

Caracterização química de uma cianidina glicosilada obtida a partir dos extratos de *Kalanchoe laetivirens* e avaliação do seu potencial antimicrobiano

Chemical characterization of a glycosylated cyanidin obtained from *Kalanchoe laetivirens* extracts and evaluation of its antimicrobial potential

Caracterización química de una cianidina glicosilada obtenida de extractos de *Kalanchoe laetivirens* y evaluación de su potencial antimicrobiano

Recebido: 06/10/2021 | Revisado: 15/10/2021 | Aceito: 02/11/2021 | Publicado: 15/11/2021

Deuzilene da Silva Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5327-8987>

Universidade Nilton Lins, Brasil

E-mail: deuzileneferreira02@gmail.com

Paulo Alexandre Lima Santiago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1940-7447>

Universidade do Estado do Amazonas, Brasil

E-mail: psantiago@uea.edu.br

Bruna Ribeiro de Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6481-9213>

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

E-mail: bruna.ribeiro09@hotmail.com

Elzalina Ribeiro Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9267-8841>

Universidade do Estado do Amazonas, Brasil

E-mail: elzalina.ufam@gmail.com

Richardson Alves de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7476-3786>

Secretaria de Estado de Educação e Qualidade de Ensino do Amazonas, Brasil

E-mail: richardson.ufam@gmail.com

Ketlen Christine Ohse

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7756-7724>

Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Leônidas e Maria Deane, Brasil

E-mail: ketlenohse@gmail.com

Alessandra de Oliveira Cruz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4421-441X>

Universidade Nilton Lins, Brasil

E-mail: alessandra130778@gmail.com

Sarah Raquel Silveira da Silva Santiago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6943-8436>

Universidade do Estado do Amazonas, Brasil

E-mail: srhaquel@hotmail.com

Resumo

A espécie *Kalanchoe laetivirens* é uma suculenta proveniente de áreas tropicais como a África e Ásia. Devido ao clima favorável, esta planta foi introduzida no Brasil onde é utilizada como alternativa medicinal para o tratamento de doenças como infecções, inflamações, diarreia e cicatrização de ferimentos. Os compostos presentes neste organismo pertencem, em sua grande maioria, a classe dos flavonoides com atividades antioxidante, gastroprotetora, antiúlcera, cálculos renais, infecções bacterianas e virais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi investigar os compostos químicos presentes nos extratos brutos e das suas frações bem como verificar seu potencial antimicrobiano. Para isso, a amostra vegetal foi submetida à extração com etanol 70% sendo fracionada em seguida com hexano, clorofórmio e acetato de etila. Tais extratos foram analisados em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massas para verificar os íons presentes nas amostras. Foi encontrado composto 3,7-di-O-ramnosil-cianidina, a uma cianidina glicosilada. Sua atividade antimicrobiana foi determinada como sendo negativa frente aos patógenos testados.

Palavras-chave: Plantas medicinais; Cianidin; Antimicrobiano.

Abstract

The species *Kalanchoe laetivirens* is a succulent from tropical areas such as Africa and Asia. Due to the favorable climate, this plant was introduced in Brazil where it is used as a medicinal alternative for the treatment of diseases

such as infections, inflammations, diarrhea and wound healing. The compounds present in this organism belong, for the most part, to the class of flavonoids with antioxidant, gastroprotective, antiulcer, kidney stones, bacterial and viral infections. Thus, the objective of this work was to investigate the chemical compounds present in crude extracts and their fractions, as well as to verify their antimicrobial potential. For this, the plant sample was subjected to extraction with 70% ethanol and then fractionated with hexane, chloroform and ethyl acetate. Such extracts were analyzed in high performance liquid chromatography coupled to a mass spectrometer to verify the ions present in the samples. 3,7-di-O-rhamnosyl-cyanidin was found to be a glycosylated cyanidin. Its antimicrobial activity was determined to be negative against the tested pathogens.

Keywords: Medicinal plants; Cyanidin; Antimicrobial.

