



**INSTITUTO
FEDERAL**
Piauí

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PICOS
LICENCIATURA EM QUÍMICA**

WELLINGTON DE MOURA BORGES

**ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO E BIOLÓGICO DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
FOLHAS DA ESPÉCIE *Kalanchoe daigremontiana***

PICOS - PI

2024

WELLINGTON DE MOURA BORGES

**ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO E BIOLÓGICO DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
FOLHAS DA ESPÉCIE *Kalanchoe daigremontiana***

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção
do diploma do Curso de Licenciatura em Química
do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí, *Campus Picos*.

Orientador: Prof. Me. Francisco Junior Coelho
Ferreira

FICHA CATALOGRÁFICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PICOS
COORDENAÇÃO DE BIBLIOTECA
SERVIÇO DE PROCESSOS TÉCNICOS

B732a Borges, Wellington de Moura

Análise do perfil químico e biológico do extrato etanólico das folhas da espécie *Kalanchoe daigremontiana* / Wellington de Moura Borges. — 2024.

43 f.: il.

Monografia (Graduação em Licenciatura em Química) — Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Picos, 2024.

Orientador: Prof. Me. Francisco Junior Coelho Ferreira

1. Química vegetal. 2. Fitoquímica. 3. Toxidade.
I. Título.

CDD: 581.192

WELLINGTON DE MOURA BORGES

**ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO E BIOLÓGICO DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
FOLHAS DA ESPÉCIE *Kalanchoe daigremontiana***

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção
do diploma do Curso de Licenciatura em Química
do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí, *Campus Picos*.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Me. Francisco Junior Coelho Ferreira (Orientador)
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Dr. Ézio Raul Alves de Sá
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Me. José Francisco da Silva Filho
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Aos meus familiares,
professores e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir realizar este trabalho, me concedendo sempre o discernimento e foco necessário para a execução do mesmo.

Aos meus pais, Antonio Varton Neto e Ileni Joana de Moura Borges, por sempre me incentivarem a prosseguir, mesmo diante a todas as dificuldades que surgiram diante desse meu percurso acadêmico.

A minha esposa Vitoria Maria Mendes Eulálio pelo apoio e companheirismo durante todo esse processo.

A todos os meus familiares, que de alguma maneira contribuíram para que eu chegasse até aqui.

A todos os professores do IFPI – Campus Picos, por terem repassado para mim, um dos bens mais preciosos do mundo, que é o conhecimento.

Em especial ao meu Professor orientador, Prof. Me. Francisco Junior Coelho Ferreira, pelos ensinamentos repassado, pelos conselhos que ele deu ao longo dessa jornada e por acreditar em meu potencial.

A Prof^a. Dr^a. Isabella Cristhina Gonçalves Costa, que sempre me incentivou à pesquisa, contribuindo bastante em meu conhecimento, sendo pra mim uma grande referência profissional na área da química.

A Prof^a. Dr^a. Márcia Maria Mesdes Marques, pela parceria com a UFPI de Picos, pelo apoio na realização desse trabalho.

Os meus amigos Rodrigo, José Luiz, Aylla e Gessica que sempre me ajudaram no decorrer do curso, pôr os vários momentos juntos de estudo no IFPI e também fora dele.

Aos meus colegas do laboratório da UFPI de Picos, Matheus e Oliverton que contribuíram para que essa pesquisa acontecesse.

Enfim, a todos que de certa forma me ajudaram para que eu chegasse até aqui.

“Transmitir conhecimento
não é apenas falar o que sabe,
mas inspirar novas atitudes!”

Juliano Kimura

RESUMO

Ao longo dos séculos, as antigas civilizações utilizavam as plantas como um importante recurso terapêutico na cura de diversas doenças. Essas propriedades medicinais atribuídas às espécies vegetais derivam-se dos metabólitos secundários. Entre as inúmeras espécies vegetais, podemos mencionar a *Kalanchoe daigremontiana* conhecida popularmente como aranto ou mãe-de-milhares, o cultivo dessa espécie se dá devido ao seu grande valor ornamental e medicinal na cura de doenças como, dores de garganta e no tratamento de outras inflamações. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo investigar o perfil químico, teor de compostos fenólicos totais e toxicidade do extrato etanólico das folhas da *Kalanchoe daigremontiana*. Na realização dessa pesquisa preparou-se o extrato etanólico das folhas da espécie *Kalanchoe daigremontiana*, onde obteve-se um rendimento de 10,38%, no qual posteriormente foi submetido a testes fitoquímicos qualitativos onde permitiu identificar a presença de compostos fenólicos e esteroides livre, em seguida foi realizado a quantificação de fenóis totais, através do método de *Folin-Ciocalteu* com uma curva de calibração do ácido gálico no qual apresentou resultados 575,5 mg que corroboram com a análise qualitativa do extrato. O ensaio de toxicidade apresentou 3,33% de mortalidade de naupílios de *Artemia salina* nas concentrações de 1000 ppm, sendo considerado atóxico frente a esse teste. Deste modo, novas pesquisas devem ser realizadas com este extrato afim de caracterizar a atividade antioxidante in vivo, bem como outras atividade e caracterização de estruturas químicas.

Palavras-chave: *Kalanchoe daigremontiana*; fitoquímica; toxicidade.

ABSTRACT

Over the centuries, ancient civilizations used plants as an important therapeutic resource in curing various diseases. These medicinal properties attributed to plant species are derived from secondary metabolites. Among the countless plant species, we can mention the *Kalanchoe daigremontiana* popularly known as aranto or mother-of-thousands, the cultivation of this species is due to its great ornamental and medicinal value in curing diseases such as sore throats and in the treatment of other inflammations. In this context, the present work aims to investigate the chemical profile, content of total phenolic compounds and toxicity of the ethanolic extract from the leaves of *Kalanchoe daigremontiana*. In carrying out this research, an ethanolic extract from the leaves of the *Kalanchoe daigremontiana* species was prepared, yielding a yield of 10.38%, which was subsequently subjected to qualitative phytochemical tests which allowed the presence of phenolic compounds and free steroids to be identified, Then, total phenols were quantified using the Folin-Ciocalteu method with a gallic acid calibration curve, which presented results of 575.5 mg, corroborating the qualitative analysis of the extract. The toxicity test showed 3.33% mortality of *Artemia salina* naupiles at concentrations of 1000 ppm, being considered non-toxic in this test. Therefore, new research must be carried out with this extract in order to characterize the antioxidant activity in vivo, as well as other activities and characterization of chemical structures.

