPPH• (Soares *et al.*, 1997). Foram adicionados 300 µL de extratos de amostra em concentrações variadas (40 a 400 µg/mL) e 300 µL de solução de DPPH•, misturando os tubos de ensaio e incubados por 15 minutos no escuro. Posteriormente, 200 µL de cada mistura reacional foram transferidos para uma placa de 96 poços, e a absorbância foi medida a 517 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis. Cada amostra foi analisada em triplicata, com quercetina como padrão de referência.

3.1.4.3 Redução do radical ABTS^{•+}

O radical catiônico ABTS^{•+} foi produzido misturando 5 mL de solução estoque de ABTS^{•+} com 88 µL de persulfato de potássio, permitindo que a mistura repouse no escuro a uma temperatura refrigerada por 12 horas (Pellegrini *et al.*, 1999). A solução foi então diluída com solução tampão fosfato (PBS, 10 mM) até a absorbância apropriada.

No ensaio *in vitro*, 300 µL dos extratos de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* (nas concentrações de 40 a 400 µg/mL) e 300 µL da solução ABTS^{•+} foram combinados em cada tubo. Após 30 minutos de incubação no escuro, 200 µL de cada mistura foram transferidos para uma placa de 96 poços para leitura de absorbância a 734 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis. As amostras foram testadas em triplicata, usando quercetina como padrão de referência.

3.1.5 Análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLUE-EM/EM)

Os extratos (100 µg/mL) de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* foram analisados usando um sistema UPLC Waters® I-Class acoplado a um espectrômetro de massas Waters® G2-XS Q-TOF. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna de fase reversa Acquity UPLC® BEH C₁₈ (1,7 µm, 2,1 x 100 mm), com 0,1% de ácido fórmico em água (v/v) (A) e 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila (B) como fase móvel binária. O programa de eluição por gradiente começou com 15% de B, aumentando para 30% B ao longo de 4 minutos, em seguida, para 100% B até

8,2 minutos, seguido de um retorno às condições iniciais em 0,1 minuto e condicionado por 2 minutos antes da próxima injeção. A taxa de fluxo foi de 0,45 mL/min, com um volume de injeção de 3 µL e temperatura da coluna a 30 °C.

O espectrômetro de massas operou nos modos de íon positivo e negativo, abrangendo uma faixa de m/z 50-1800, com energia de colisão para a função MS^E variando entre 35-45 V. Amostras em triplicata foram preparadas de cada extrato e os frascos foram randomizados antes da amostragem. A amostra de controle de qualidade foi preparada misturando 20 µL de cada amostra. Informações de correção de massa foram adquiridas para cada amostra com uma infusão contínua de uma solução de 0,2 ng/mL de leucina encefalina a uma taxa de fluxo de 10 µL/min, gerando um íon de referência para o modo de íon positivo ($[M+H]^+$: 556,2771) e modo de íon negativo ($[M-H]^-$: 554,2615) para garantir a precisão durante a análise. A correção de massa foi aplicada após a aquisição no *software* Progenesis.

3.1.6 Processamento de Dados e Análise Estatística

Os dados obtidos nos testes *in vitro* foram analisados usando o *software* GraphPad Prism® (versão 5.0) e expressos como média ± desvio padrão. Para determinar o CI_{50} , este foi calculado a partir de uma curva de regressão não linear, onde o eixo X consistia em concentrações em escala logarítmica e o eixo Y nas porcentagens médias de inibição de radicais antioxidantes, seguindo o tutorial fornecido pelo *software* GraphPad®.

Os dados de cromatografia líquida foram processados com o *software* MassLynx™ (versão 4.2) e posteriormente analisados usando o *software* Progenesis QI (versão 3.0.3), focando em características com um valor $p > 0,05$, abundância máxima > 1000 e tempo de retenção entre 0,75 e 6,0 minutos. A normalização dos dados foi feita em relação à intensidade total de íons por cromatograma, com Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis*, PCA) realizada para elucidar padrões e diferenças entre as amostras.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

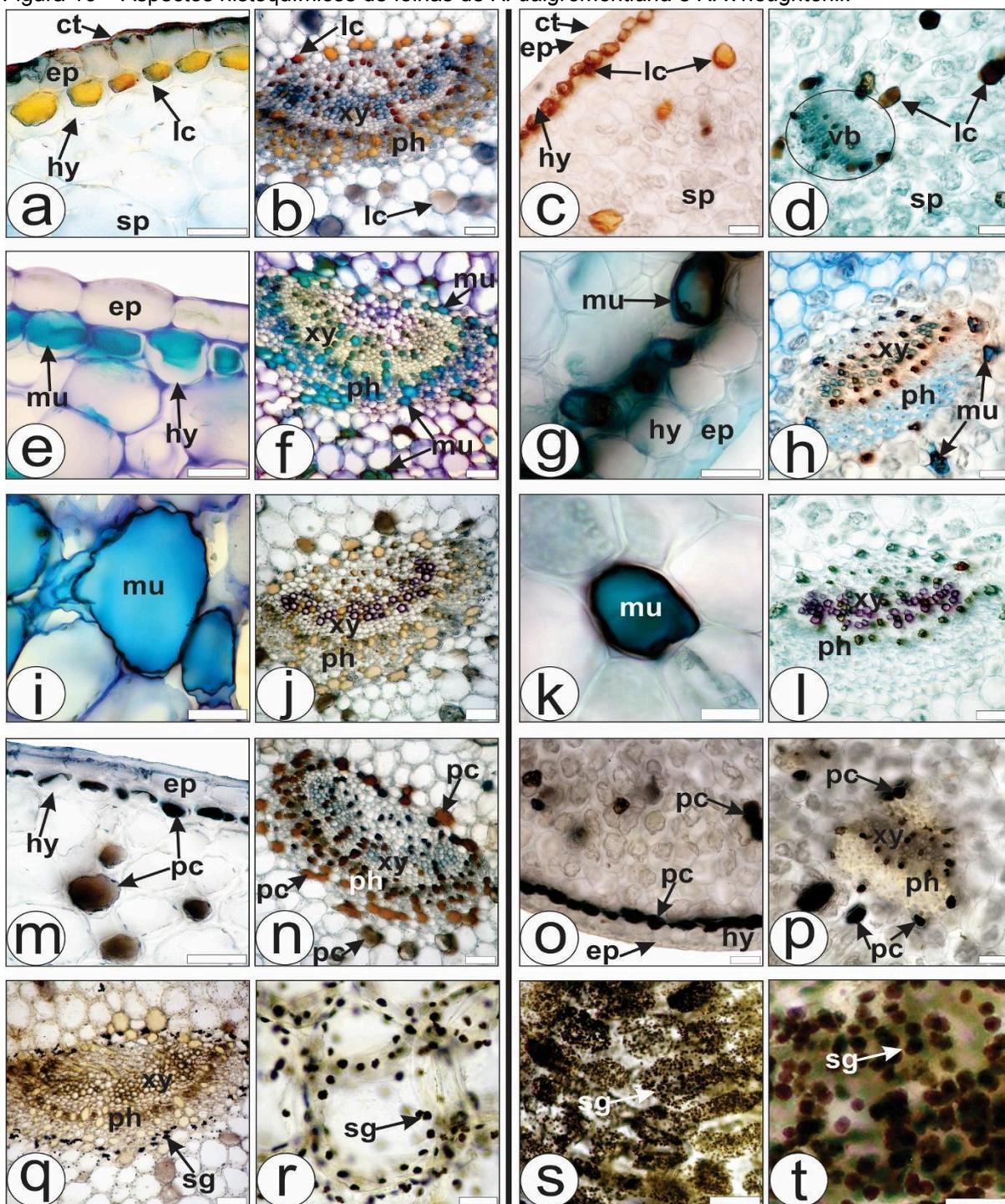
3.2.1 Avaliação Histoquímica

A cutícula das folhas de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* reagiu positivamente para compostos lipofílicos (Figura 16a,c) por meio do Sudan III, mostrando cutículas lisas e delgadas para ambas as espécies. A hipoderme das folhas de ambas as espécies reagiu com Sudan III (Figura 16a,c), cloreto férrico (Figura 16m,o), dicromato de potássio e azul de metileno (Figura 16e,g), indicando a presença de compostos lipofílicos, fenólicos e mucilaginosos, respectivamente. Para *K. daigremontiana*, essas reações ocorrem na primeira camada abaixo da epiderme (Figura 16a,e,m), enquanto para *K. x houghtonii*, essas reações ocorrem na segunda camada abaixo da epiderme (Figura 16c,g,o).

A presença de lignina é observada nos elementos de vaso do xilema das folhas de ambas as espécies estudadas (Figura 16j,l). No sistema vascular, reações positivas para compostos fenólicos foram observadas no floema e nas células parenquimatosas do xilema nas folhas de *K. daigremontiana* (Figura 16b,n). Por outro lado, para as folhas de *K. x houghtonii*, houve uma reação positiva para compostos fenólicos (Figura 16p) e lipofílicos (Figura 16d) apenas nas células parenquimatosas do xilema.

Grãos de amido armazenados nas células foram encontrados no mesófilo e no parênquima fundamental de *K. daigremontiana* (Figura 16q,r). Isso também foi observado para *K. x houghtonii*, mas a reação mostrou uma quantidade muito mais significativa de amido por célula (Figura 16s,t). Idioblastos reagiram à pesquisa de compostos fenólicos (Figura 16m-p), compostos lipofílicos (Figura 16b-d) e compostos mucilaginosos (Figura 16f,h,i,k) são observados na região do mesófilo, parênquima fundamental e próximo aos feixes vasculares em ambas as espécies.

Figura 16 – Aspectos histoquímicos de folhas de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*.



Fonte: A autora

Notas: a, b, e, f, i, j, m, n, q, r: *K. daigremontiana*; c, d, g, h, k, l, o, p, s, t: *K. x houghtonii*; a-d: Sudan III; e-h, i, k: azul de metileno; j, l: floroglucinol/HCl; m, o, p: cloreto férrico; n: dicromato de potássio; q-t: solução de iodo. ct: cutícula; ep: epiderme; hy: hipoderme; lc: compostos lipofílicos; mu: mucilagem; pc: compostos fenólicos; ph: floema; sg: grãos de amido; sp: parênquima esponjoso; vb: feixe vascular; xy: xilema. Barra de escala: 25 μm (r, t); 50 μm (a, e, g, i, k, m); 100 μm (b, c, d, f, h, j, l, n, o, p, q, s).

No que diz respeito às características dos pecíolos, a cutícula de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* é lisa e delgada (Figura 17a,c). Compostos lipofílicos (Figura 17a,b), mucilaginosos (Figura 17e,f) e fenólicos (Figura 17m,n,q,r) também são observados no pecíolo. Estes estão presentes no parênquima fundamental, próximo aos feixes vasculares, no floema e nas células parenquimatosas do xilema.

Por outro lado, no pecíolo de *K. x houghtonii*, apenas reações positivas para compostos fenólicos são vistas (Figura 17o,p,s,t). Elementos vasculares no xilema estão presentes em ambas as espécies (Figura 17i,k). Grãos de amido estão localizados ao redor dos feixes vasculares e estão dispersos no parênquima fundamental dos pecíolos de ambas as espécies (Figura 17j,l).

Os caules de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* possuem cutícula lisa e delgadas (Figura 18a,c,d). Na hipoderme, córtex e medula do caule são observados idioblastos que reagem à presença de compostos lipofílicos (Figura 18a,b), compostos mucilaginosos (Figura 18e,f) e fenólicos (Figura 18m,n,q,r) em *K. daigremontiana*.