Resumen

La especie *Kalanchoe laetivirens* es una suculenta de áreas tropicales como África y Asia. Debido al clima favorable, esta planta fue introducida en Brasil donde se utiliza como alternativa medicinal para el tratamiento de enfermedades como infecciones, inflamaciones, diarreas y cicatrización de heridas. Los compuestos presentes en este organismo pertenecen, en su mayor parte, a la clase de flavonoides con antioxidantes, gastroprotectores, antiulcerosos, cálculos renales, infecciones bacterianas y virales. Así, el objetivo de este trabajo fue investigar los compuestos químicos presentes en los extractos crudos y sus fracciones, así como verificar su potencial antimicrobiano. Para ello, la muestra de la planta se sometió a extracción con etanol al 70% y luego se fraccionó con hexano, cloroformo y acetato de etilo. Dichos extractos se analizaron en cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un espectrómetro de masas para verificar los iones presentes en las muestras. Se encontró que la 3,7-di-O-rhamnosil-cianidina era una cianidina glicosilada. Se determinó que su actividad antimicrobiana era negativa frente a los patógenos probados.

Palabras clave: Plantas medicinales; Cianidina; Antimicrobiano.

1. Introdução

1.1 Gênero *Kalanchoe*

Atualmente há várias espécies de plantas que são utilizadas para fins medicinais. Muitas dessas são nativas e outras foram introduzidas no Brasil e conseguiram sobreviver somando-se à diversidade local (Santos & Silva *et al.*, 2020). Dentre estas, destaca-se os indivíduos do gênero *Kalanchoe* que são nativas das regiões subtropicais e tropicais da África, Ásia, Austrália e América (Czepas; Stochmal, 2017).

As plantas do gênero *Kalanchoe* possuem aproximadamente 125 espécies de plantas conhecidas por possuírem o metabolismo adaptado a ambientes secos por serem suculentas, o que caracteriza a família a qual pertence. São popularmente conhecidas como aranto, flor-da-fortuna, calanchoê, calandiva, entre outros (Costa, 2012; Campelo, 2019).

Há várias espécies deste gênero que são utilizados para tratamento de úlceras gástricas, cálculos renais, artrite reumatoide, infecções microbianas, doenças dermatológicas e câncer (Mendonça *et al.*, 2018).

1.2 *Kalanchoe laetivirens*

A espécie *K. laetivirens* é uma suculenta originária de áreas tropicais, principalmente da África sendo algumas espécies deste gênero amplamente distribuídas na horticultura (Milad; El-Ahmady; Singab, 2014). Pertence ao reino Plantae, Filo Tracheophyta, classe Magnoliopsida, ordem Saxifragales, família Crassulaceae e gênero *Kalanchoe*, apresenta potencial ornamental, mas é pouco estudada, principalmente em relação à sua biologia (Souza Filho *et al.*, 2021).

É considerada uma planta medicinal utilizada como antiinflamatório e analgésico na medicina tradicional, possui fácil cultivo e proliferação nas folhas, onde cresce pequenas raízes, originando pequenas mudas (Sousa Filho *et al.*, 2021). Recentemente, foi relatado que estas plantas são citotóxicas, no entanto, os dados sobre o seu uso tradicional no tratamento de tumores são extremamente limitados (Stefanowicz-Hajduk *et al.*, 2020). Segundo Sousa Filho *et al.* (2021), realizaram uma pesquisa com *K. laetivirens* na área de biologia reprodutiva e os resultados são relevantes para o entendimento da sua relação com os visitantes florais. Outro estudo concluiu que o seu extrato reverte a resistência ao etoposídeo em células humanas de câncer de pulmão A549 por meio da regulação negativa de NF-κB (Kaewpiboon *et al.*, 2013).