Keywords: *Kalanchoe daigremontiana*; phytochemistry; toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ácido gálico (A), Geraniol (B) e Cafeína (C)	18
Figura 2 – Estruturas química da morfina, nicotina e cocaína	19
Figura 3 – Folhas da espécie <i>Kalanchoe daigremontiana</i>	22
Figura 4 – Estrutura química do bufadienolideo	23
Figura 5 – Microcrustáceo de água salgada <i>Artemia salina</i>	25
Figura 6 – Esquema de preparação e execução do teste de toxicidade em <i>Artemia salina</i>	30
Figura 7 – Mudança de coloração do reativo de Folin-Ciocalteu na presença de compostos fenolicos	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil fitoquímico qualitativo do extrato etanólico das folhas da espécie <i>K. daigremontiana</i>	32
Tabela 2 – Percentual de náupilos mortos de <i>A. salina</i> frente à diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas da <i>k. daigremontiana</i>	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFPI	Universidade Federal do Piauí
CSHNB	Campus Senador Helvídeo Nunes de Barros
CAM	Ácido crassuláceo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
DMSO	Dimetilsulfóxido
L	Litro
mg	Miligrama
µm	Micrómetro
mm	Milímetro
g	Gramas
mL	Mililitro
UV-Vis	Espectroscopia no Ultravioleta Visível
µL	Microlitro
mL	Mililitro
Ppm	Concentração em partes por milhão
pH	Potencial Hidrogeniônico

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	grau Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 O USO DAS PLANTAS MEDICINAIS	17
2.2 OS METABÓLITOS PRODUZIDOS PELAS PLANTAS E A FITOQUÍMICA	17
2.3 PREPARO DE EXTRATOS VEGETAIS	20
2.3.1 Extração por Maceração	20
2.3.2 Extração por percolação	21
2.3.3 Infusão	21
2.3.4 Decocção	21
2.3.5 Extração em aparelho de soxhlet	21
2.4 A ESPÉCIE KALANCHOE DAIGREMONTIANA (K. DAIGREMONTIANA)	22
2.5 A TOXICIDADE DAS PLANTAS E OS ENSAIOS COM <i>ARTEMIA SALINA</i>	24
3 OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	27
4.1 MODALIDADE DA PESQUISA	27
4.2 COLETA E PREPARO DO MATERIAL VEGETAL	27
4.3 PREPARO DO EXTRATO ETANÓLICO	27
4.4 RENDIMENTO TOTAL DO EXTRATO	27
4.5 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	28
4.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	28
4.7 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA FRENTE <i>ARTEMIA SALINA</i>	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 RENDIMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO	31
5.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA	31
5.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS	33
5.4 TOXICIDADE DO EXTRATO FRENTE À <i>ARTEMIA SALINA</i>	34
6 CONCLUSÃO	36
REFERENCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as plantas têm sido amplamente utilizadas como alternativas naturais no tratamento de diversas doenças, desempenhando um papel essencial na medicina tradicional. Esse interesse contínuo motivou as indústrias farmacêuticas a explorar espécies vegetais em laboratórios de produtos naturais, buscando identificar compostos com propriedades terapêuticas relevantes (Moura *et al.*, 2021).

As plantas produzem uma variedade de metabólitos que são classificados em primários e secundários. Os metabólitos primários, como proteínas, ácidos graxos, polissacarídeos e clorofila, são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Rodrigues *et al.*, 2016). Já os metabólitos secundários são responsáveis pela produção de compostos com funções específicas que variam entre as espécies, muitos dos quais são de grande interesse farmacológico, industrial e nutricional. Dentre esses compostos, destacam-se alcaloides, compostos fenólicos, flavonoides e ácidos orgânicos (Rodrigues *et al.*, 2016).

Diversos métodos são empregados para a obtenção dos metabólitos secundários a partir de extratos vegetais. Entre as técnicas mais comuns destacam-se: a maceração, percolação, decocção, infusão e extração contínua quente (Soxhlet). Além da escolha do método extrativo, diversos fatores devem ser levados em consideração no processo de extração como a parte do material vegetal utilizado, o nível de processamento, o solvente que será utilizado, o tempo de extração, polaridade e concentração dos solventes, entre outros (Tiwari *et al.*, 2011).

Uma das espécies de interesse medicinal é a *Kalanchoe daigremontiana*, popularmente conhecida como “aranto” ou “mãe-de-milhares”, pertencente à família Crassulaceae. Esta espécie apresenta uma ampla diversidade de compostos bioativos no qual é bastante utilizada na medicina popular devido as suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, sendo empregada no preparo de chás e sucos para o tratamento de dores de garganta e outras inflamações (Moura *et al.*, 2021). Entretanto, é importante ressaltar que *Kalanchoe daigremontiana* contém compostos tóxicos, o que justifica a necessidade de bioensaios toxicológicos preliminares para avaliar sua segurança (Moura *et al.*, 2021).

Entre os diversos ensaios biológicos, o teste de toxicidade aguda com *Artemia salina*, um microcrustáceo de água salgada, destaca-se pela simplicidade,

rapidez e baixo custo, tornando-se um método viável para avaliações preliminares de toxicidade em extratos vegetais (Nascimento *et al.*, 2009).

Além dos ensaios toxicológicos, é essencial a realização de estudos fitoquímicos que permitam a identificação dos constituintes químicos da planta e a avaliação da presença de classes específicas de compostos. Esses estudos são particularmente importantes quando a espécie demonstra bioatividade, pois orientam a busca pelo isolamento de princípios ativos (Simões *et al.*, 2001; Soares, 2008).

Assim, este trabalho tem como objetivo realizar uma análise fitoquímica, verificar o teor de compostos fenólicos totais e avaliar a toxicidade do extrato etanólico das folhas da espécie *Kalanchoe daigremontiana* coletadas no município de Picos-PI.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O USO DAS PLANTAS MEDICINAIS

De acordo com Herbarium (2004), o Brasil possui a mais extensa e rica biodiversidade do planeta, com milhares de espécies vegetais que apresentam propriedades terapêuticas. O uso dessas plantas para tratar doenças foi fortemente influenciado pelas culturas das antigas civilizações e disseminado através do conhecimento empírico entre comunidades, visando a cura de diversas enfermidades (Sousa *et al.*, 2011).