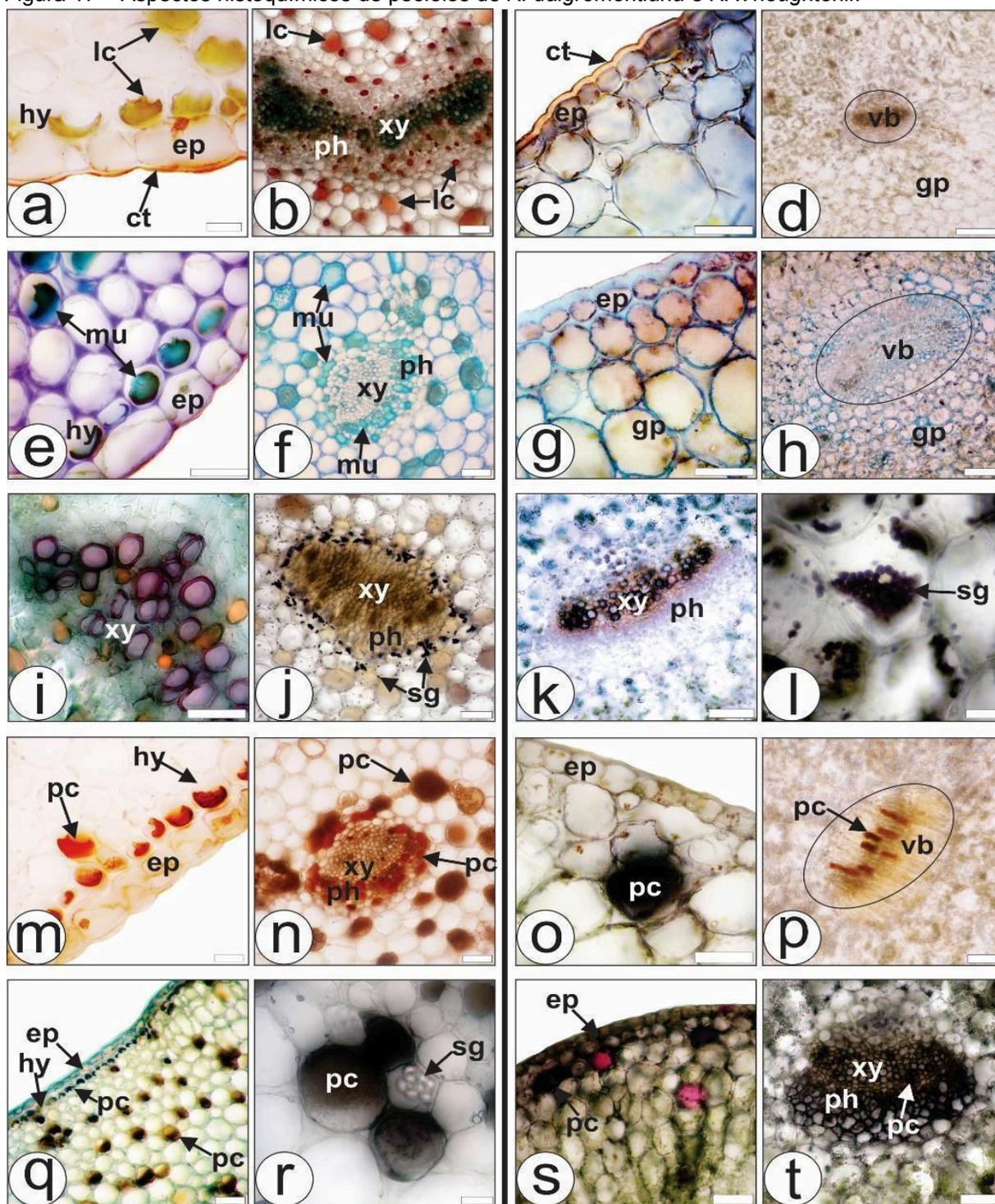
Para *K. x houghtonii*, os idioblastos são encontrados em menores quantidades no córtex e na medula e reagem apenas à presença de compostos fenólicos (Figura 18o,p,s). Grãos de amido são encontrados no córtex e na medula de *K. daigremontiana* (Figura 18i,j) e *K. x houghtonii* (Figura 18k,l). No entanto, *K. x houghtonii* exibe uma maior quantidade de amido nas células (Figura 18k,l).

A aplicação de testes histoquímicos tem sido fundamental para localizar os constituintes químicos em elementos e estruturas botânicas de espécies vegetais, destacando a presença de compostos lipofílicos, fenólicos, mucilaginosos e outras características-chave usando vários reagentes específicos (Manfron, 2021).

Nos testes histoquímicos, o Sudan III é um reagente que reage com compostos lipídicos, corando de vermelho ou vermelho-alaranjado; os compostos fenólicos são visualizados pela solução de cloreto férrico, que produz uma cor marrom escuro ou preto, ou pela solução de dicromato de potássio, que adquire uma cor marrom ou marrom-avermelhada; e o azul de metileno é um reagente que revela células contendo mucilagem em azul (Almeida *et al.*, 2023).

As reações positivas observadas para *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii* ressoam com observações da literatura (Abdel-Raouf, 2012), sugerindo uma ocorrência generalizada desses compostos dentro do gênero.

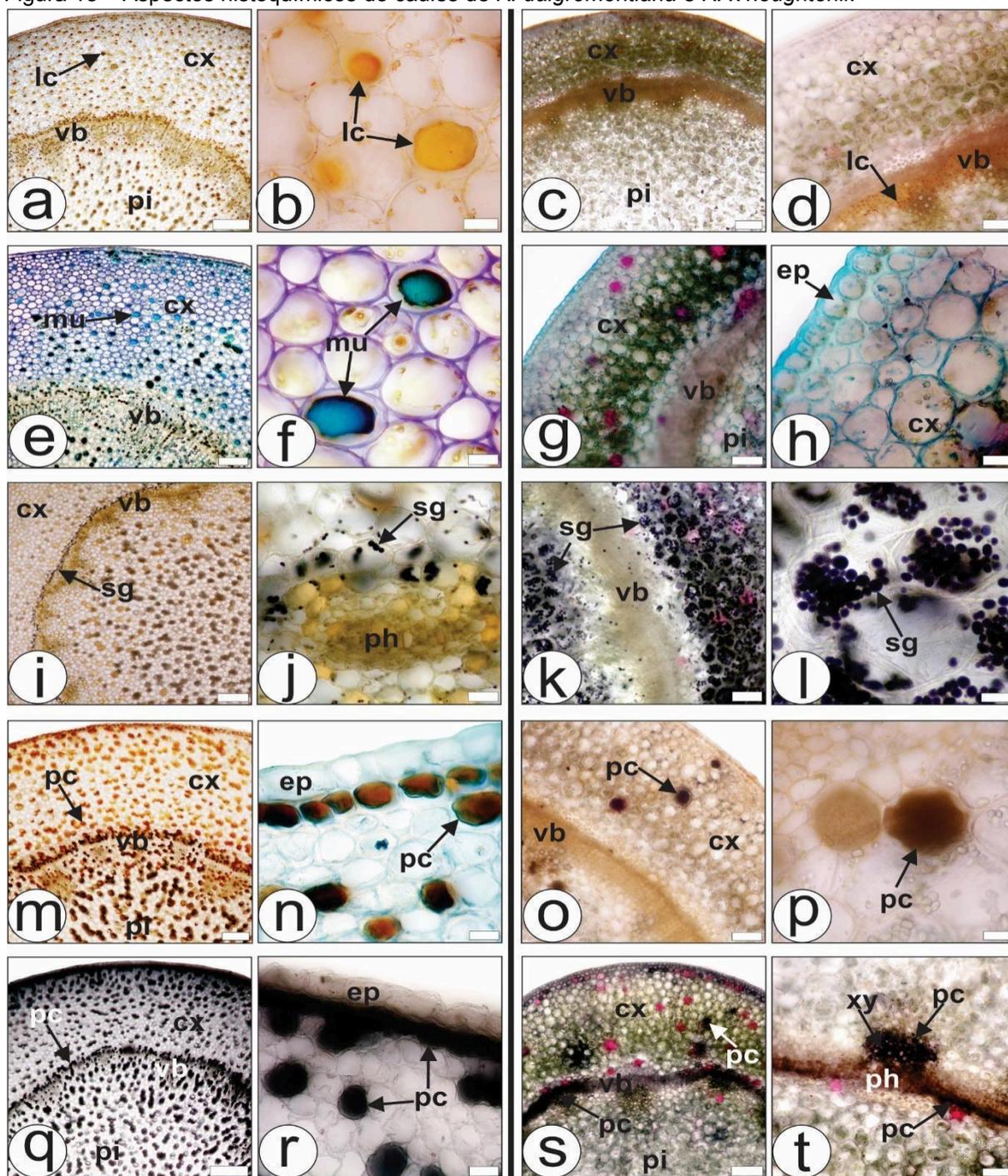
Figura 17 – Aspectos histoquímicos de pecíolos de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*.



Fonte: A autora

Notas: a, b, e, f, i, j, m, n, q, r: *K. daigremontiana*; c, d, g, h, k, l, o, p, s, t: *K. x houghtonii*; a-d: Sudan III; e-h: azul de metileno; i, k: floroglucinol/HCl; j, l: solução de iodo; o, r-t: cloreto férrico; m, n, p, q: dicromato de potássio. ct: cutícula; ep: epiderme; gp: parênquima fundamental; hy: hipoderme; lc: compostos lipofílicos; mu: mucilagem; pc: compostos fenólicos; ph: floema; sg: grãos de amido; vb: feixe vascular; xy: xilema. Barra de escala: 25 µm (l, r); 50 µm (c, e, g, i, o); 100 µm (a, b, f, h, j, k, m, n, p, q, s, t); 250 µm (d).

Figura 18 – Aspectos histoquímicos de caules de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*.



Fonte: A autora

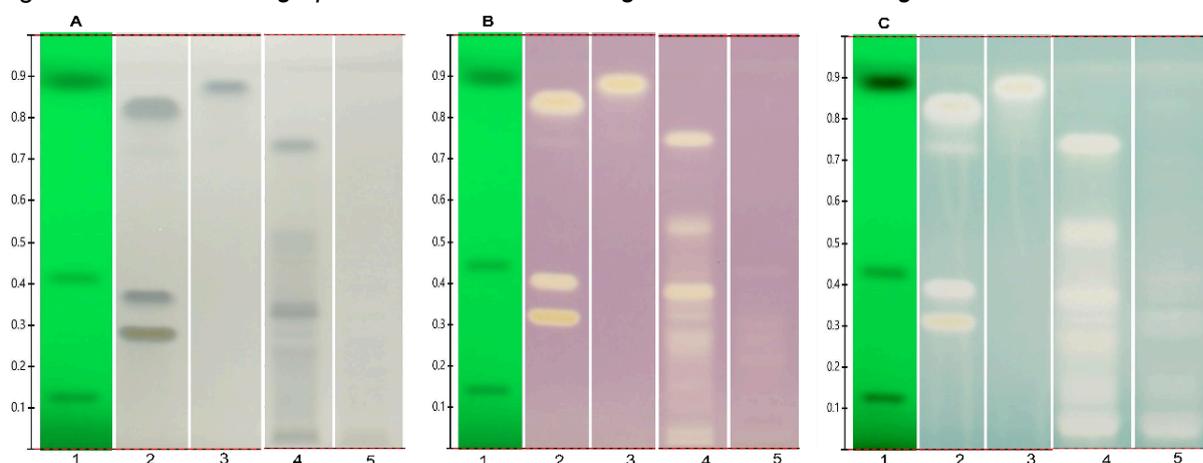
Notas: a, b, e, f, i, j, m, n, q, r: *K. daigremontiana*; c, d, g, h, k, l, o, p, s, t: *K. x houghtonii*; a-d: Sudan III; e-h: azul de metileno; i-l: solução de iodo; m-p: dicromato de potássio; q-t: cloreto férrico. cx: córtex; ep: epiderme; pc: compostos fenólicos; lc: compostos lipofílicos; mu: mucilagem; ph: floema; pi: medula; sg: grãos de amido; vb: feixe vascular; xy: xilema. Barra de escala: 25 μm (b, f, h, l, n, p, r); 100 μm (d, g, j, k, o, t); 250 μm (a, c, e, i, m, q, s).

3.2.2 Análises Químicas e Potencial Antioxidante

3.2.2.1 Análise por CCD-AP e CLUE-EM/EM

Os extratos de ambas as espécies foram analisados para destacar os compostos polifenólicos e a capacidade de eliminação de radicais (Figura 19). Além disso, os perfis químicos dos extratos das duas espécies foram caracterizados por CLUE-EM e tentativamente identificados como derivados de campeferol glicosilados, com base nos dados de fragmentação EM (Figura 20, Tabela 2).