1.3 Atividade biológica dos compostos químicos de *K. laetivirens*

Conforme Kolodziejczyk-czepas e Stochmal (2017), as plantas do gênero *Kalanchoe* são fonte de bufadienolidos com estruturas químicas de 31 compostos, propriedades biológicas e perspectivas de uso terapêutico. Segundo Mendonça *et al.* (2018), no gênero *Kalanchoe* há a presença de fenóis, flavonas, catequinas e esteroides, encontrados através de estudos que demonstram o seu potencial terapêutico para diversos tipos de doenças.

A *K. laetivirens* é uma planta que apresenta compostos químicos com propriedades antioxidantes nas fases aquosa. Já nas fases de caráter lipofílico, encontram-se compostos fenólicos e polifenóis (Rice-Evans *et al.*, 1997), pertencendo a família Crassulaceae também contém o metabolismo ácido de Crassulaceae (CAM). Alguns estudos fitoquímicos relatam que a maioria das plantas desta família contém 55 tipos diferentes de compostos fenólicos, 8 esteróides e 8 lactonas e cardiolactonas de butadieno (Allorge-Boiteaj,1996; EID *et al.*,2018).

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo investigar os compostos químicos das folhas de *K. laetivirens* e seu potencial antimicrobiano.

2. Metodologia

2.1 Obtenção do material vegetal, elaboração do extrato fracionamento

O material vegetal foi obtido de um produtor local da cidade de Manaus. A planta foi devidamente armazenada em sacos de papel e transportada para o laboratório de Farmacognosia da Universidade Nilton Lins onde foi devidamente higienizado com água destilada. As folhas foram cortadas e secas em estufa a 50 °C. Os extratos foram feitos de acordo com a metodologia estabelecida pelo Ministério da saúde (BRASIL, 1959) e por Sobreira (2013) com algumas adaptações. Realizou-se a maceração das folhas secas em solvente hidroetanólico 70% durante 30 minutos em ultrassom. Tal procedimento foi repetido por três vezes. Em seguida, o extrato foi concentrado em rotaevaporador e a água residual foi removida em dessecador contendo sílica gel. Quando seco, o extrato foi ressuscitado em uma solução de etanol:metanol (9:1) e em seguida foi fracionado na proporção de 1:1 com hexano, clorofórmio e acetato de etila grau PA. As frações obtidas e a parte aquosa, foram secas também em dessecador.

2.2 Determinação do perfil químico dos extratos e experimentos de fragmentação

Para a determinação do perfil químico parou-se uma solução em metanol grau HPLC na concentração de 1 mg/mL.As análises foram realizados na Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas com o auxílio de um Cromatógrafo analítico, modelo Accela, com detector DAD (Thermo Scientific) acoplado a um Espectrômetro de massas, modelo TSQ Quantum Access, com fonte ESI (Thermo Scientific).

Os íons de interesse foram fragmentados por injeção direta em Espectrômetro de massas, modelo TSQ Quantum Access, com fonte ESI (Thermo Scientific) em modo positivo e negativo.

2.3 Atividade antimicrobiana

Os microrganismos utilizados foram as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, as gram-negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* adquiridas da Coleção de Bactérias da Amazônia (CBAM) da Fiocruz Amazônia. As bactérias foram reativadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (HIMEDIA®) e incubadas à 36 ± 1 °C por 24 horas.

Realizou-se o teste conforme as orientações da Clinical and laboratory standards institute (CLSI, 2002, CLSI, 2003). A concentração de células dos patógenos foi ajustada para o padrão 0,5 da escala de turbidez Mc Farland em solução salina 0,85%. Foram feitas soluções de DMSO a 10% dos extratos na concentração de 2 mg/mL Para a realização do teste foram

acrescentados em placa de Elisa 100µL de meio de cultura na concentração dobrada, 100 µL do extrato e 10 µL da suspensão do patógeno. O experimento foi incubado a 36 ± 1 °C por 24 horas. Após o tempo de incubação, adicionou-se 10 µL do revelador cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) para avaliação dos resultados.