Esse uso popular de plantas medicinais tem despertado o interesse de pesquisadores em várias áreas, como botânica, farmacologia e a fitoquímica, que colaboram para enriquecer o conhecimento sobre essas fontes medicinais valiosas (Maciel *et al.*, 2002).

Sendo assim, Castelluci (2002) define plantas medicinais como vegetais que produzem substâncias químicas em quantidade e qualidade suficiente para provocar modificações nas funções biológicas com fins terapêuticos. Assim, a importância dessas espécies na área farmacêutica varia conforme seu uso e o método de processamento empregado.

No contexto das ciências farmacêuticas, as plantas medicinais são altamente relevantes, especialmente quando se considera o método de processamento a que são submetidas. Quando uma planta é processada — seja seca, triturada ou moída —, ela é conhecida como droga vegetal. O termo "droga vegetal" refere-se a uma substância ou matéria-prima utilizada com fins medicinais (Borba *et al.*, 2016).

2.2 OS METABÓLITOS PRODUZIDOS PELAS PLANTAS E A FITOQUÍMICA

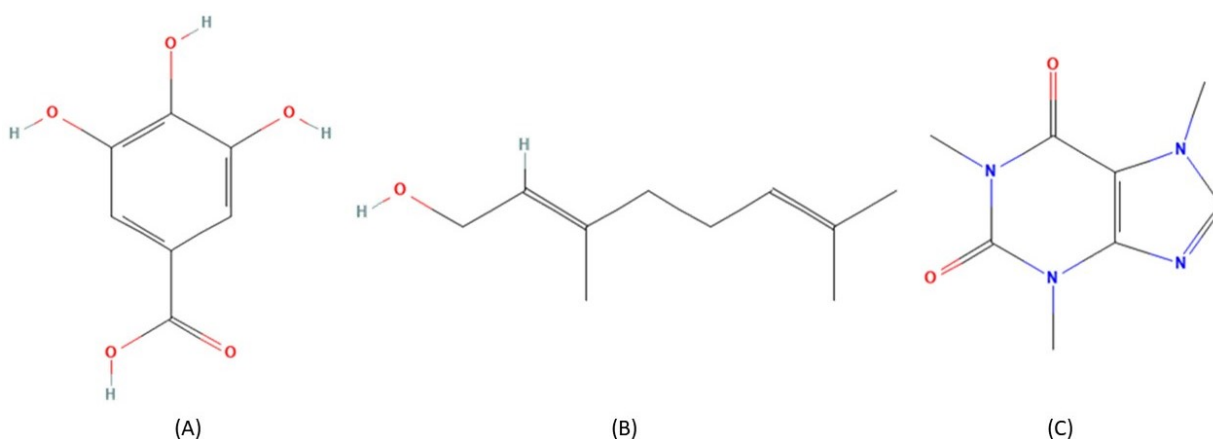
As plantas produzem uma grande diversidade de compostos químicos importantes que são classificados como metabólitos primários e secundários. Esses compostos desempenham papéis cruciais na evolução das plantas e em sua interação com outros seres vivos (Borges; Amorim, 2020).

De acordo com García e Carril (2009), os metabólitos primários são compostos produzidos pelas plantas que tem a finalidade de auxiliá-las no seu crescimento e desenvolvimento. Alguns exemplos de metabólitos primários incluem

açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos, bem como moléculas maiores derivadas desses compostos, como proteínas, polissacarídeos, membranas, DNA e RNA.

Já os metabólitos secundários possuem um papel importante na evolução dos vegetais e na interação com outros organismos. Estes compostos estão diretamente relacionados com a proteção das plantas contra estresses bióticos e abióticos e têm aplicações comerciais na indústria biofarmacêutica (Raskin *et al.*, 2002). De acordo com Raskin *et al.*, esses metabolitos são classificados em três classes principais: compostos fenólicos, terpenos e compostos nitrogenados. A Figura 1 ilustra alguns exemplos desses compostos: o ácido gálico como representante dos compostos fenólicos (A); o geraniol como exemplo de terpenos (B); e a cafeína, um alcaloide pertencente aos compostos nitrogenados (C).

Figura 1 - Ácido gálico (A), Geraniol (B) e Cafeína (C)



Fonte: Pubchem.gov.com (2024)

Os compostos fenólicos são uma classe de substâncias que possuem em sua estrutura anéis aromáticos com pelo menos um grupo hidroxila substituindo um hidrogênio. Esses compostos são sintetizados por meio das vias metabólicas do ácido chiquímico e do ácido mevalônico (Vizzotto *et al.*, 2010).

De acordo com Mota (2019), esses compostos estão diretamente relacionados ao sistema de defesa das plantas contra herbívoros e microrganismos, além de desempenharem um papel significativo no processo germinativo. Conforme Ugalde (2016), essas substâncias são bastante valorizadas na farmacologia devido as diversas atividades biológicas, incluindo o seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, antitumoral e anticancerígeno, entre outras.