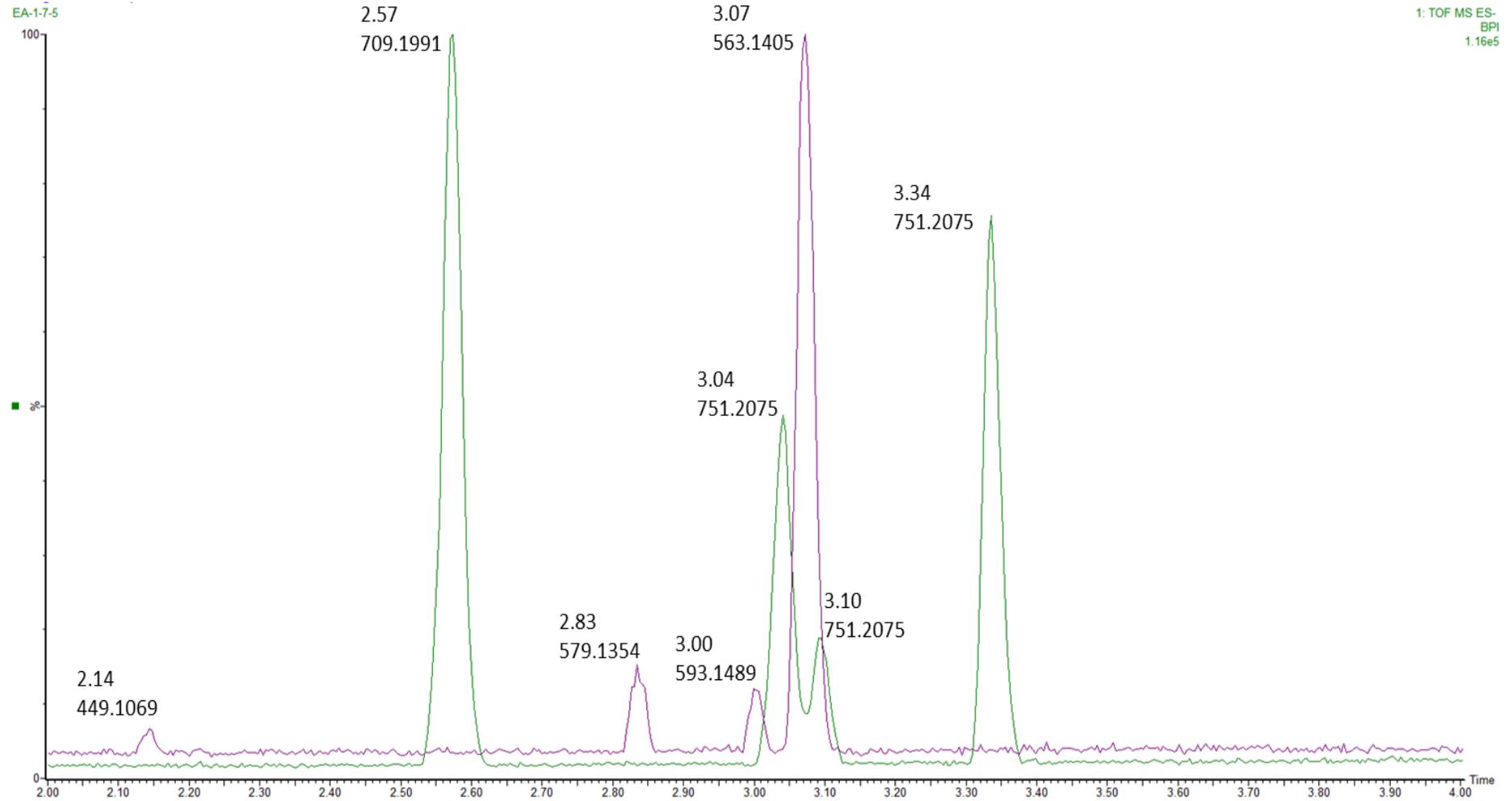
Figura 19 – CCD-AP *fingerprint* de extratos de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*



Fonte: A autora

Notas: pós-derivatização com Folin-Ciocalteu (A), pós-derivatização com ABTS (B), pós-derivatização com DPPH (C). Imagens sob luz branca e transmissão. (1) SST; (2) Rutina, Ácido Clorogênico, Quercetina com Rf crescente; (3) Campeferol; (4) *K. x houghtonii*; (5) *K. daigremontiana*.

A adoção da Cromatografia em Camada Delgada de Alta Performance (CCD-AP) para análise qualitativa marca uma abordagem excelente na investigação fitoquímica de extratos de *Kalanchoe*, oferecendo um *fingerprint* visual único e facilitando a comparação de constituintes fenólicos entre as espécies. Essa metodologia destaca uma lacuna na literatura quanto ao perfil abrangente de metabólitos secundários em espécies de *Kalanchoe*, indicando uma área de futuras pesquisas.

Figura 20 – Cromatogramas de *K. daigremontiana* e *K. x houghtonii*.

Fonte: A autora

Notas: *K. daigremontiana* (verde); *K. x houghtonii* (roxo).

Tabela 2 – Marcadores químicos potenciais para diferenciação dos extratos aquosos de *Kalanchoe daigremontiana* e *Kalanchoe x houghtonii*

Espécie	Tempo de retenção (min)	m/z	
		[M-H] ⁻	MS [-] MS/MS
<i>K. daigremontiana</i>	2,57	709,2056	563,1481/431,0993/285,0423
<i>K. daigremontiana</i>	3,04	751,2075	563,1481/473,1107/285,0423
<i>K. daigremontiana</i>	3,34	751,2075	563,1404/473,1024/285,0362
<i>K. x houghtonii</i>	2,83	579,1354	378,9161/285,0397
<i>K. x houghtonii</i>	3,00	593,1489	520,9094/378,9161/285,0397
<i>K. x houghtonii</i>	3,07	563,1405	285,0362

Fonte: A autora

O subsequente perfil químico através da Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à Espectrometria de Massas (CLUE-EM) forneceu *insights* mais profundos sobre a presença de compostos fenólicos específicos. Durante a exploração de marcadores químicos para distinguir as duas espécies do gênero *Kalanchoe*, as razões massa-carga (m/z) para íons [M-H]⁻ foram correlacionadas com compostos tradicionalmente encontrados em *Kalanchoe*, quando disponíveis, conforme destacado em pesquisas existentes. Além disso, as identificações propostas para valores específicos de m/z baseiam-se em fitoquímicos comumente observados nas espécies vegetais, incluindo notáveis compostos fenólicos bioativos. A análise dos dados de fragmentação MS^E indicou uma presença consistente de m/z : 285 [M-H]⁻, em importantes compostos em ambos os extratos, apontando para um núcleo de campeferol (Kouri *et al.*, 2007).

Exames adicionais dos dados MS^E para ambas as espécies sugerem que esses compostos são possíveis flavonóis glicosilados (Hegazy *et al.*, 2021). Especificamente para *K. daigremontiana*, a presença de derivados de campeferol glicosilados também está associada na literatura a flavonoides glicosilados ou a compostos polifenólicos (Beszterda; Frański, 2021; De Araujo *et al.*, 2019; Molina *et al.*, 2019; Stefanowicz-Hajduk *Et al.*, 2020).

Essas identificações preliminares requerem uma verificação adicional por meio de comparações com padrão e estudos espectroscópicos detalhados. Os compostos fenólicos são reconhecidos como componentes bioativos-chave que contribuem para os benefícios medicinais do gênero *Kalanchoe*. Especificamente, flavonoides e derivados de campeferol encontrados em extratos aquosos de folhas de *K. daigremontiana* já foram documentados na literatura (Andrade *et al.*, 2023). Estas descobertas ampliam a compreensão do conteúdo fenólico em espécies de *Kalanchoe*, destacando o potencial biológico do gênero e a importância de investigações adicionais para a identificação definitiva de compostos e compreensão de seus efeitos farmacológicos.

3.2.2.2 Conteúdo Fenólico e Potencial Antioxidante In Vitro

O conteúdo fenólico dos extratos foi quantificado e pode ser comparado à capacidade antioxidante de cada extrato, com base nos resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Quantificação de compostos fenólicos e atividade antioxidante dos extratos de *Kalanchoe daigremontiana* e *Kalanchoe x houghtonii*

Espécies	Conteúdo Total de Fenólicos (mg/g) ¹	Potencial Antioxidante ²	
		ABTS (µg/mL)	DPPH (µg/mL)
<i>K. daigremontiana</i>	50,15	193,61 ± 7,32	> 1000
<i>K. x houghtonii</i>	107,08	60,47 ± 3,67	136,11 ± 24,93

Fonte: A autora

Nota: ¹Expresso em ácido gálico. ²Dados expressos em CI₅₀.

A análise quantitativa usando o método de Folin-Ciocalteu revelou uma concentração mais alta de fenólicos totais em extratos de *K. x houghtonii* em comparação com *K. daigremontiana*, enfatizando a substancial diversidade fenólica dentro do gênero e suas implicações para o potencial medicinal (Bogucka-Kocka *et al.*, 2018; Elansary *et al.*, 2018; Hegazy *et al.*, 2021; Nascimento *et al.*, 2013; Palumbo *et al.*, 2019; Richwagen *et al.*, 2019). Essa abordagem integrada valida a presença de compostos fenólicos e facilita sua quantificação e análise precisa,

estabelecendo uma base crucial para futuros estudos com o objetivo de elucidar as características fitoquímicas dessas plantas.

Quantidades variáveis de compostos fenólicos foram relatadas em espécies de *Kalanchoe* na literatura. Por exemplo, o extrato metanólico e as frações do caule de *K. gracilis* variaram de 7,44 a 169,21 mg/g (equivalentes de catequina) (Lai *et al.*, 2011). Além disso, os extratos etanólicos de diferentes partes de *K. mortagei* e *K. fedtschenkoi* variaram de 331 a 1340 mg/g e de 370 a 498 mg/g (equivalente de ácido gálico), respectivamente (Richwagen *et al.*, 2019).

Para *K. pinnata*, o conteúdo fenólico total foi de $27,782 \pm 0,25$ µg/mg (equivalente de ácido gálico) (Bhandari *et al.*, 2021); assim como o extrato foliar hidroalcoólico, que apresentou um conteúdo de $28,4 \pm 2$ µg/mg (equivalente de quercetina) (Jaiswal *et al.*, 2014). Para os extratos aquosos (obtidos por diferentes métodos), as concentrações variaram de 63,01 a 232,9 µg/mL (equivalente de ácido gálico) (Bhavsar *et al.*, 2018), e para os extratos de benzeno, clorofórmio, acetona e etanol de folhas e caules, foi observado que as folhas (0,49-1,17% (v/v)) tinham um teor total de fenólicos significativamente maior do que os caules (0,18-0,62% (v/v)) (Bhatti *et al.*, 2012).

Para o extrato etanólico de *K. laetivirens* obtido por maceração, foi obtido um conteúdo de $166,66 \pm 0,8$ mg/g (equivalente de ácido gálico) (Pinheiro *et al.*, 2020). Para os extratos de diclorometano, acetato de etila e metanol de *K. glaucescens* obtidos por maceração, os conteúdos foram de 0,15 mg/g, 0,30 mg/g e 0,69 mg/g (equivalente de ácido gálico), respectivamente (Adam *et al.*, 2018).

A variabilidade significativa no conteúdo fenólico entre diferentes estudos destaca a influência das metodologias de extração, escolhas de solventes e épocas de coleta de plantas, destacando a necessidade de procedimentos padronizados na pesquisa fitoquímica (Bhandari *et al.*, 2021; Bhatti *et al.*, 2012; Bhavsar *et al.*, 2018; Mishra; Pounikar; Gangwar, 2019; Simões *et al.*, 2017).

Uma quantidade crescente de pesquisa medicinal tem sido dedicada às espécies reativas de oxigênio (*Reactive Oxygen Species*, ROS). Portanto, é sabido que, para uma função fisiológica adequada, um equilíbrio entre substâncias antioxidantes e radicais livres ou espécies reativas de oxigênio/nitrogênio (geradas como subprodutos em processos metabólicos) é essencial para desempenhar

papeis importantes na prevenção de doenças induzidas por espécies reativas (Chandana; Morlock, 2021; Nascimento *et al.*, 2013).

A eficácia de extratos de plantas e compostos naturais com alta atividade antioxidante é bem documentada. A maior parte do potencial antioxidante nas plantas é atribuída às propriedades redox de compostos fenólicos, que podem exercer tal atividade por meio de vários mecanismos. Muitas ervas medicinais com atividades antioxidantes significativas têm sido empregadas como antioxidantes naturais. No entanto, embora a capacidade de prevenir o estresse oxidativo ou minimizar seus efeitos prejudiciais seja uma das atividades biológicas mais frequentemente descritas de substâncias derivadas de plantas, as ações antioxidantes de extratos de diferentes espécies de *Kalanchoe* ainda não foram completamente descritas (Casanova *et al.*, 2020; Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2016; Nascimento *et al.*, 2013).

Kalanchoe pinnata é a espécie mais estudada no gênero em relação ao seu potencial antioxidante. As atividades antioxidantes de extratos de folhas e caules de *K. pinnata* aumentam de forma dose-dependente. Ao reduzir o radical DPPH', os extratos de benzeno, etanol, acetato de etila e acetona exibem valores de CI_{50} de 94-160 $\mu\text{g/mL}$ em folhas e 108-185 $\mu\text{g/mL}$ em caules. Enquanto isso, ao reduzir o radical NO, os valores de CI_{50} variam de 60-140 $\mu\text{g/mL}$ em folhas e 102-162 $\mu\text{g/mL}$ em caules (Bhatti *et al.*, 2012).