3. Resultados e Discussão

3.1 Obtenção do extrato e obtenção das frações

Após a secagem, o rendimento obtido para o extrato bruto foi de 1,5 g e este foi ressuspendido em uma solução de etanol:metanol (9:1) e em seguida foi fracionado na proporção de 1:1 com hexano, clorofórmio e acetato de etila. O rendimento das frações obtidas está descrito na Tabela 1.

Tabela 1: Rendimentos das frações obtidas do extrato bruto de *Kalanchoe laetivirens*.

Código de trabalho	Fração	Peso seco (mg)
1	Acetato	26,7
2	Aquoso	1400
3	Hexano	9,4
4	Clorofórmio	33,5

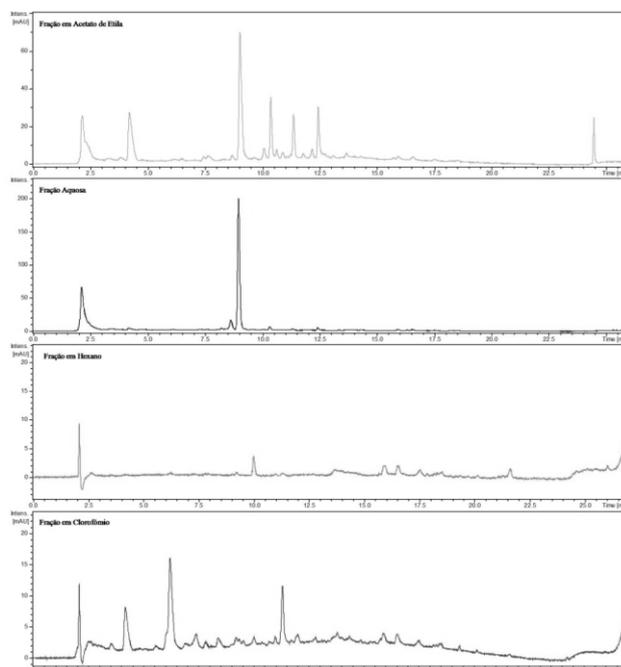
Fonte: Autores.

Após a obtenção do rendimento, foram pesados 1 mg de cada fração para as análises de HPLC-MS e 2 mg para o teste antimicrobiana.

3.2 Análises de High Performance Liquid Chromatography - HPLC das frações de *K. laetivirens*

Foram realizadas análises de HPLC das frações de *K. laetivirens* com o objetivo de determinar o perfil químico das amostras e selecionar as mais promissoras quanto a sua absorvância e menor grau de complexidade. Os perfis químicos das frações no comprimento de onda 254 nm, podem ser observados na Figura 1.

Figura 1: Cromatograma das frações de *K. laetivirens* em $\lambda=254$ nm.



Fonte: Autores.

Conforme pode ser observado na figura acima, a fração em acetato de etila apresenta destaque devido à diversidade de metabólitos e boa absorbância observada. Já a fração aquosa, teve destaque, pois nela encontrou-se um composto majoritário ao longo da análise. O comprimento de onda de 254 nanômetros foi selecionado pois, compostos como flavonóides, saponinas, antocianinas e aromáticos em geral o absorvem (do Nascimento & Yara, 2015). Tendo este resultado, foram selecionadas as frações descritas pra realizar a exploração dos íons em HPLC-MS.

3.3 Análises de HPLC-MS das frações em acetato de etila e aquosa de *K. laetivirens*

As análises de HPLC-MS em modo positivo utilizando fonte ESI da fração em acetato de etila, revelaram a presença dos íons $[M+H]^+$ de m/z 287, 433, 475, 545, 563, 579 e 710. Já em modo negativo foram observados os íons $[M-H]^-$ de m/z 563, 430, 284, 709, 751. Observando os resultados obtidos a partir das análises de HPLC-MS da fração aquosa de *K. laetivirens* utilizando fonte ESI em modo positivo, mostram a presença do íon $[M+H]^+$ de m/z 433, 663, 740 e 763. Em modo negativo foram registrados os íons $[M-H]^-$ de m/z 709, 739, 776, 807 e 871.