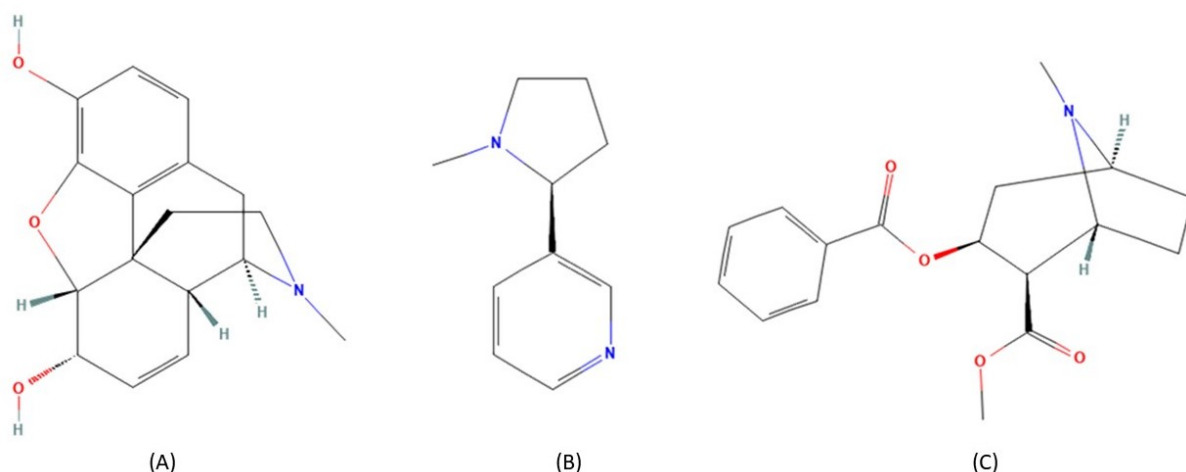
Segundo Dewick (2008), defini os terpenos como compostos formados por unidades isoprênicas no qual são de origens vegetais. Eles desempenham um papel

ecológico importante, atuando como defensores naturais das plantas. Os óleos essenciais, por exemplo, pertencem a essa classe, são caracterizados por sua alta volatilidade e frequentemente apresentam atividades antioxidantes e aromatizantes, devido à presença de anéis aromáticos. Esses compostos também ajudam a atrair polinizadores, atuando na defesa das plantas contra herbívoros e regulariza a decomposição da matéria orgânica (Castro, 2004).

Os alcaloides têm sido utilizados ao longo da história no uso de poções mágicas, medicamentos e venenos. O termo “alcaloide” foi empregado pela primeira vez em 1819, como compostos de origem vegetal que possuem propriedades alcalinas. Tais substâncias são biosintetizadas a partir de aminoácidos, e sua natureza básica é proveniente da presença de nitrogênios em sua composição (Alves, 2017).

Segundo Carlos (2007), as plantas utilizam essas substâncias para se protegerem de insetos consumidores. Embora em quantidades específicas sejam tóxicas para humanos, em doses adequadas podem ter efeitos benéficos no sistema nervoso (Taiz e Zeiger, 2013; Silval, 2013). Portanto, podemos citar alguns alcaloides produzidos por espécies vegetais, tais como morfina(A), nicotina(B) e a cocaína(C), conforme a figura 2.

Figura 2: Estruturas química da Morfina(A), nicotina(B) e cocaína(C)



Fonte: Pubchem.gov.com (2024)

Os metabólitos secundários são compostos com estruturas complexas de alto ou baixo peso molecular, podendo ser polares ou apolares em pequenas quantidades. A quantidade e qualidade desses compostos podem ser influenciadas por fatores como desenvolvimento foliar, diluição, biomassa, sazonalidade, condições climáticas e altitude (Castro, 2004; Vizzotto, 2010).

De acordo com Alves (2017), a fitoquímica é a área responsável por estudar os diversos grupos vegetais, através da análise dos metabolitos produzidos pelas plantas. Essa abordagem envolve o isolamento e elucidação das estruturas químicas desses compostos, bem como a determinação das suas atividades biológicas presente na espécie a ser estudada.

Alguns testes fitoquímicos são fundamentais na identificação da classe desses compostos, e também na descoberta de novos constituintes químicos de uma determinada espécie vegetal, que poderão ser utilizados com uma finalidade terapêutica. Esses testes podem ser realizados para identificar as mais diversas classes de compostos orgânicos, podendo ser aplicados em diferentes tipos de extratos em todas as partes da planta (Silva, *et al.*, 2018).

2.3 PREPARO DE EXTRATOS VEGETAIS

De acordo com Matos (1998), o estudo fitoquímico de uma determinada planta, através do preparo de extratos brutos tem se mostrado um ponto de partida bastante relevante no processo de isolamento e purificação dos constituintes químicos presentes em uma espécie vegetal. Durante a obtenção do extrato, é essencial avaliar algumas condições específicas relacionadas ao processo, como a eficiência, estabilidade das substâncias extraídas, disponibilidade de recursos e o custo associado. Essas considerações devem ser feitas levando em conta a finalidade desejada para o extrato a ser preparado (Simões, 2003).

O termo "extração" refere-se ao processo de retirada seletiva de substâncias ou frações ativas contidas em uma planta, utilizando líquidos apropriados ou uma mistura destes, de forma segura e eficiente (Pinto, 2005). Segundo Simões *et al.* (2003), os métodos extrativos mais utilizados são: maceração, percolação, infusão, decocção e extração com o aparelho de Soxhlet.

2.3.1 Extração por Maceração

De acordo com Simões *et al.* (2003), este método de extração consiste na imersão do material vegetal em um solvente (líquido extrator), dentro de um recipiente fechado, sobre uma determinada temperatura, por um período prolongado (horas ou dias), sobre agitação contínua ou não, onde não se há a possibilidade da

renovação do líquido extrator, após esse processo o solvente é evaporado obtendo assim o extrato bruto.

2.3.2 Extração por percolação

Nesta técnica de extração, o material vegetal é inicialmente moído e inserido em um recipiente cônico ou cilíndrico conhecido como percolador, feito de vidro ou metal, nesse percolador, o material é atravessado por um líquido extrator. A percolação difere-se da maceração por ser uma operação dinâmica, onde é indicada para a extração de pequenas quantidades substâncias que são pouco solúveis em água. Essa abordagem é relevante quando essas substâncias são de interesses significativos (Simões *et al*, 2003).

2.3.3 Infusão

Essa técnica de extração ocorre por meio da imersão do material vegetal em água fervente, por um determinado tempo, em um recipiente fechado. A infusão geralmente é empregada em determinadas partes da planta, com as folhas, no qual as mesmas devem ser cortadas e pulverizadas afim extrair de forma mais eficaz os compostos de interesses da espécie vegetal (Simões *et al*, 2003).

2.3.4 Decocção

A decocção consiste em um método que matem o material vegetal em contato com o solvente, geralmente água, por um determinado tempo. Essa técnica tem seu emprego restrito devido a muitos compostos ativos serem alterados por um aquecimento prolongado. É comumente empregada em partes mais rígidas de vegetais, como caule e raízes (Simões *et al*, 2003).