As atividades antioxidantes de extratos aquosos obtidos de folhas de *K. pinnata* foram analisadas durante o crescimento da planta (Nascimento *et al.*, 2013), em órgãos de ratos normais e hipertensos (Bopda *et al.*, 2014), e em danos oxidativos renais causados por CCl_4 em ratos (Anadozie *et al.*, 2018). O extrato aquoso melhorou o potencial antioxidante em vários órgãos (especialmente na aorta), e essa atividade anti-hipertensiva pode estar associada a um aumento no potencial antioxidante. Mudanças adversas resultantes da intoxicação por CCl_4 em ratos foram prevenidas pelo pré-tratamento com o extrato aquoso (25 e 50 mg/kg de peso corporal), sugerindo que este extrato pode proteger os rins contra danos oxidativos induzidos por CCl_4 .

O extrato metanólico de *K. pinnata* obtido por maceração apresentou uma média de inibição do radical DPPH' variando de 7,18 a 47,18% (concentrações de 50-1000 $\mu\text{g/mL}$) (Bopda *et al.*, 2014). Posteriormente, o mesmo extrato submetido a

tripla maceração mostrou 69,77% de inibição do radical DPPH[•] (Richwagen *et al.*, 2019). O extrato etanólico do caule de *K. pinnata* foi avaliado usando DPPH[•] e demonstrou alta atividade antioxidante (CI₅₀: 37,28 µg/mL) (Bhatti *et al.*, 2012) e, comparado a outros extratos foliares (aquoso e éter de petróleo), exibiu o maior efeito inibitório (49,5 ± 5,6% (2000 µg/mL)) (Quintero *et al.*, 2021).

Quatro flavonoides principais obtidos de extratos foliares hidroalcoólicos de *K. pinnata* foram avaliados por suas atividades antioxidantes usando ensaios de DPPH[•] e ABTS^{•+}. Descobriu-se que apenas os derivados de quercetina exibiam atividade de captura de radicais, sugerindo que o quercetina 3-O-α-L-arabinopiranosil-(1→2)-α-L-ramnopiranosídeo pode ser indicado como um marcador específico para esta espécie (Fernandes *et al.*, 2021; Kenderson; Kagoro, Adalakun, 2021).

O potencial antioxidante de quatro espécies de *Kalanchoe* (*K. pinnata*, *K. daigremontiana*, *K. nyikae* e *K. milloti*) foi avaliado usando o ensaio de DPPH[•], e os valores de CI₅₀ obtidos variaram de 49,9 a 1410 µg/mL, indicando uma ampla variação na atividade dos extratos analisados (Nascimento *et al.*, 2013). Além disso, os extratos de diclorometano, acetato de etila e metanol de *K. glaucescens* obtidos por maceração mostraram porcentagens médias de inibição do radical DPPH[•] variando de 11,38 a 72,95% (Adam *et al.*, 2018).

A capacidade antioxidante de *K. daigremontiana* também é relatada na literatura. O extrato metanólico das folhas foi avaliado usando DPPH[•], e um valor de CI₅₀ de 19,2 µg/mL foi obtido, semelhante aos resultados obtidos para a vitamina E (Elizondo-Luévano *et al.*, 2021). Não foram encontrados dados na literatura sobre a atividade antioxidante da espécie *K. x houghtonii*.

Comparado a outros estudos sobre a atividade antioxidante de plantas medicinais, pode-se inferir que atividades antioxidantes consideráveis foram determinadas neste estudo. Embora os métodos usados tenham diferentes mecanismos de reação e possam não corresponder necessariamente às mesmas atividades, eles claramente indicaram que as plantas estudadas têm atividade antioxidante variável. O presente estudo obteve valores que foram semelhantes e/ou dentro da faixa esperada considerada satisfatória por outros autores para o gênero *Kalanchoe*, confirmando que essas espécies são fontes naturais de agentes antioxidantes. Além disso, sugere que o potencial antioxidante e a eficácia dessas

espécies podem ser atribuídos principalmente a compostos polifenólicos (Adam *et al.*, 2018; Ahmed *et al.*, 2013; Elizondo-Luévano *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2018; Lai *et al.*, 2011; Mayorga *et al.*, 2019).

A exploração dos potenciais antioxidantes enfatiza ainda mais o papel crítico dos compostos fenólicos no combate ao estresse oxidativo, com os métodos empregados neste estudo indicando atividade antioxidante variável e reafirmando as espécies como fontes valiosas de antioxidantes naturais (Casanova *et al.*, 2020; Kolodziejczyk-Czepas *et al.*, 2016; Oliveira; Akisue; Akisue, 2014).

A literatura discute vários grupos de metabólitos identificados em plantas, destacando suas funções e importância, como os metabólitos secundários, que incluem fenólicos, flavonoides e terpenoides, desempenhando papéis significativos na defesa das plantas contra patógenos e herbívoros. Esses compostos muitas vezes são antioxidantes e podem fornecer proteção contra raios UV, contribuindo para a capacidade da planta de lidar com estresses bióticos e abióticos; além disso, os componentes da parede celular, como lignina e polissacarídeos, ajudam a entender a estrutura e o suporte da planta. A lignina, por exemplo, fornece resistência mecânica e é crucial para a integridade estrutural da planta (Yadav *et al.*, 2021).

Considerando a natureza intrincada dos metabólitos secundários e suas atividades biológicas observadas em *Kalanchoe daigremontiana* e *Kalanchoe x houghtonii*, futuras pesquisas devem se concentrar em expandir o espectro fitoquímico e o perfil de bioatividade dessas espécies. Existe uma necessidade urgente de métodos de extração e análise padronizados para facilitar estudos comparativos e aprimorar nossa compreensão de seus benefícios para a saúde. Explorar a base genética das variações fitoquímicas poderia revelar novas vias biossintéticas para compostos bioativos, oferecendo novas perspectivas na pesquisa de plantas medicinais. Além disso, ensaios clínicos são necessários para substanciar as alegações farmacológicas dessas espécies, estabelecendo efetivamente uma ligação entre aplicações tradicionais e validação científica.

Frente ao significativo potencial farmacológico dos extratos de *Kalanchoe daigremontiana* e *Kalanchoe x houghtonii*, recomenda-se fortemente a realização de estudos adicionais voltados para o desenvolvimento de novos medicamentos incorporando matrizes vegetais ou substâncias isoladas. Isso não apenas

contribuiria para o avanço da medicina natural, mas também forneceria uma base científica para o uso terapêutico dessas espécies conhecidas como 'mãe-de-milhares'.

CAPÍTULO 4 - ALÉM DE *Kalanchoe*: COLABORAÇÕES E CONTRIBUIÇÕES NO ÂMBITO DO DOUTORADO

Na sequência, serão anexados os artigos científicos resultantes de pesquisas colaborativas em paralelo durante o período do doutorado.

CRUZ, L. S.; KANUNFRE, C. C.; ANDRADE, E. A., OLIVEIRA A. A.; CRUZ, L. S.; MOSS, M. F.; SASSAKI, G. L.; MENEZES, L. R. A.; WANG, M.; KHAN, I. A.; BELTRAME, F. L. (2020). *Enriched Terpenes Fractions of the Latex of Euphorbia umbellata Promote Apoptosis in Leukemic Cells*. *Chemistry and Biodiversity*, v. 17, n. 9, e2000369.



Full Paper

Enriched Terpenes Fractions of the Latex of *Euphorbia umbellata* Promote Apoptosis in Leukemic Cells

Luiza Stolz Cruz, Carla Cristine Kanunfre, Evelyn Assis de Andrade, Alexandre Alves de Oliveira, Laura Stolz Cruz, Mariane de Faria Moss, Guilherme Lanzi Sassaki, Leociley Rocha Alencar Menezes, Mei Wang, Ikhlas Ahmad Khan, Flávio Luís Beltrame ✉ ... See fewer authors ^

First published: 09 July 2020 | <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000369> | Citations: 1

MINOZZO, B. R.; ANDRADE, E. A.; VELLOSA J. C. R.; LIPINSKI L. C.; FERNANDES D.; NARDI M. G.; RODRIGUES R. P.; KITAGAWA R. R.; GIRARD C.; DEMOUGEOT C.; BELTRAME F. L. (2020). *Polyphenolic compounds of Euphorbia umbellata (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae) improved endothelial dysfunction through arginase inhibition*. *Phytotherapy Research*, v. 35, n. 5, p. 2557-2567.



RESEARCH ARTICLE

Polyphenolic compounds of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae) improved endothelial dysfunction through arginase inhibition

Bruno Rodrigo Minozzo ✉ Evelyn Assis de Andrade, José Carlos Rebuglio Velloso, Leandro Cavalcante Lipinski, Daniel Fernandes, Geisson Marcos Nardi, Ricardo Pereira Rodrigues, Rodrigo Rezende Kitagawa, Corine Girard, Céline Demougeot, Flávio Luís Beltrame ✉

First published: 22 December 2020 | <https://doi.org/10.1002/ptr.6986>

ANDRADE, E. A.; CRUZ, L. S.; MACHINSKI, I.; VENTURA, A. C. T.; PALUDO, K. S.; LIPINSKI, L. C.; MEURER, E. C.; BELTRAME, F. L. (2021). Terpenes Of *Euphorbia umbellata* Latex Are Involved In Cytotoxic Effect Against Melanoma Cells. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, v. 10, n. 4, p. 26-37.

	WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES		
	Volume 10, Issue 4, 26-37	Research Article	SJIF Impact Factor 7.632 ISSN 2278 – 4357

**TERPENES OF *EUPHORBIA UMBELLATA* LATEX ARE INVOLVED
IN CYTOTOXIC EFFECT AGAINST MELANOMA CELLS**

Evelyn Assis de Andrade^{1*}, Luiza Stolz Cruz¹, Isadora Machinski¹, Ana Carolina Terso Ventura¹, Bruna Carletto¹, Kátia Sabrina Paludo², Leandro Cavalcante Lipinski³, Eduardo César Meurer⁴ and Flávio Luís Beltrame¹

CAPOTE, A. C. M. O., CAMPOS, P. M., COSTA, C. C., SILVA, N. R. M., FERRARI, P. C., SILVA, M. P. B., KANUNFRE, C. C., CARVALHO, F. K., WAMBIER, C. G., ANDRADE, E. A., STRANGMAN, W. K., BELTRAME, F. L. (2023). Liquid Crystals as a Vehicle for *Croton tiglium* L. Oil for Deep Chemical Peel Formulations. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 66(spe), e23230034.

Vol.66(spe): e23230034, 2023
<https://doi.org/10.1590/1678-4324-sabfar-2023230034>
 ISSN 1678-4324 Online Edition
 II South-Brazilian Symposium on Pharmacognosy



Article - Health Science/Pharmacognosy

Liquid Crystals as a Vehicle for *Croton tiglium* L. Oil for Deep Chemical Peel Formulations

Anna Claudia Moraes de Oliveira Capote¹
<https://orcid.org/0000-0003-2960-5428>

Patricia Mazureki Campos²
<https://orcid.org/0000-0003-2659-8023>

Cecilia Cardozo Costa²
<https://orcid.org/0000-0002-6476-4646>

Nicole Ribas Modesto da Silva²
<https://orcid.org/0000-0002-5347-976x>

Priscileila Colerato Ferrari²
<https://orcid.org/0000-0002-4285-6646>

Marcelo Paulo Bueno da Silva⁴
<https://orcid.org/0000-0002-1998-0956>

Carla Cristine Kanunfre⁴
<https://orcid.org/0000-0002-2865-3084>

Francieli Kanunfre de Carvalho⁴
<https://orcid.org/0000-0002-5336-257X>

Carlos Gustavo Wambier²
<https://orcid.org/0000-0002-4636-4489>

Evelyn Assis de Andrade¹
<https://orcid.org/0000-0002-7542-3070>

Wendy Karen Strangman²
<https://orcid.org/0000-0002-6911-4909>

Flávio Luis Beltrame^{1,2}
<https://orcid.org/0000-0001-7067-5802>

TOZETTO, R., ROCHA, B.S., ANDRADE, E.A., CRUZ, L.S., ROSA, R.L., MACHINSKI, I., OLIVEIRA, E.L., MONTEIRO, J.R.B., KOGA, A.Y., LIPINSKI, L.C., MEURER, E.C., KITAGAWA, R.R., BELTRAME, F.L., (2023). Study of the Antioxidant, Antimicrobial, and Wound Healing Properties of Raw Hydrolyzed Extract from Nile Tilapia Skin (*Oreochromis niloticus*). *Chem. Biodiversity*, 20, e202300863.