Com a determinação dos íons presentes nas frações selecionadas por HPLC-MS, a literatura foi consultada com o objetivo de sondar quais seriam os possíveis constituintes químicos presentes nas amostras. No entanto, não foram encontrados estudos sobre a prospecção dos compostos químicos de *K. laetivirens*, sendo assim para discutir os resultados obtidos no presente estudo, buscou-se comparar com outros indivíduos da mesmo gênero.

De acordo com o estudo realizado por Góraj-Koniarska e colaboradores (2015) utilizando a *K. blossfeldian* foi possível determinar a presença do íon 287 m/z como sendo a Cianidina, um fragmento do composto 3,5 di-O-glicocianidina de m/z 611. Em outro relato sobre o estudo de *K. gracilis*, Liu e colaboradores (1989) revelaram a presença dos íons m/z 709, 751, 563 e concluíram através de experimentos de fragmentação e RMN que estes compostos tratavam-se de flavonoides glicosilados e acetilados.

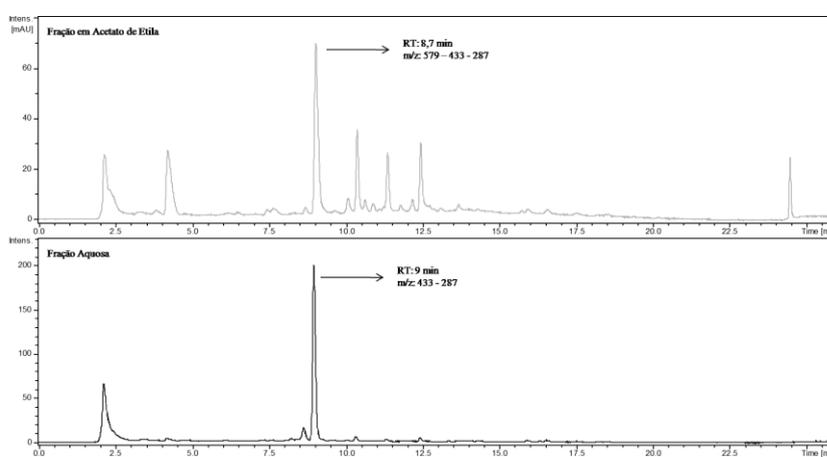
O estudo de Chibli, et al., (2014) mostrou que os íons de m/z 579 e 563 podem ser os compostos arabinopiranosil- (1 → 2) - α -L ramnopiranosídeo e arabinopiranosil- (1 → 2) α -L ramnopiranosídeo. O íon 287 m/z foi reportado no trabalho

realizado por Nielsen et al., (2005) como sendo o composto Kaempferol que apresenta uma estrutura muito similar a da cianidina. Tendo em vista esses dados coletados da literatura e sabendo que alguns dos íons presentes nas frações em acetato de etila e aquosa já foram descritos, foram realizados experimentos de fragmentação de alguns íons.

3.4 Experimentos de fragmentação por HPLC-MS-MS dos íons da fração em acetato de etila e fração aquosa de *K. laetivirens*

Ao observar os resultados obtidos a partir das análises de HPLC-MS-MS e comparando o tempo de retenção e a massa dos fragmentos, notou-se que existe certa similaridade em ao menos um composto presente nas frações em acetato de etila e aquosa conforme pode ser observado na Figura 2.