2.3.5 Extração em aparelho de soxhlet

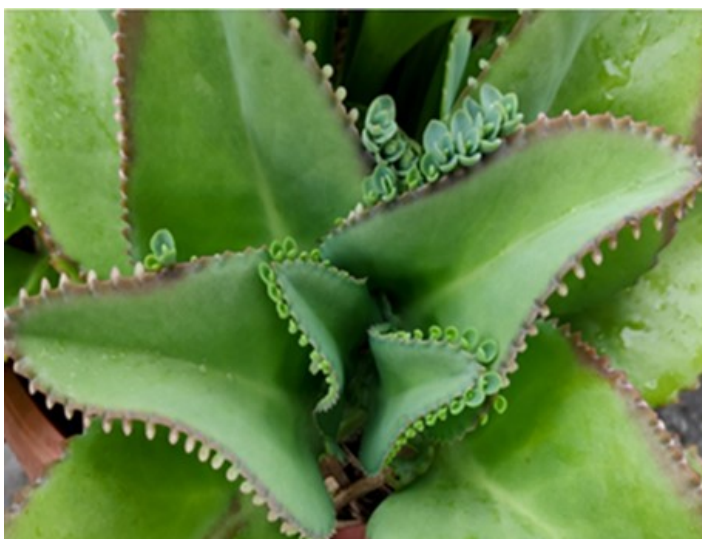
A extração utilizando o aparelho de Soxhlet é uma técnica empregada na extração de sólidos utilizando solventes voláteis. Nesse método, o material vegetal entra em contato com o solvente, possibilitando em uma extração altamente

eficiente, empregando uma quantidade reduzida de solvente, em comparação com outras técnicas extrativas, podendo reaproveitar o solvente utilizado (Simões *et al.*, 2003).

2.4 A ESPÉCIE KALANCHOE DAIGREMONTIANA (K. DAIGREMONTIANA)

O "Aranto" ou "Mãe-de-milhares" é uma espécie de suculenta bastante cultivada devido ao seu valor ornamental (Figura 3). No entanto, diversos estudos relatam o uso popular desta planta no tratamento de irritações de pele, cicatrização de feridas, inflamações, úlceras gástricas, pedra nos rins, artrite reumatoide, infecções bacterianas e virais, doenças de pele, resfriados e outras desordens (Moura *et al.*, 2021).

Figura 3 - Folhas da espécie *K. daigremontiana*



Fonte: <https://revista.abrale.org.br>

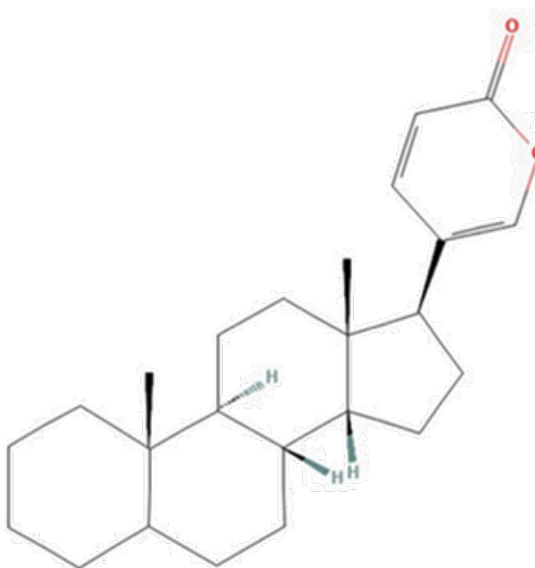
De acordo com Herman (2020), a *K. daigremontiana*, conhecida popularmente como Aranto ou Mãe-de-milhares, é uma espécie pertence ao gênero *Kalanchoe* da família Crassulaceae, no qual é distribuída ao longo dos continentes africano, asiático e americano. Essa espécie apresenta características que permitem sua adaptabilidade em ambientes secos e com luz intensa, realizando a fotossíntese através do metabolismo do ácido crassuláceo (CAM), o que é um importante aspecto bioquímico, ecofisiológico e filogenético dessa família (Borland *et al.*, 2015).

As ações farmacológicas da *K. daigremontiana* são menos conhecidas em comparação com outras plantas do mesmo gênero. Segundo estudos realizados no Hospital Comunitário Havelhoehe, na Alemanha, a espécie tem sido utilizada como

medicamento coadjuvante antroposófico, administrado para aliviar agitação psíquica, inquietação e ansiedade em pacientes (Kolodziejczyk-Czepas, 2017). Na fitoterapia chinesa, esta planta é usada para aliviar vômitos e tosse (Zhong *et al.*, 2013).

A atividade química e biológica da *K. daigremontiana* depende de sua composição fitoquímica. Uma análise realizada por Urmeny (2016) elucidou compostos como kaempferol e quercetina, derivados de flavonoides, ácidos fenólicos e bufadienolídeos (Figura 4), que são alguns dos metabólitos encontrados nos extratos aquosos e etanólicos da espécie (Urmeny, 2016).

Figura 4 - Estrutura química do bufadienolídeo



Fonte: Pubchem.gov.com (2024)

Conforme Moura (2021), os bufadienolídeos são glicosídeos cardíacos que afetam a função cardíaca. Estes compostos possuem atividade inotrópica positiva e atuam no sistema nervoso central como anestésicos locais, sedativos e com propriedades citotóxicas. Contudo, muitos estudos sobre bufadienolídeos estão associados à sua origem em animal, como rãs, enquanto os sintetizados pelas plantas são menos conhecidos (Supratman *et al.*, 2001).

Segundo Moura (2021), a *K. daigremontiana* apresenta uma ampla diversidade de compostos bioativos, conferindo-lhe atividades antimicrobianas, antiproliferativas e antioxidantes. No entanto, a presença de componentes tóxicos como os glicosídeos cardíacos reafirma a importância de estudos sobre o nível de toxicidade da espécie. Além disso, são necessários mais estudos para aprofundar o conhecimento sobre seu potencial biológico.

2.5 A TOXICIDADE DAS PLANTAS E OS ENSAIOS COM *ARTEMIA SALINA*

De acordo com Torres *et al.* (2005), inúmeras espécies vegetais são utilizadas para fins terapêuticos por populações que não têm acesso a medicamentos industrializados. Essas espécies apresentam uma gama de substâncias químicas que lhes conferem atividades biológicas, agindo diretamente no organismo do indivíduo que as utiliza.