Research Article

Study of the Antioxidant, Antimicrobial, and Wound Healing Properties of Raw Hydrolyzed Extract from Nile Tilapia Skin (*Oreochromis niloticus*)

Rodrigo Tozetto, Beatriz Santos Rocha, Evelyn Assis de Andrade, Luiza Stolz Cruz, Rosana Letícia da Rosa, Isadora Machinski, Évelin Lemos de Oliveira, Jessica Raquel Borges Monteiro ... See all authors ▾

First published: 25 September 2023 | <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300863>

LUDKA, F.R., KLOSOWSKI, A.B., CAMARGO, G.A., JUSTO, A.S., ANDRADE, E.A., BELTRAME, F.L., OLIVATO, J.B. (2024). Brewers' spent grain extract as antioxidants in starch-based active biopolymers. *Int J Food Sci Technol*, 59: 142-150.



Original article

Brewers' spent grain extract as antioxidants in starch-based active biopolymers

Flavia Rafaela Ludka, Ana Beatriz Klosowski, Giovani Almeida Camargo, Aline Silva Justo, Evelyn Assis Andrade, Flávio Luis Beltrame, Juliana Bonametti Olivato ✉

First published: 22 October 2023 | <https://doi.org/10.1111/ijfs.16785>

CONCLUSÕES

A combinação de análises realizadas neste estudo demonstrou ser uma abordagem eficaz para identificar e diferenciar espécies do gênero *Kalanchoe*. Essa estratégia integrada fornece um marco importante ao apresentar a primeira comparação abrangente das diferenças entre estas espécies. Ao combinar as análises, a pesquisa oferece uma perspectiva abrangente sobre a composição e o potencial biológico dessas plantas.

A caracterização morfoanatômica e histoquímica revelou estruturas foliares e caulinares distintas entre espécies, fornecendo subsídios para sua identificação precisa.

A quantificação dos compostos fenólicos por métodos analíticos comprovou uma forte correlação com as propriedades antioxidantes observadas nos ensaios *in vitro* que utilizando ensaios padrão como a captura de radicais livres DPPH• e ABTS•+, confirmou a significativa atividade bioativa dos extratos, reforçando o valor medicinal das espécies do gênero *Kalanchoe*.

O perfil químico elucidado pela CCD-AP, centrado na identificação de compostos fenólicos e qualificação do potencial antioxidante, comprovou a contribuição dessas substâncias. A caracterização química por CLUE-EM/EM forneceu uma compreensão mais profunda dos constituintes químicos e do perfil metabólico dos extratos de folhas de *Kalanchoe* spp., reforçando a importância de tais métodos para garantir a qualidade, segurança e consistência dos produtos à base de plantas.

Assim, este trabalho fornece uma base sólida para o uso de técnicas integradas de análise morfoanatômica e química no controle de qualidade e padronização de produtos à base de plantas, promovendo uma compreensão mais profunda do potencial terapêutico das espécies de *Kalanchoe* e seu uso seguro e eficaz na medicina tradicional e moderna.

Dada a abundância de compostos bioativos e o potencial terapêutico destas espécies, recomenda-se a realização de estudos adicionais para explorar seu papel no desenvolvimento de novos medicamentos, ampliando o perfil terapêutico na medicina natural.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAOUF, H.S. Anatomical traits of some species of Kalanchoe (Crassulaceae) and their taxonomic value. **Ann Agric Sci**, v. 57, n. 1, 2012.
- ABEBE, W. An overview of Ethiopian traditional medicinal plants used for cancer treatment. **European J Med Plants**, v. 14, n. 4, p. 1-16, 2016.
- ADAM, M. et al. In Vitro Antioxidant and Cytotoxic Activities of 18 Plants from the Erkowit Region, Eastern Sudan. **Nat Prod Bioprospecting**, v. 8, p. 97-105, 2018.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC No. 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, 2014.
- AGIZE, M.; ASFAW, Z.; NEMOMISSA, S.; GEBRE, T. Ethnobotany of traditional medicinal plants and associated indigenous knowledge in Dawuro Zone of Southwestern Ethiopia. **J. Ethnobiol. Ethnomedicine**, v. 18, p. 48, 2022.
- AHMED, M. et al. Pharmacological evaluation of crude methanolic extract of Kalanchoe pinnata leaves. **Environ Toxicol Chem**, v. 95, n. 9, p. 1539-1545, 2013.
- AHMED, M.N.; HUGHES, K. Role of ethno-phytomedicine knowledge in healthcare of COVID-19: Advances in traditional phytomedicine perspective. **Beni-Suef Univ. J. Basic. Appl. Sci.**, v. 11, p. 96, 2022.
- AKENTIEVA, N.P. et al. The effect of plant extracts Kalanchoe daigremontiana and Aloe arborescens on the metabolism of human multiple myeloma cells. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, ed. 5, p. 13171-13186, 2021.
- AKULOVA-BARLOW, Z. Kalanchoe. **Cactus Succul J**, v. 81, p. 268-276, 2009.
- AL-KHAYRI, J.M. et al. Genetic and Morphological Diversity Assessment of Five Kalanchoe Genotypes by SCoT, ISSR and RAPD-PCR Markers. **Plants**, v. 11, p. 1722, 2022.
- ALDALBAHI, A. et al. Greener Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles: Characterization and Multifaceted Applications. **Molecules**, v. 25, p. 4198, 2020.
- ALMEIDA, A.P. et al. Isolation and chemical analysis of a fatty acid fraction of Kalanchoe pinnata with a potent lymphocyte suppressive activity. **Planta Med.**, v. 66, p. 134-137, 2000.
- ALMEIDA, V.P. et al. Investigations on the morpho-anatomy and histochemistry of the European mistletoe: Viscum album L. subsp. album. **Sci Rep**, v. 13, p. 4604, 2023.
- ANADOZIE, S.O. et al. Bryophyllum pinnata inhibits arginase II activity and prevents oxidative damage occasioned by carbon tetrachloride (CCl₄) in rats. **Biomed Pharmacother**, v. 101, p. 8-13, 2018.

ANDERSON et al. The characterization of two novel bufadienolides, lanceotoxins A and B from *Kalanchoe lanceolata* [Forssk.] Pers. **J Chem Soc**, Perkin trans., p. 1573-1575, 1984.

ANDRADE, E.A. et al. A review of the popular uses, anatomical, chemical, and biological aspects of *Kalanchoe* (Crassulaceae): A genus of plants known as "miracle leaf". **Molecules**, v. 28, p. 5574, 2023.

ANTONIO, A.S. et al. Ocotea complex: A metabolomic analysis of a Lauraceae genus. **Phytochemistry**, v. 173, 2020.

ANTUNES, K.A. et al. Comprehensive high-performance thin-layer chromatography analysis of *Monteverdia ilicifolia* leaf and its adulterants. **Natural Product Research**, 2023.

ARIAS-GONZÁLEZ et al. Cytotoxic effect of *Kalanchoe flammula* and induction of intrinsic mitochondrial apoptotic signaling in prostate cancer cells. **J Ethnopharmacol**, v. 222, p. 133-147, 2018.

ASIEDU-GYEKYE, I.J. et al. Short-term administration of an aqueous extract of *Kalanchoe integra* var. *crenata* (Andr.) Cuf leaves produces no major organ damage in Sprague-Dawley rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 2, 2014.

ASIEDU-GYEKYE, I.J. et al. Comparative study of two *Kalanchoe* species: Total flavonoid and phenolic contents and antioxidant properties. **African Journal of Pure and Applied Sciences**, 2022.

ATANASOV, A.G. et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nat Rev Drug Discov**, v. 20, p. 200-216, 2021.

AWORTWE, C. et al. In vitro evaluation of reversible and time-dependent inhibitory effects of *Kalanchoe crenata* on CYP2C19 and CYP3A4 activities. **Drug Metabolism Letters**, v. 9, p. 48-62, 2015.

BACHMANN et al. Potential of *Bryophyllum pinnatum* as a detrusor relaxant: an in vitro exploratory study. **Planta Medica**, v. 83, p. 1274-1280, 2017.

BARBHIUYA, P.A. et al. Ethnomedicinal Practices and Traditional Medicinal Plants of Barak Valley, Assam: A systematic review. **J. Pharmacopunct.**, v. 25, p. 149-185, 2022.

BARREIRO, E.J.; BOLZANI, V.S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, Sociedade Brasileira de Química, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BERLYN, G.P.; MIKSCHE, J.P. Botanical microtechnique and cytochemistry. Ames: Iowa State University, 1976. 121 p.

BESZTERDA, M.; FRANSKI, R. Electrospray ionisation mass spectrometric behaviour of flavonoid 5-O-glucosides and their positional isomers detected in the

extracts from the bark of *Prunus cerasus* L. and *Prunus avium* L. **Phytochem Anal**, v. 32, n. 3, p. 433-439, maio 2021.

BHANDARI, R. et al. Evaluation of phytochemical, antioxidant, and memory-enhancing activity of *Garuga pinnata* Roxb. Bark and *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken. leaves. **Sci World J**, 2021.

BHATTI, M. et al. In vitro evaluation and comparison of antioxidant activities of various extracts of leaves and stems of *Kalanchoe pinnata*. **Int J Green Pharm**, v. 6, n. 4, p. 340-347, 2012.

BHAVSAR, S. et al. A comparative pharmacognostical and phytochemical analysis of *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. leaf extracts. **J Pharmacogn Phytochem**, v. 7, n. 5, p. 1519-1527, 2018.

BHAVSAR, S.; CHANDEL, D. Cytotoxic and genotoxic effects of *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. fresh leaf juice in the cultured human blood lymphocytes. **Drug Chem Toxicol**, v. 45, n. 1, p. 360-366, 2019.

BOGALE, M. et al. An ethnomedicinal study in tulo district, west hararghe zone, oromia region, Ethiopia. **Heliyon**, v. 9, e15361, 2023.

BOGUCKA-KOCKA, A. et al. Phenolic acid content, antioxidant, and cytotoxic activities of four *Kalanchoe* species. **Saudi J Biol Sci**, v. 25, n. 4, p. 622-630, 2018.

BOPDA, O.S.M. et al. Antihypertensive activities of the aqueous extract of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae) in high salt-loaded rats. **J Ethnopharmacol**, v. 153, n. 2, p. 400-407, 2014.

BRZEZICKA, E. et al. Leaf micromorphology of *Kalanchoë laciniata* (Crassulaceae). **Modern Phytomorphology**, v. 8, p. 49-52, 2015.

BUGNO, A. et al. Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 47-51, 2006.

CAMAG. Herbal Drug. Disponível em:
<<https://www.camag.com/applications/application-field/herbals>>. Acesso em: junho de 2023.

CAPON, R.J. et al. Bryotoxins B and C, toxic bufadienolide orthoacetates from the flowers of *Bryophyllum tubiflorum* (Crassulaceae). **Aust. J. Chem.**, v. 39, p. 1711-1715, 1986.

CARNEIRO, F.M. et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. *Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais – UEG/Campus de Iporá*, v. 3, n. 2, p. 44-75, jul./dez. 2014.

CASANOVA, J.M. et al. Differential Distribution of Flavonoids and Phenolic Acids in Leaves of *Kalanchoe delagoensis* Ecklon & Zeyher (Crassulaceae). **Microsc**, v. 26, n. 5, p. 1061-1068, 2020.

CASS, Q.; CASSIANO, N. *Cromatografia Líquida*. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

CHANDANA, S.; MORLOCK, G.E. Comprehensive bioanalytical multi-imaging by planar chromatography in situ combined with biological and biochemical assays highlights bioactive fatty acids in abelmosk. **Talanta**, v. 223, parte 1, p. 121701, 2021.

CHEN, G. et al. Analysis of Flavonoids in *Rhamnus davurica* and its antiproliferative activities. **Molecules**, v. 21, p. 1275, 2016.

CHERNETSKYY, M. et al. Structure of leaves and phenolic acids in *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H. Perrier. **Acta Sci Pol Hortorum Cultus**, v. 17, n. 4, p. 137-155, 2018.

CHERNETSKYY, M.; WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E. Structure of *Kalanchoë pumila* Bak. leaves (Crassulaceae DC.). **Acta Agrobot**, v. 61, n. 2, 2008.

CHIBLI, L.A. et al. Anti-inflammatory effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken ethanol extract in acute and chronic cutaneous inflammation. **J. Ethnopharmacol.**, v. 11, p. 330–338, 2014.