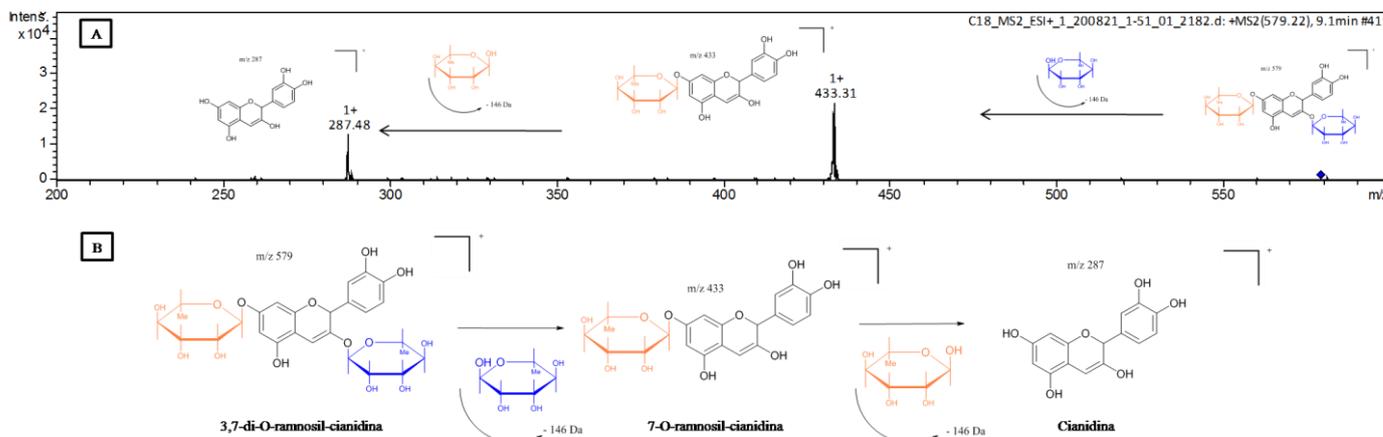
Figura 2: HPLC-MS-MS dos íons $[M+H]^+$ de m/z 579 e 711, respectivamente.



Fonte: Autores.

Conforme observado na figura acima, o íon $[M+H]^+$ de m/z 579, presente na fração em acetato de etila, gera os fragmentos 433 $[(M+H)-146]^+$ e 287 $[(M+H)-292]^+$ e de maneira similar, a fragmentação do íon $[M+H]^+$ de m/z 433 presente na fração aquosa, gera o íon 287 $[(M+H)-146]^+$. Sendo assim, foi elaborada uma única proposta de fragmentação partindo do íon $[M+H]^+$ de m/z 579. Para isso, utilizou-se o estudo realizado por Liu et al., (1989), Hertog et al., (1992), Colombo et al., (2008), que relatam que a fragmentação de ligações O-glicosídicas com perda de 146 Da correspondem a ramnose. Ferreira (2018) observou através do estudo da fragmentação de flavonoides glicosilados que o fragmento de m/z 146 corresponde a uma ramnose. O espectro de massas de fragmentação do íon $[M+H]^+$ m/z 579 e os prováveis nomes compostos estão apresentados na Figura 3.

Figura 3: Em (A) Espectro de fragmentação do $[M+H]^+$ m/z 579. Em (B) proposta de fragmentação do íon m/z 579, presente na fração em acetato de etila e m/z 433 presente no extrato aquoso.



Fonte: Autores.

O composto descrito na proposta acima, pertence à classe dos flavonóides glicosilados que se destacam por apresentar diversas propriedades terapêuticas como antioxidante, anticarcinogênico, cardioprotetora e hepatoprotetora (Behling, 2004). Na proposta estabelecida no presente estudo, o composto 3,7-di-O-ramnosil-cianidina, pertence à subclasse das antocianidinas e para isso, foi utilizado como base o estudo realizado por Góraj-koniarska et al., (2015) sobre os compostos químicos presentes nas raízes de *K. blossfeldiana* onde foi possível observar a presença do íon $[M-2\text{Glc}]^+$ de m/z 287 como fragmento do íon $[M+H]^+$ de m/z 611. Flavonoides da classe antocianidina, e os níveis dessas substâncias podem ser elevados quando a planta é submetida a situações de estresse como exposição à luz UV, indutores orgânicos ou inorgânicos (Zhang, et al., 2002). Vale ressaltar que o 3,7-di-O-ramnosil-cianidina, lançado como proposta de estrutura no presente estudo, não foi encontrado em estudos anteriores usando a *K. laetivirens* como alvo de estudo. No entanto, cianidinas substituídas são comumente encontradas no gênero *Kalanchoe*, conforme descrito por (Saniewski, et al., 2003; Mejía, Gallego, & Arango, 2014; Chaity, et al., 2020)