Algumas dessas espécies vegetais produzem substâncias tóxicas que muitas vezes são desconhecidas pelos seres humanos, que as utilizam de forma empírica, causando assim alterações patológicas no organismo e, em alguns casos, levando até mesmo a óbito (Vasconcelos *et al.*, 2009). O fácil acesso, a falta de informação e o risco de contaminação e/ou adulteração do material são fatores que aumentam as chances de reações adversas e outros problemas relacionados ao seu uso (Vasconcelos *et al.*, 2009; Jesus & Suchara., 2013).

O princípio tóxico de uma planta refere-se a um grupo de substâncias capazes de causar intoxicação em um organismo, dependendo da quantidade de substância tóxica absorvida, da natureza da substância e da via pela qual foi absorvida (Moreira., 2013).

Dessa forma, testes de toxicidade tornam-se necessários para avaliar os efeitos tóxicos de uma espécie em estudo, permitindo determinar a toxicidade relativa das substâncias de interesse (Forbes & Forbes, 1994). Diversos ensaios podem ser utilizados, como os ensaios de toxicidade aguda usando a *Artemia salina*, que também possui a capacidade de detectar a presença de compostos bioativos em extratos vegetais (Meyer *et al.*, 1982).

A *Artemia salina*, representada na Figura 5, é um artrópode aquático da família Artemiidae, pertencente à ordem Anostraca. Esses microcrustáceos são fontes de alimento para peixes por serem ricos em proteínas, vitaminas e minerais. Essa espécie é encontrada em ambientes de água salgadas e com temperaturas elevadas, e sua reprodução está diretamente relacionada ao nível de salinidade do habitat. Podem se reproduzir de forma sexual ou partenogenética, liberando cistos ou náuplios. Os cistos possuem, em média, 250 µm de diâmetro e são geralmente armazenados a seco, suportando o vácuo. Os náuplios recém-eclodidos têm aproximadamente 450 µm de comprimento, enquanto em sua fase adulta podem

atingir até cerca de 10 mm de comprimento (Câmara, 2004; Dumitrascu, 2011; Moreira, 2013).

Figura 5 - Microcrustáceo de água salgada *Artemia salina*



Fonte: Moreira (2013)

Nos últimos anos, o ensaio de toxicidade utilizando a *Artemia salina* tem se destacado como um método eficiente de avaliação de toxicidade de produtos naturais. Isso se deve ao seu baixo custo, rapidez na execução do bioensaio, eficiência e à exigência de uma pequena quantidade de amostra. A simplicidade desse teste viabiliza sua utilização de forma rotineira nos laboratórios (Siqueira *et al.*, 1998).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Analisar o perfil fitoquímico, o teor de compostos fenólicos totais e a toxicidade aguda do extrato etanólico das folhas da espécie *Kalanchoe daigremontiana* coletada em Picos-PI.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Preparar o extrato etanólico das folhas de *Kalanchoe daigremontiana*;
- Investigar o perfil fitoquímico do extrato obtido;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais do extrato por meio da espectroscopia UV-Vis;
- Avaliar a toxicidade aguda do extrato frente ao microcrustáceo *Artemia salina*.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 MODALIDADE DA PESQUISA

O tipo de pesquisa realizada no presente trabalho é classificado como explicativa. Segundo Gil (2017), esse tipo de pesquisa tem como principal objetivo identificar os fatores que influenciam a ocorrência de fenômenos específicos.

4.2 COLETA E PREPARO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas de *Kalanchoe daigremontiana* foram coletadas no período chuvoso, no dia 18 de março de 2024, na zona urbana do município de Picos, Piauí. O material vegetal foi levado ao laboratório de pesquisa do IFPI - Campus Picos, onde foi lavado em água corrente, seco à temperatura ambiente e pesado, e posteriormente levado à estufa a 45°C por 7 dias. Após o processo de secagem, o material vegetal foi triturado com o auxílio de um liquidificador e armazenado em um béquer, sendo deixado em um dessecador para ser submetido ao processo de extração.

4.3 PREPARO DO EXTRATO ETANÓLICO

O material vegetal seco foi submetido à extração em solução de etanol P.A. (95%), protegido da luz e mantido em temperatura ambiente por um período de sete dias. Em seguida, a solução resultante passou por um processo de filtração e evaporação do solvente com o auxílio de um banho ultratermostatizado da marca Lucadema, a uma temperatura de 45°C, e foi filtrada em papel filtro para a obtenção do extrato etanólico.

4.4 RENDIMENTO TOTAL DO EXTRATO

O rendimento total do extrato etanólico das folhas de *Kalanchoe daigremontiana* foi calculado de acordo com a fórmula: $Re = (P_{ext} / P_{folhas}) \times 100$. Onde: Re = Rendimento total do extrato (%); P_{ext} = Peso do extrato seco (g); P_{folhas} = Peso das folhas frescas ou secas (g) (Rodrigues *et al.*, 2011).

4.5 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

O extrato etanólico das folhas de *Kalanchoe daigremontiana* foi submetido a testes fitoquímicos utilizando métodos qualitativos, conforme a metodologia adaptada descrita por Matos (2009). Os testes foram realizados para caracterizar as principais classes de metabólitos secundários presentes no extrato. A identificação dos metabólitos foi feita por meio de reações químicas que resultaram em mudanças de cor e formação de precipitados, após a adição de reagentes específicos, os quais são característicos para cada tipo de metabolito.

Para os testes, foram preparadas soluções dos extratos dissolvendo 0,5 g do extrato em 50 mL de uma solução hidroalcóolica (etanol/água) na proporção de 8:2. Em seguida, alíquotas de 1 mL dessas soluções foram adicionadas a tubos de ensaio para a realização dos testes. Os experimentos foram realizados em triplicata, e a presença ou ausência dos constituintes no extrato foi registrada como presente (+) ou ausente (-).