COSTA, A.C.O. et al. Quantification of Chemical Marker of *Kalanchoe Brasiliensis* (Crassulaceae) Leaves by HPLC-DAD. **Journal of Liquid Chromatograph and Related Technologies**, p. 795-800, 2015.

COSTA, S. et al. Potencial terapêutico das espécies de *Kalanchoe*: Flavonoides e outros metabólitos secundários. **Natural Product Communications**, v. 3, p. 2151-2164, 2008.

COSTA, S.S. et al. *Kalanchosine dimalate*, an anti-inflammatory salt from *Kalanchoe brasiliensis*. **J. Nat. Prod.**, v. 69, p. 815–818, 2006.

COSTA, S.S. et al. *Patuletin acetylramnosides* from *Kalanchoe brasiliensis* as inhibitors of human lymphocyte proliferative activity. **J. Nat. Prod.**, v. 57, p. 1503–1510, 1994.

COUTINHO, M.A. et al. Flowers from *Kalanchoe pinnata* are a rich source of T cell-suppressive flavonoids. **Nat. Prod. Commun.**, v. 7, p. 175–178, 2012.

COUTINHO, M.A.S. et al. Wound healing cream formulated with *Kalanchoe pinnata* major flavonoid is as effective as the aqueous leaf extract cream in a rat model of excisional wound. **Nat. Prod. Res.**, v. 35, n. 24, p. 6034-6039, 2020.

CRUZ, B.P. et al. Chemical and agronomic development of *Kalanchoe brasiliensis* Camb. and *Kalanchoe pinnata* (Lamk.) Pers under light and temperature levels. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, n. 4, p. 1435-1441, 2011.

CRUZ, B.P. et al. Effects of light intensity on the distribution of anthocyanins in *Kalanchoe brasiliensis* Camb. and *Kalanchoe pinnata* (Lamk.) Pers. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 1, p. 211-217, 2012a.

CRUZ, E.A. et al. Kalanchoe pinnata inhibits mast cell activation and prevents allergic airway disease. **Phytomedicine**, v. 19, n. 2, p. 115-121, 2012b.

CRUZ, E.A. et al. Immunomodulatory pretreatment with Kalanchoe pinnata extract and its quercitrin flavonoid effectively protects mice against fatal anaphylactic shock. **Int. Immunopharmacol.**, v. 8, p. 1616–1621, 2008.

CRYER, M. et al. Isolation and identification of compounds from Kalanchoe pinnata having human alphaherpesvirus and vaccinia virus antiviral activity. **Pharm Biol**, v. 55, n. 1, p. 1586-1591, 2017.

de ARAÚJO, E.R.D. et al. Gastroprotective and antioxidant activity of Kalanchoe brasiliensis and Kalanchoe pinnata leaf juices against indomethacin and ethanol-induced gastric lesions in rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, p. 1265, 2018.

de ARAÚJO, E.R.D. et al. Local anti-inflammatory activity: Topical formulation containing Kalanchoe brasiliensis and Kalanchoe pinnata leaf aqueous extract. **Biomed Pharmacother**, v. 113, p. 108721, 2019.

de ARAÚJO, E.R.D. et al. Gastric Ulcer Healing Property of Bryophyllum pinnatum Leaf Extract in Chronic Model In Vivo and Gastroprotective Activity of Its Major Flavonoid. **Front. Pharmacol.**, v. 12, p. 744192, 2021.

de ARAÚJO, E.R.D. et al. Gel formulated with Bryophyllum pinnatum leaf extract promotes skin wound healing in vivo by increasing VEGF expression: A novel potential active ingredient for pharmaceuticals. **Front. Pharmacol.**, v. 13, p. 1104705, 2023.

DO, T.K.T. et al. Development of the first universal mixture for use in system suitability tests for High-Performance Thin Layer Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1638, p. 461830, 2021.

DUARTE, M.R.; ZANETI, C.C. Morfoanatomia de folhas de bálsamo: Sedum dendroideum. **Revista Lecta**, Bragança Paulista, v. 20, n. 2, p. 153-160, 2002.

EID, O. et al. Crassulaceae (chemistry and pharmacology) - A review. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 234–240, 2018.

EL ABDELLAOUI, S. et al. Bioactive molecules in Kalanchoe pinnata leaves: extraction, purification, and identification. **Anal Bioanal Chem**, v. 398, p. 1329–1338, 2010.

ELANSARY, H.O. et al. Effective antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of essential oils of horticultural aromatic crops in northern Egypt. **BMC Complement Altern Med**, v. 18, p. 214, 2018.

ELIZONDO-LUÉVANO, J.H. et al. In Vitro Effect of Kalanchoe daigremontiana and Its Main Component, Quercetin against Entamoeba histolytica and Trichomonas vaginalis. **Iran J Parasitol**, v. 16, n. 3, p. 394-401, 2021.

- ERENO, D. Da natureza para a farmácia. **Rev Pesq Fapesp**, v. 110, p. 78-81, 2005.
- FERNANDES, J.M. et al. Bryophyllum pinnata markers: CPC isolation, simultaneous quantification by a validated UPLC-DAD method and biological evaluations. **J Pharm Biomed Anal**, n. 193, 2021.
- FERNANDES, J.M. et al. Inhibitory effects of hydroethanolic leaf extracts of Kalanchoe brasiliensis and Kalanchoe pinnata (Crassulaceae) against Local Effects Induced by Bothrops jararaca Snake Venom. **PLoS One**, v. 11, ed. 12, p. 1-20, 2016.
- FERNANDES, J.M. et al. Kalanchoe laciniata and Bryophyllum pinnatum: an updated review about ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and toxicology. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 4, 2019.
- FERREIRA, A.C. et al. Thyroid peroxidase inhibition by Kalanchoe brasiliensis aqueous extract. **Food Chem. Toxicol.**, v. 38, p. 417–421, 2000.
- FERREIRA, R.T. et al. Mechanisms underlying the antinociceptive, antiedematogenic, and anti-inflammatory activity of the main flavonoid from Kalanchoe pinnata. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2014.
- FLORA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: jan. 2022.
- FONSECA, A.G. et al. In Vivo and In Vitro Toxicity Evaluation of Hydroethanolic Extract of Kalanchoe brasiliensis (Crassulaceae) Leaves. **J Toxicol.**, 2018.
- FOSTER, A.S. Practical plant anatomy. 2. ed. Princeton: D. Van Nostrand, 1949.
- FRIMPONG-MANSO et al. Micro and macro element composition of Kalanchoe integra leaves: an adjuvant treatment for hypertension in Ghana. **Int J Hypertens.**, 2015.
- FUCHS, C. Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plant organs. **Stain Technol**, v. 38, n. 3, p. 141–144, 1963.
- FURER, K. et al. Bryophyllum pinnatum and Related Species Used in Anthroposophic Medicine: Constituents, Pharmacological Activities, and Clinical Efficacy. **Planta Med**, v. 82, p. 930-941, 2016.
- FURER, K. et al. Two new flavonol glycosides and a metabolite profile of Bryophyllum pinnatum, a phytotherapeutic used in obstetrics and gynaecology. **Planta Med**, v. 79, n. 16, p. 1565-1571, 2013.
- GABE, M. Techniques histologiques. Paris: Masson et Cie, 1968.
- GAIND, K.N.; GUPTA, R.L. Phenolic components from the leaves of Kalanchoe pinnata. **Planta Med.**, v. 23, p. 149–153, 1973.

GARCIA-PEREZ, P. et al. From ethnomedicine to plant biotechnology and machine learning: the valorization of the medicinal plant *Bryophyllum* sp. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 444, p. 1-23, 2020.

GARCÍA-PÉREZ, P. et al. Neurofuzzy logic predicts a fine-tuning metabolic reprogramming on elicited *Bryophyllum* PCSCs guided by salicylic acid. **Front. Plant Sci.**, v. 13, p. 991557, 2022.

GARCÍA-PÉREZ, P. et al. The Combination of Untargeted Metabolomics and Machine Learning Predicts the Biosynthesis of Phenolic Compounds in *Bryophyllum* Medicinal Plants (Genus *Kalanchoe*). **Plants**, v. 10, p. 2430, 2021b.

GARCÍA-PÉREZ, P. et al. The metabolomics reveals intraspecies variability of bioactive compounds in elicited suspension cell cultures of three *Bryophyllum* species. **Industrial Crops and Products**, v. 163, p. 113322, 2021a.

GARCÍA-SOGO, B. et al. Efficient transformation of *Kalanchoe blossfeldiana* and production of male-sterile plants by engineered anther ablation. **Plant Cell Rep.**, v. 29, n. 1, p. 61-77, 2009.

GBIF. Crassulaceae. The Global Biodiversity Information Facility. Published on the Internet. 2023. Available online: <https://www.gbif.org/species/2406> (accessed on 15 June 2023).

GBIF. *Kalanchoe*. The Global Biodiversity Information Facility. Published on the Internet. 2023. Available online: <https://www.gbif.org/species/2985928> (accessed on 15 June 2023).

GBIF - GBIF Occurrence. Download 10.15468/dl.3mhrpz, 2022.

GETACHEW, M. et al. Medicinal plants used for management of hemorrhoids in Ethiopia: A systematic review. **Heliyon**, v. 8, e10211, 2022.

GOMES, D.C.O. et al. Effectiveness of the immunomodulatory extract of *Kalanchoe pinnata* against murine visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 137, n. 4, p. 613-618, 2010.

GOTOH, E. et al. Stomatal response to blue light in crassulacean acid metabolism plants *Kalanchoe pinnata* and *Kalanchoe daigremontiana*. **J. Exp. Bot.**, v. 70, p. 1367–1374, 2019.

GWEHENBERGER, B. et al. Effect of *Bryophyllum pinnatum* versus fenoterol on uterine contractility. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, v. 113, p. 164–171, 2004.

HAILE, A.A. et al. A Review on Medicinal Plants Used in the Management of Respiratory Problems in Ethiopia over a Twenty-Year Period (2000–2021). **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, v. 2022, p. 2935015, 2022.

HEGAZY, M.M. et al. Biological and chemical evaluation of some African plants belonging to *Kalanchoe* species: Antitrypanosomal, cytotoxic, anti-topoisomerase I

activities and chemical profiling using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometer. **Pharmacogn Mag**, v. 17, p. 6-15, 2021.

HERNÁNDEZ-CABALLERO, M.E. et al. Potential of *Kalanchoe pinnata* as a Cancer Treatment Adjuvant and an Epigenetic Regulator. **Molecules**, v. 27, p. 6425, 2022.

HERRANDO-MORAIRA, S. et al. Global distribution patterns and niche modelling of the invasive *Kalanchoe × houghtonii* (Crassulaceae). **Sci Rep**, v. 10, n. 1, p. 1-18, 2020.

HERRERA et al. Plantlet recruitment is the key demographic transition in invasion by *Kalanchoe daigremontiana*. **Population Ecology**, v. 54, n. 1, p. 225-237, 2011.

HEWAGAMA, S.P.; HEWAWASAM, R.P. Antiuro lithiatic Potential of Three Sri Lankan Medicinal Plants by the Inhibition of Nucleation, Growth, and Aggregation of Calcium Oxalate Crystals In Vitro. **Sci. World J.**, v. 2022, p. 8657249, 2022.

HSIEH, Y.J. et al. *Kalanchoe tubiflora* extract inhibits cell proliferation by affecting the mitotic apparatus. **BMC Complement Altern Med**, v. 12, p. 59, 2012.

HSIEH, Y.J. et al. Anticancer activity of *Kalanchoe tubiflora* extract against human lung cancer cells in vitro and in vivo. **Environ. Toxicol.**, v. 31, p. 1663–1673, 2015.

HUANG, H.C. et al. Cardenolides and bufadienolide glycosides from *Kalanchoe tubiflora* and evaluation of cytotoxicity. **Planta Medica**, v. 79, n. 14, p. 1362-1369, 2013a.

HUANG, H.C. et al. A new megastigmane from *Kalanchoe tubiflora* (Harvey) Hamet. **Phytochem. Lett.**, v. 6, p. 379–382, 2013b.

IBRAHIM, T. et al. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of *Kalanchoe brasiliensis*. **Int. Immunopharmacol.**, v. 2, p. 875–883, 2002.

JAISWAL, S. et al. *Kalanchoe pinnata* - a promising source of natural antioxidants. **Eur. J. Med. Plants**, v. 4, n. 10, p. 1210-1222, 2014.

JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York: McGraw Hill Book, 1940. p. 41-193.

KADAM, S. et al. From Treatise to Test: Evaluating Traditional Remedies for Anti-Biofilm Potential. **Front. Pharmacol.**, v. 11, 2020.