Os espectros de MS² dos demais compostos presentes nas frações em acetato de etila obtidos do extrato de *K. laetivirens*, estão sendo processados e logo serão comparados com os dados existentes da literatura com o objetivo de propor uma provável estrutura dos seus constituintes químicos.

3.5 Avaliação do potencial antimicrobiano

Realizou-se o ensaio antimicrobiano do extrato bruto e das frações nas concentrações de 2mg/ml frente aos patógenos *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. No entanto o resultado obtido foi negativo para o extrato bruto e suas respectivas frações.

4. Conclusão

O estudo químico realizado através da análise das frações em acetato de etila e aquosa de *K. laetivirens* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Espectrômetro de Massas, revelou a presença do composto 3,7-di-O-ramnosil-cianidina. A metodologia de fracionamento mostrou-se quimicamente seletiva, pois, o composto 3,7-di-O-ramnosil-cianidina está presente de forma majoritária na fração aquosa. Tal substância tem potencial antioxidante que poderá ser explorado em estudos futuros. Não foi encontrada atividade antimicrobiana nas frações estudadas e na concentração testada.

Referências

- Allorge-Boiteaj, L. (1996). Madagascar centre de speciation et d'origine du genre *Kalanchoe* (Crassulaceae). *Biogéographie de Madagascar*, 137-145.
- Behling, E. B., Sendão, M. C., Francescato, H. D., Antunes, L. M., & Bianchi, M. d. (2004). Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, pp. 285-292.
- Campelo, K, B. F. (2014). Acompanhamento e execução paisagística em área residencial no município de Garanhuns. 70 f. TCC (Bacharelado em Agronomia) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, Pernambuco.
- Chaity, A. S., Nasrin, T., Ferdouse, K. J., Haque, M. F., Islam, M. A., Sikdar, B., et al. (2020). Antimicrobial Activity of *Kalanchoe blossfeldiana* and *Paederia foetida* Plant Leaves' Extracts Against Some Selected Bacterial Strains. *Recent Advances in Biology and Medicine*.
- Chibli, L. A., Rodrigues, K. C., Gasparetto, C. M., Pinto, N. C., Fabri, R. L., Sci, E., et al. (2014). Anti-inflammatory effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken ethanol extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 330-338.
- Colombo, R., Yariwake, J. H., & McCullagh, M. (2008). Study of C- and O-glycosylflavones in Sugarcane Extracts using Liquid Chromatography - Exact Mass Measurement Mass Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, pp. 483-490.
- Costa, A. C. de O. (2012). Caracterização e Quantificação de Marcadores Químicos do Extrato Hidroetanólico das Folhas de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess. 123 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte.
- do Nascimento, A. L., & Yara, r. (2015). Isolamento e caracterização de produtos bioativos extraídos de *Ulomoides dermestoides* (FAIRMAIRE, 1893). *Conic XXIII*, (p. 4).
- Eid, O.; Ezzat, S.; Gonaid, M.; Choucry, M. (2018). Crassulaceae (chemistry and pharmacology) - A review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 4, n. 2, p. 234–240.
- Ferreira, G. M. (2018). *Caracterização fitoquímica de frações enriquecidas com flavonoides e proantocianidinas por CLUE-DAD-ESI/EM de espécies medicinais do gênero Ouratea*. Ouro Preto: Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Ouro Preto.