4.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada no laboratório de pesquisa III da UFPI – Campus Senador Helvidio Nunes de Barros, utilizando o método de Folin-Ciocalteu (Sousa *et al.*, 2007). Primeiramente, foi preparada uma curva de calibração, empregando soluções diluídas de ácido gálico (10-500 µg/mL). As medições das absorvâncias em função da concentração foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis a 750 nm. A equação da curva de calibração foi obtida por meio de regressão linear.

Em seguida, procedeu-se à detecção nas amostras. Em tubos de ensaio, foram misturados 100 µL dos extratos etanólicos (150 µg/mL) com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 6 mL de água destilada. Os tubos foram agitados por 30 segundos em vortex. Depois, adicionou-se à solução 2 mL de Na₂CO₃ (15%) e o volume foi completado para 10 mL com água destilada. Os tubos foram novamente agitados em vortex por 30 segundos e deixados em repouso à temperatura ambiente, na ausência de luz.

Após 2 horas, as leituras das amostras foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis a 750 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata. O

teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras em relação à curva de calibração construída através do software Excel, como padrões de ácido gálico, sendo expresso como mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de extrato. Os resultados foram apresentados como média (LEMOS *et al.*, 2011, p. 64).

4.7 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA FRENTE *ARTEMIA SALINA* (A. SALINA)

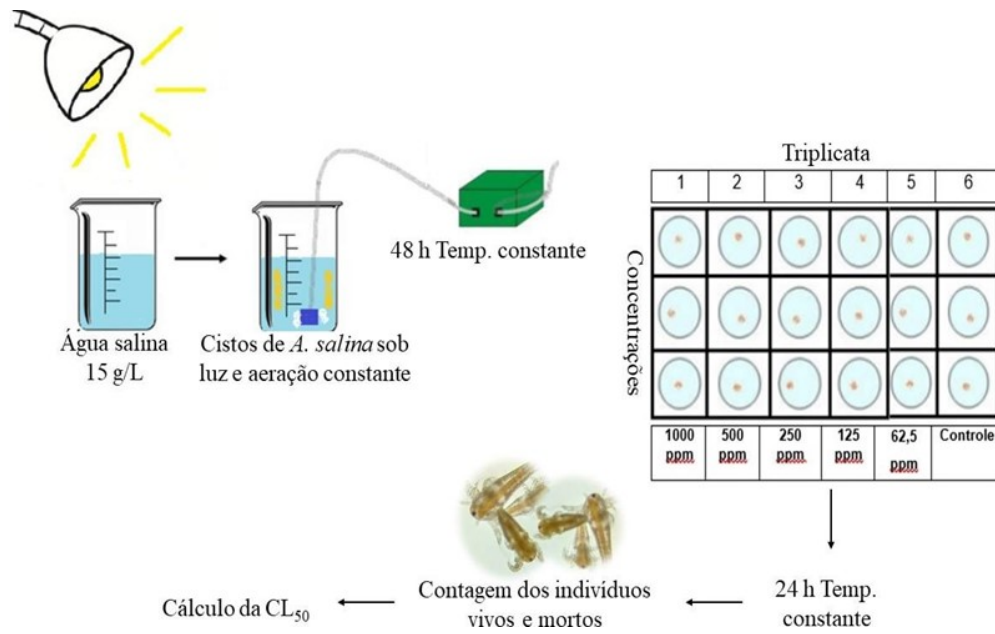
O ensaio de toxicidade foi realizado por meio de bioensaio com *Artemia salina* no laboratório de pesquisa do IFPI – Campus Picos. A preparação da A. salina seguiu a metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982), com adaptações. Inicialmente, 300 mg de cistos do microcrustáceo foram incubados em um aquário contendo uma solução salina previamente preparada, onde foram diluídos 15 g de sal marinho sintético em 1 L de água de poço artesiano, com o pH ajustado para 8,4 utilizando NaOH (hidróxido de sódio) a 0,1 mol/L, sob aeração constante durante 48 horas a 25 °C.

Para o ensaio de toxicidade, foram utilizados 50 mg do extrato, que foram transferidos para um béquer de 100 mL, e em seguida, foram adicionados 500 µL de dimetilsulfóxido (DMSO a 5%). Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas em copos de acrílico (25 mL) para a obtenção das seguintes concentrações: 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL (ppm). A solução controle foi preparada utilizando 50 mL de água salina e 500 µL de DMSO a 5%.

Após a incubação, os náuplios ativos foram recolhidos da porção mais iluminada da câmara de incubação para uso no ensaio. Dez náuplios foram transferidos por meio de uma pipeta Pasteur para copos de acrílico (25 mL) contendo 3 mL de solução salina com DMSO preparadas. As amostras foram preparadas em triplicata e mantidas nas mesmas condições de temperatura e luz da eclosão.

Os náuplios vivos e mortos foram contados após 24 horas de exposição à solução do extrato testado. O número de náuplios mortos em relação às concentrações da solução do extrato foi utilizado para calcular os valores de CL₅₀ e determinar a toxicidade aguda do extrato.

Figura 6: Esquema de preparação e execução do teste de toxicidade em *Artemia salina*.



Fonte: adaptado de Moreira (2013)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO

Por meio da preparação do extrato etanólico das folhas secas de *Kalanchoe daigremontiana* (59,72 g), obteve-se um extrato final com massa de 6,20 g. Utilizando a Equação 1 (p. 27), apresentada no item 4.4, foi possível calcular o rendimento do extrato etanólico, que resultou em 10,38% de rendimento total.

De acordo com Ribeiro (2010, p. 75), o rendimento dos extratos vegetais está diretamente relacionado ao método e às condições do processo de extração, às características biológicas das plantas, às condições ambientais em que são cultivadas e à variação genética intraespecífica. Dessa forma, o rendimento dos extratos vegetais pode variar conforme os fatores mencionados, dificultando a comparação entre estudos relatados na literatura.

Entre a ampla variedade de solventes conhecidos, apenas alguns são utilizados na extração dos metabólitos secundários das plantas. Essa limitação se dá devido a três aspectos principais: propriedades extrativas, adequação da técnica ou tipo de metabólito que será extraído, além de fatores econômicos e de segurança que viabilizam o processo (Pinto, 2005). Diante desta abordagem, justifica-se o uso do solvente etanólico devido à sua polaridade, que confere uma melhor propriedade extrativa, além de ter uma baixa toxicidade.