KAMBOJ, A.; SALUJA, A.K. *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz: phytochemical and pharmacological profile: A review. **Pharmacogn. Rev.**, v. 3, n. 6, p. 364-375, 2009.

KAMGANG, R. et al. Effect of methanolic fraction of *Kalanchoe crenata* on metabolic parameters in adriamycin-induced renal impairment in rats. **Indian J. Pharmacol.**, v. 44, n. 5, p. 566-570, 2012.

KENDERSON, C.A.; KAGORO, M.L.; ADELAKUN, E.A. Phytochemical and Pharmacological Evaluation of Nigerian *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Stem-Bark. **J. Chem. Soc. Nigeria**, v. 46, n. 4, p. 0751-0756, 2021.

KIRAN, K.R. et al. Untargeted metabolomics and DNA barcoding for discrimination of *Phyllanthus* species. **J. Ethnopharmacol.**, v. 273, p. 113928, 2021.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J.; STOCHMAL, A. Bufadienolides of *Kalanchoe* species: an overview of chemical structure, biological activity, and prospects for pharmacological use. **Phytochem. Rev.**, v. 16, p. 1155–1171, 2017.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J. et al. Antioxidant efficacy of *Kalanchoe daigremontiana* bufadienolide-rich fraction in blood plasma in vitro. **Pharm. Biol.**, v. 54, n. 12, p. 3182-3188, 2016.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J. et al. Bufadienolides from *Kalanchoe daigremontiana* as thrombin inhibitors – in vitro and in silico study. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 99, p. 141-150, 2017.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J. et al. Bufadienolides from *Kalanchoe daigremontiana* modulate the enzymatic activity of plasmin - In vitro and in silico analyses. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 120, p. 1591-1600, 2018

KOURI, G. et al. Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 8, n. 2, p. 155-162, 2007. ISSN 1466-8564.

KRUK, J. et al. Novel vitamin E forms in leaves of *Kalanchoe daigremontiana* and *Phaseolus coccineus*. **J. Plant Physiol.**, v. 168, p. 2021-2027, 2011.

KUETE, V. et al. Cytotoxicity of the methanol extracts of *Elephantopus mollis*, *Kalanchoe crenata* and 4 other Cameroonian medicinal plants towards human carcinoma cells. **BMC Complement. Altern. Med.**, v. 17, n. 1, p. 280, 2017.

KUKUIA, K.K. et al. Phytotherapy of experimental depression: *Kalanchoe integra* var. *crenata* (Andr.) Cuf leaf extract. **J. Pharm. Bioallied Sci.**, v. 7, n. 1, p. 26, 2015.

KUO, P.C. et al. Cytotoxic principles and α -pyrone ring-opening derivatives of bufadienolides from *Kalanchoe hybrida*. **Tetrahedron**, v. 64, n. 15, p. 3392-3396, 2008.

LAI, Z.R. et al. Analgesic and anti-inflammatory activities of the methanol extract of *Kalanchoe gracilis* (L.) DC stem in mice. **Am J Chin Med**, v. 38, n. 3, p. 529-546, 2010.

LAI, Z.R. et al. Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antiproliferative Activities of *Kalanchoe gracilis* (L.) DC Stem. **Am J Chin Med**, v. 39, n. 6, p. 1275-1290, 2011.

LAMBRIGGER-STEINER, C. et al. Sleep quality in pregnancy during treatment with *Bryophyllum pinnatum*: An observational study. **Phytomedicine**, v. 21, p. 753–757, 2014.

LEAL-COSTA, M.V. et al. Influence of Blue Light on the Leaf Morphoanatomy of In Vitro *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) Persoon (Crassulaceae). **Microsc Microanal**, v. 16, p. 576-582, 2010.

LEBEDEVA, A.A. et al. Bactericide, Immunomodulating, and Wound Healing Properties of Transgenic *Kalanchoe pinnata* Synergize with Antimicrobial Peptide Cecropin P1 In Vivo. **J Immunol Res**, 2017.

LI, C. et al. Rapid characterization of chemical markers for discrimination of Moutan Cortex and its processed products by direct injection-based mass spectrometry profiling and metabolomic method. **Phytomedicine**, v. 45, p. 76-83, 2018.

LIU, C. et al. Key KdSOC1 gene expression profiles during plantlet morphogenesis under hormone, photoperiod, and drought treatments. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 1, 2016.

LIU, K.C.S. et al. Eupafolin Rhamnosides from *Kalanchoe gracilis*. **J. Nat. Prod.**, v. 52, n. 5, p. 970-974, 1989.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas exóticas cultivadas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, p. 223-223, 2008.

MAHATA, S. et al. Anticancer property of *Bryophyllum pinnata* (Lam.) Oken. leaf on human cervical cancer cells. **BMC Complement. Altern. Med.**, v. 12, p. 15, 2012.

MAJAZ, A.Q. et al. Evaluation of Antimicrobial activity of Roots of *K. pinnata*. **Int. J. Pharmacol. Bio Sci.**, v. 5, n. 1, p. 93-96, 2011b.

MAJAZ, A.Q. et al. The Miracle Plant (*Kalanchoe pinnata*): A Phytochemical and Pharmacological Review. **Int. J. Res. Ayurveda Pharm.**, v. 2, p. 1478–1482, 2011.

MANAN, M. et al. Phytochemical screening of different extracts of *Kalanchoe laciniata*. Pak. **J. Pharm. Sci.**, v. 29, n. 4, p. 1321-1324, 2015.

MANFRON, J. Farmacobotânica: uma ferramenta importante para a detecção de adulterações em matérias-primas vegetais. In: BARATTO, L.C., editor. A farmacognosia no Brasil. Petrópolis, RJ: Ed. do autor, 2021.

MATTOLI, L.; GIANNI, M.; BURICO, M. Mass spectrometry-based metabolomic analysis as a tool for quality control of natural complex products. **Mass Spec Rev.**, v. 42, p. 1358-1396, 2023.

MAWLA, F. et al. Ethnomedicinal plants of folk medicinal practitioners in four villages of Natore and Rajshahi districts, Bangladesh. **Am Eurasian J Sustain Agric**, v. 6, p. 406-416, 2012.

MAYORGA, O.A.S. et al. *Kalanchoe brasiliensis* Cambess., a promising natural source of antioxidant and antibiotic agents against multidrug-resistant pathogens for the treatment of *Salmonella* gastroenteritis. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, 2019.

MCKENZIE, R.A. et al. The toxicity to cattle and bufadienolide content of six Bryophyllum species. **Aust. Vet. J.**, v. 64, n. 10, p. 298-301, 1987.

MEKONNEN, A.B.; MOHAMMED, A.S.; TEFERA, A.K. Ethnobotanical Study of Traditional Medicinal Plants Used to Treat Human and Animal Diseases in Sedie Muja District, South Gondar, Ethiopia. **Evid.-Based Complement. Altern. Med.**, 2022, p. 7328613, 2022.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons. Vol. 1, Clarendon Press, Oxford, p. 243-245, 1950.

MILAD, R. et al. Genus Kalanchoe (Crassulaceae): A Review of Its Ethnomedicinal, Botanical, Chemical and Pharmacological Properties. **Journal of Medicinal Plants**, v. 4, p. 86-104, 2014.

MISHRA, R.; POUNIKAR, Y.; GANGWAR, M. Extraction, Phytochemical screening and quantitative determination of phenols and flavonoids in extract of Kalanchoe pinnata and Pongamia pinnata. **J. Drug Deliv. Ther.**, v. 9, n. 4, p. 192-196, 2019.

MOLINA, G.A. et al. Green synthesis of Ag nanoflowers using Kalanchoe daigremontiana extract for enhanced photocatalytic and antibacterial activities. **Colloids Surf. B Biointerfaces**, v. 180, p. 141-149, 2019.

MONIUSZKO-SZAJWAJ, B. et al. New Bufadienolides Isolated from the Roots of Kalanchoe daigremontiana (Crassulaceae). **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 243, 2016.

MORA-PÉREZ, A.; HERNÁNDEZ-MEDEL, M.D.R. Anticonvulsant activity of methanolic extract from Kalanchoe pinnata (Lam.) stems and roots in mice: A comparison to diazepam. **Neurología**, v. 31, n. 3, p. 161-168, 2016.

MOREIRA, N.S. et al. Comparative anatomy of leaves of Kalanchoe pinnata and K. crenata in sun and shade conditions, as a support for their identification. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 929-936, 2012.

MOURÃO, R.H.V. et al. Antiinflammatory Activity and Acute Toxicity (LD50) of the Juice of Kalanchoe brasiliensis (Comb.) Leaves Picked Before and During Blooming. **Phytother. Res.**, v. 13, p. 352-354, 1999.

MUTIE, F.M. et al. Important Medicinal and Food Taxa (Orders and Families) in Kenya, Based on Three Quantitative Approaches. **Plants**, v. 12, p. 1145, 2023.

MUZITANO, M.F. et al. Influence of cultivation conditions, season of collection and extraction method on the content of antileishmanial 131 flavonoids from Kalanchoe pinnata. **J. Ethnopharmacol.**, v. 133, p. 132-137, 2011.

MUZITANO, M.F. et al. Quercitrin: An antileishmanial flavonoid glycoside from Kalanchoe pinnata. **Planta Med.**, v. 72, p. 81-83, 2006.

NASCIMENTO, L.B.S. et al. Bioactive Compounds from Kalanchoe Genus Potentially Useful for the Development of New Drugs. **Life**, v. 13, p. 646, 2023.

NASCIMENTO, L.B.S. et al. Increased antioxidant activity and changes in phenolic profile of *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) Persoon (Crassulaceae) specimens grown under supplemental blue light. **Photochem. Photobiol.**, v. 89, p. 391-399, 2013.

NASCIMENTO, L.B.S. et al. Optimization of Aqueous Extraction from *Kalanchoe pinnata* Leaves to Obtain the Highest Content of an Anti-inflammatory Flavonoid Using a Response Surface Model. **Phytochem. Anal.**, v. 29, n. 3, p. 308-315, 2018.

NASCIMENTO, L.B.S. et al. Ultraviolet-B radiation effects on phenolic profile and flavonoid content of *Kalanchoe pinnata*. **J. Photochem. Photobiol. B Biol.**, v. 148, p. 73–81, 2015.

NGEZAHAYO, J. et al. Medicinal plants used by Burundian traditional healers for the treatment of microbial diseases. **J. Ethnopharmacol.**, v. 173, p. 338-351, 2015.

NGUELEFACK, T.B. et al. Analgesic and anticonvulsant effects of extracts from the leaves of *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haworth (Crassulaceae). **J. Ethnopharmacol.**, v. 106, p. 70–75, 2006.

NIELSEN, A.H. et al. Flavonoids in flowers of 16 *Kalanchoë blossfeldiana* varieties. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2829–2835, 2005.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368–373, 1964.

ODUKOYA, J.O.; MMUTLANE, E.M.; NDINTEH, D.T. Ethnopharmacological Study of Medicinal Plants Used for the Treatment of Cardiovascular Diseases and Their Associated Risk Factors in sub-Saharan Africa. **Plants**, v. 11, p. 1387, 2022.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. Farmacognosia: Identificação de Drogas Vegetais. São Paulo: Atheneu, 2014.

OUFIR, M. et al. Quantification of bufadienolides in *Bryophyllum pinnatum* leaves and manufactured products by UHPLC-ESIMS/MS. **Planta Medica**, v. 81, p. 12-13, 1190-1197, 2015.

PALUMBO, A. et al. Potential therapeutic effects of underground parts of *Kalanchoe gastonis-bonnierii* on benign prostatic hyperplasia. **Evid Based Complement Alternat Med**, 2019.

PATIL, S.B. et al. Antidiabetic activity of *Kalanchoe pinnata* in streptozotocin-induced diabetic rats by glucose independent insulin secretagogue action. **Pharm Biol.**, v. 51, n. 11, p. 1411-1418, 2013.

PAUL, A. et al. Ethnopharmacological Potential of Phytochemicals and Phytogetic Products against Human RNA Viral Diseases as Preventive Therapeutics. **BioMed Res. Int.**, v. 2023, p. 1977602, 2013.

PEARSE, A.G.E. Histochemistry: Theoretical and Applied. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1972.