- Góraj-Koniarska, J., Stochmal, A., Oleszek, W., Mołdoch, J., & Saniewski, M. (2015). Elicitation of anthocyanin production in roots of *kalanchoe blossfeldiana* by methyl jasmonate. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, pp. 141-148.
- Hertog, M. G., Hollman, P. C., & Katan, M. B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 2379-2383.
- Kaewpiboon, C.; Srisuttee, R.; Malilas, W.; Moon, J.; Kaowinn, S.; Cho, I.R.; Johnston, R.N.; Assavalapsakul, W.; Chung, Y.H. (2014). Extract of *Bryophyllum laetivirens* reverses etoposide resistance in human lung A549 cancer cells by downregulation of NF-κB. *Oncol Reports*. 161-168.
- Kolodziejczyk-Czepas, J.; Stochmal, A. (2017). Bufadienolides of *Kalanchoe* species: an overview of chemical structure, biological activity and prospects for pharmacological use. *Phytochemistry Reviews*, v. 16, n. 6, p. 1155-1171.
- Liu, K. C., Shi-Lin, Y., Roberts, M. F., & Phillipson, J. D. (1989). Flavonol glycosides with acetyl substitution from *kalanchoe gracilis*. *Phytochemistry*, pp. 2813-2818.
- Mejía, M. A., Gallego, J. T., & Arango, V. (2014). *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet. & H. and its potential use as a source of natural antioxidants and colorants. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, pp. 61-38.
- Mendonça, C.J.S.M.; Ribeiro, D.G.; Pires, T.P.R.S.; Prazeres, G.M.P.; Maciel, A.P.; Silva, F.C. (2018) Perfil fitoquímico do extrato aquoso das folhas da planta aranto (*Kalanchoe* sp). In: 58º Congresso Brasileiro de Química. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2018/trabalhos/7/2037-16638.html>. Acesso em 12 Mar. 2021.
- Milad, R., El-Ahmady, S., Singab, A. (2014). N. Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae): a review of its ethnomedicinal, botanical, chemical and pharmacological properties. *European Journal of Medicinal Plants*, 86-104.
- Nielsen, A. H., Olsen, C. E., & Møller, B. L. (2005). Flavonoids in flowers of 16 *Kalanchoe blossfeldiana* varieties. *Phytochemistry*, pp. 2829-2835.
- Rice-Evans, C.A; Miller, N.J; Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compostos. *Trends Plant Science*. 2 (4): 152–159.
- Saniewski, M., Horbowicz, M., Puchalski, J., & Ueda, J. (2003). Methyl jasmonate stimulates the formation and the accumulation of anthocyanin in *Kalanchoe blossfeldiana*. *Acta PHYSIOLOGIAE PLANTARUM*, pp. 143-149.
- Santos, M. N. L.; Silva, M. N. S.; Silva, R. S.; Silva, M. T.; Lima, R. Q. (2020). O uso medicinal da *Kalanchoe pinnata* (Corama) no tratamento da gastrite / The medicinal use of *Kalanchoe pinnata* (Corama) in the treatment of gastritis. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 6, p. 18133–18144.
- Sousa Filho, L. N.; Albarello, J. B.; Cardozo, M. M.; Faita, M. R.; Santos, C. M. R. (2021). Reproductive biology of *Kalanchoe laetivirens* (Crassulaceae) in the edaphoclimatic conditions of Santa Catarina, Brazil. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 1, p.1-13.
- Stefanowicz-Hajduk, J.; Asztemborska, M.; Krauze-Baranowska, M.; Godlewska, S.; Gucwa, M.; Moniuszko-Szajwaj, B.; Stochmal, A.; Ochocka, R. (2020). Identification of Flavonoids and Bufadienolides and Cytotoxic Effects of *Kalanchoe daigremontiana* Extracts on Human Cancer Cell Lines. *Planta Medica*. 86.
- Zhang, W., Curtin, C., Kikuchi, M., & Franco, C. (2002). Integration of jasmonic acid and light irradiation for enhancement of anthocyanin biosynthesis in *Vitisvinifera* suspension cultures. *Plant Science*, pp. 459-468.