- PELLEGRINI, N. et al. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. **Methods Enzymol.**, v. 299, p. 379-389, 1999.
- PEREIRA, K.M.F. et al. The psychoactive effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken leaves in young zebrafish. **PLoS ONE**, v. 17, p. e0264987, 2022.
- PERERA, W.H. et al. An improved high-performance thin-layer chromatographic method to unambiguously assess *Ginkgo biloba* leaf finished products. **J. Planar Chromatogr. Mod. TLC**, v. 34, n. 6, p. 559–560, 2021.
- PEREZ DE SOUZA, L. et al. Ultra-high-performance liquid chromatography high-resolution mass spectrometry variants for metabolomics research. **Nat. Methods**, v. 18, p. 733-746, 2021.
- PHATAK, R.S. Lack of anthelmintic activity of *Kalanchoe pinnata* fresh leaves. **J. Pharm. Negat. Results**, v. 7, p. 21–24, 2016.
- PINHEIRO, N.A.P. et al. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de *Bryophyllum laetivirens* (desc.) V.v. Byalt. **Rev. Coleta Científica**, v. 4, n. 7, p. 11-16, 2020.
- PLANGGER, N. et al. Intravenous tocolysis with *Bryophyllum pinnatum* is better tolerated than beta-agonist application. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, v. 124, p. 168–172, 2006.
- PLUMB, R.S. et al. UPLC/MS(E); a new approach for generating molecular fragment information for biomarker structure elucidation. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, v. 20, n. 13, p. 1989-1994, 2006.
- POWO. Crassulaceae. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet, 2023. Available online: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30000887-2> (accessed on 6 April 2023).
- POWO. *Kalanchoe*. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet, 2023. Available online: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30060186-2> (accessed on 6 April 2023).
- QUINTERO, E.J. et al. Evaluation of the Leaf Extracts of *Kalanchoe pinnata* and *Kalanchoe daigremontiana* Chemistry, Antioxidant and Anti-inflammatory Activity. **Eur. J. Med. Plants**, v. 32, n. 5, p. 45-54, 2021.
- RAADTS, E. The Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae) in Tropical East Africa. **Willdenowia**, v. 8, n. 1, p. 101-157, 1977.
- RAMON, P. et al. Bioactive Ingredients in *K. pinnata* Extract and Synergistic Effects of Combined *K. pinnata* and Metformin Preparations on Antioxidant Activities in Diabetic and Non-Diabetic Skeletal Muscle Cells. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 24, p. 6211, 2023.

RICHWAGEN, N. et al. Antibacterial activity of *Kalanchoe mortagei* and *K. fedtschenkoi* against ESKAPE pathogens. **Front. Pharmacol.**, v. 10, p. 67, 2019.

ROESER, K.R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 33-36, 1972.

SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J.D. et al. Blood-Brain Barrier Permeability Study of Potential Neuroprotective Compounds Recovered from Plants and Agri-Food by-Products. **Front. Nutr.**, v. 9, p. 924596, 2022.

SANTOS, S. et al. Bryophyllum pinnatum Compounds Inhibit Oxytocin-Induced Signaling Pathways in Human Myometrial Cells. **Front. Pharmacol.**, v. 12, p. 1-10, 2021.

SARAVANAN, V.; MURUGAN, S.S.; KUMARAVEL, T.S. Genotoxicity studies with an ethanolic extract of *Kalanchoe pinnata* leaves. **Mutat. Res./Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.**, v. 856–857, p. 503229, 2020.

SARKAR, R. et al. Antimicrobial properties of *Kalanchoe blossfeldiana*: a focus on drug resistance with reference to quorum sensing-mediated bacterial biofilm formation. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 67, p. 951–962, 2015.

SASS, J.E. Response of meristems of seedlings to benzene hexachloride used as a seed protectant. **Science**, v. 114, n. 2966, p. 466, 1951.

SAZHINA, N.N. et al. A Comparative Analysis of the Antioxidant Activity of *Kalanchoe* Juices. **Russ. J. Bioorg. Chem.**, v. 40, p. 771–776, 2014.

SBFgnosia. <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/amido.html>

SCHMIDT, C. et al. Biological studies on Brazilian plants used in wound healing. **J. Ethnopharmacol.**, v. 122, n. 3, p. 523-532, 2009.

SHARIF, A. et al. Genotoxic and Cytotoxic Potential Of Whole Plant Extracts Of *Kalanchoe Laciniata* By Ames And Mtt Assay. **EXCLI Journal**, v. 16, p. 593-601, 2017.

SHARKER, S.M. et al. Phytochemical and pharmacological studies of *Bryophyllum daigremontianum* (Raym.). **Am. J. PharmTech Res.**, v. 3, p. 484–492, 2013.

SIDDIQUI, S. et al. Triterpenoids and phenanthrenes from leaves of *Bryophyllum pinnatum*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 9, p. 2433-2438, 1989.

SIEMS, K. et al. On the chemical nature of epicuticular waxes in some succulent *Kalanchoe* and *Senecio* species. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 50, p. 451-454, 1995.

SIMÕES-WÜST, A.P. et al. Sleep Quality Improves During Treatment with *Bryophyllum pinnatum*: An Observational Study on Cancer Patients. **Integr. Cancer Ther.**, v. 14, p. 452–459, 2015.

SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SINGAB, A.B. et al. Phenolics from *Kalanchoe marmorata* Baker, Family Crassulaceae. **Bulletin of Faculty of Pharmacy**, v. 49, n. 1, p. 1-5, 2011.

SMITH, G.F.; FIGUEIREDO, E.; van WYK, A.E. Chapter 4 - The Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae) in Southern Africa. **Academic Press**, p. 23-28, 2019.

SNOUSSI, A. et al. Drying methodology effect on the phenolic content, antioxidant activity of *Myrtus communis* L. leaves ethanol extracts and soybean oil oxidative stability. **BMC Chemistry**, v. 15, p. 31, 2021.

SOARES, J.R. et al. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. **Free Radic. Res.**, v. 26, p. 469, 1997.

STEFANOWICZ-HAJDUK, J. et al. Identification of Flavonoids and Bufadienolides and Cytotoxic Effects of *Kalanchoe daigremontiana* Extracts on Human Cancer Cell Lines. **Planta Med.**, v. 86, p. 239-246, 2020.

STEFANOWICZ-HAJDUK, J. et al. Biological activities of leaf extracts from selected *Kalanchoe* species and their relationship with bufadienolides content. **Pharm. Biol.**, v. 58, p. 732–740, 2020.

STEFANOWICZ-HAJDUK, J. et al. An In Vitro Anticancer, Antioxidant, and Phytochemical Study on Water Extract of *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet and H. Perrier. **Molecules**, v. 27, p. 2280, 2022.

SUMUDU; CHANDANA, N.G.A.S.; MORLOCK, G.E. Comprehensive bioanalytical multi-imaging by planar chromatography in situ combined with biological and biochemical assays highlights bioactive fatty acids in abelmosk. **Talanta**, v. 223, parte 1, 2021.

SUN, H. et al. Metabolomics study on Fuzi and its processed products using ultra-performance liquid-chromatography/electrospray-ionization synapt high-definition mass spectrometry coupled with pattern recognition analysis. **Analyst**, v. 137, p. 170-185, 2012.

SUPRATMAN, U. et al. New insecticidal bufadienolide, bryophyllin C, from *Kalanchoe pinnata*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 64, p. 1310–1312, 2000.

SUPRATMAN, U. et al. Anti-tumor Promoting Activity of Bufadienolides from *Kalanchoe pinnata* and *K. daigremontiana* × *butiflora*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 65, p. 947–949, 2001.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric.**, v. 19, n. 1, p. 63-68, 1959.

TADESSE, T.Y.; ZELEKE, M.M.; DAGNEW, S.B. Review of Ethnobotanical and Ethnopharmacological Evidence of Some Ethiopian Medicinal Plants Traditionally

Used for Peptic Ulcer Disease Treatment. **Clin. Exp. Gastroenterol.**, v. 15, p. 171–187, 2022.

TAHIR, M. et al. Ethnobotanical study of medicinal plants in Asagirt District, Northeastern Ethiopia. **Trop. Med. Health**, v. 51, p. 1, 2023.

TATSIMO, S.J.N. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of campeferol rhamnoside derivatives from Bryophyllum pinnatum. **BMC Res. Notes**, v. 5, p. 158, 2012.

THE PLANT LIST. Kalanchoe. Disponível em: theplantlist.org/kalanchoe2022. Acesso em: jan. 2022.

TORRES-SANTOS, E.C. et al. Toxicological analysis, and effectiveness of oral Kalanchoe pinnata on a human case of cutaneous leishmaniasis. **Phytother. Res.**, v. 17, p. 801–803, 2003.

TSIMOGIANNIS, D. et al. Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. **Molecules**, v. 12, p. 593-606, 2007.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

USC. United States Congress. Dietary Supplement Health and Education Act of 1994. Public Law No. 103-417, 108 Stat. 4325, 1994.

ÜRMÉNYI, F.G. et al. Anti-HSV-1 and HSV-2 flavonoids and a new kaempferol triglycoside from the medicinal plant Kalanchoe daigremontiana. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 12, p. 1707-1714, 2016.

USP. High-Performance Thin Layer Chromatography procedure for identification of articles of botanical origin. In: United States Pharmacopoeia and National Formulary USP40–NF35. Rockville, MD, USA: United States Pharmacopoeial Convention, Chap. 203, pp. 258–260, 2017.

USP 38 – NF 33 - General Chapter <1064> Identification of Articles of Botanical Origin by High-Performance Thin-layer Chromatography. 2015.

VAN MAARSEVEEN, C.; JETTER, R. Composition of the Epicuticular and Intracuticular Wax Layers On Kalanchoe daigremontiana (Hamet Et Perr. De La Bathie) Leaves. **Phytochemistry**, v. 70, n. 7, p. 899-906, 2009.

VIRŠILE, A. et al. Species-Specific Plant-Derived Nanoparticle Characteristics. **Plants**, v. 11, p. 3139, 2022.

XIAO, Y. et al. Identification of multiple constituents in shuganjiyeu capsule and rat plasma after oral administration by ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Molecules**, 2016.

WAGNER, H.; FISCHER, M.; LOTTER, H. Isolation and Structure Determination of Daigremontianin, a Novel Bufadienolide from *Kalanchoe daigremontiana*. **Planta Med.**, v. 51, p. 169–170, 1985.

WANG, C.Y. et al. Antiviral Ability of *Kalanchoe gracilis* Leaf Extract against Enterovirus 71 and Coxsackievirus A16. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, v. 2012, p. 503165, 2012.

WILD, B. et al. Contribution of carbon fixed by Rubisco and PEPC to phloem export in the Crassulacean acid metabolism plant *Kalanchoe daigremontiana*. **J. Exp. Bot.**, v. 61, n. 5, p. 1375–1383, 2010.

WU, P.L. et al. Kalanchosides A–C, new cytotoxic bufadienolides from the aerial parts of *Kalanchoe gracilis*. **Org. Lett.**, v. 8, n. 23, p. 5207–5210, 2006.

YADAV, V. et al. Histochemical Techniques in Plant Science: More Than Meets the Eye. **Plant Cell Physiol.**, v. 62, n. 10, p. 1509–1527, 2021.

YAMAGISHI, T. et al. Antitumor agents, 110. Bryophyllin B, a novel potent cytotoxic bufadienolide from *Bryophyllum pinnatum*. **J. Nat. Prod.**, v. 52, p. 1071–1079, 1989.

YANG, X. et al. The *Kalanchoë* genome provides insights into convergent evolution and building blocks of crassulacean acid metabolism. **Nat. Commun.**, v. 8, p. 1899, 2017.

YULIANI, T.; DEWIJANTI, I.D.; BANJARNAHOR, S.D.S. Antidiabetic activity of ethanolic extracts of *Kalanchoe pinnata* leaves in alloxan induced hyperglycemic rats. Indones. **J. Pharm.**, v. 27, p. 139–144, 2016.

ZAKHARCHENKO, N.S. et al. Immunomodulating and Revascularizing Activity of *Kalanchoe pinnata* Synergize with Fungicide Activity of Biogenic Peptide Cecropin P1. **J. Immunol. Res.**, 2017.

ZAKHARCHENKO, N.S. et al. Producing Marker-Free *Kalanchoe* Plants Expressing Antimicrobial Peptide Cecropin P1 Gene. **Russ. J. Plant Physiol.**, v. 63, n. 2, p. 273–282, 2016a

ZAKHARCHENKO, N.S. et al. The Obtainment and Characteristics of *Kalanchoe pinnata* L. Plants Expressing the Artificial Gene of the Cecropin P1 Antimicrobial Peptide. **Appl. Biochem. Microbiol.**, v. 52, n. 4, p. 421–428, 2016b.

ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R. et al. Vitamin C and aroma composition of fresh leaves from *Kalanchoe pinnata* and *Kalanchoe daigremontiana*. **Sci. Rep.**, v. 9, p. 19786, 2019.