5.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A análise fitoquímica preliminar permite a identificação de grupos de metabólitos secundários presentes em uma espécie vegetal, facilitando a determinação dos constituintes mais abundantes e suscetíveis à caracterização em extratos vegetais (Queiroz, 2009). Para a realização dos testes, foi utilizada a metodologia descrita por Matos (2009), que possibilitou a análise qualitativa dos metabólitos secundários no extrato etanólico das folhas de *Kalanchoe daigremontiana*. Os testes foram baseados em métodos de colorimetria, precipitação e formação de espuma.

No preparo do extrato, observou-se que a presença de clorofila pode interferir nos resultados, devido à coloração intensa do extrato das folhas, causada pela alta

concentração de clorofila. Apesar dessa interferência, os testes permitiram identificar a presença de compostos fenólicos e esteroides livres, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Perfil fitoquímico qualitativo do extrato etanólico das folhas da espécie *K. daigremontiana*

Compostos Químicos	Presença/ausência
Fenóis	+
Taninos hidrolisáveis (pirogálico)	-
Taninos condensados (Flobabenicos)	-
Antocianinas e antocianidinas	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	-
Chalconas e auronas	-
Flavanonois	-
Leucoantocianidinas	-
Catequinas	-
Flavanonas	-
Esteroides livres	+
Triterpenoides pentacíclicos livres	-
Saponinas	-

Fonte: Autoria própria, (2024)

(+) Presença de metabolitos

(-) ausencia de metabolitos

Os metabólitos secundários são compostos encontrados em produtos naturais de grande relevância clínica para a farmacologia, devido às suas propriedades biológicas. Diversos produtos naturais têm sido utilizados como matéria-prima para a formulação de novos compostos bioativos, especialmente no tratamento de doenças (Butler *et al.*, 2006).

A presença de compostos fenólicos e esteroides era esperada na triagem fitoquímica, devido à sua ocorrência em algumas espécies do gênero *Kalanchoe*. Estudos de Urmeny (2016) identificam a presença de bufadienolídeos, que pertencem à classe dos terpenos e possuem atividades anticancerígena e cardiotônica, entre outras. Os Compostos fenólicos, por sua vez, conferem atividade antioxidante.

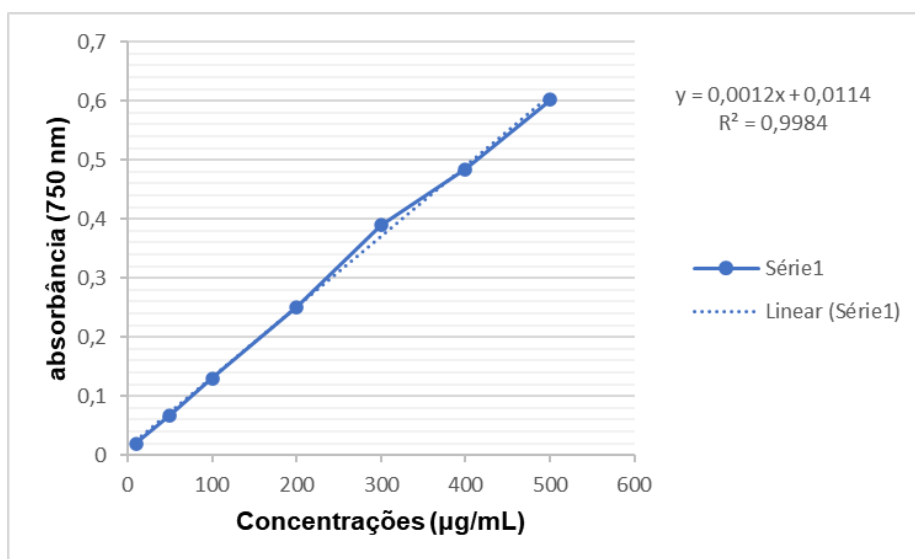
A detecção dos metabólitos encontrados no extrato etanólico de *Kalanchoe daigremontiana* corrobora com os dados da literatura. A ausência de outros metabólitos pode ser influenciada por fatores como a técnica utilizada, sendo que

técnicas mais modernas podem extrair uma maior gama de compostos bioativos. Outros fatores incluem a parte do material vegetal utilizada, o solvente empregado na extração e sua polaridade, bem como características específicas da planta e o meio no qual a mesma é cultivada (Tiwari *et al*, 2011).

5.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A quantificação de compostos fenólicos no extrato etanólico das folhas de *Kalanchoe daigremontiana* seguiu a metodologia de Folin-Ciocalteu. Os resultados das amostras foram comparados com uma curva padrão, utilizando o ácido gálico como referência. O Gráfico 1 apresenta os valores de absorbância em função da concentração obtidos para o ácido gálico, bem como a curva padrão. Por meio da regressão linear da curva, foi obtido a equação da reta utilizada para determinar a concentração de compostos fenólicos presentes no extrato.

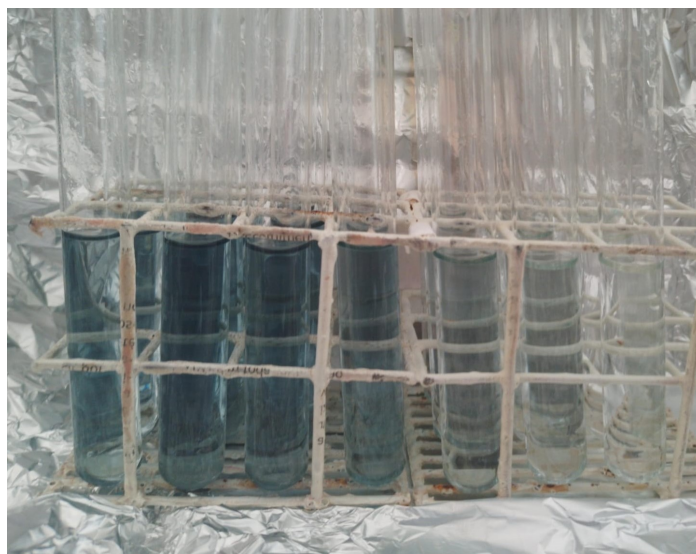
Gráfico 1 – Curva padrão de ácido gálico



Fonte: Autoria própria (2024)

De acordo com Bora *et al.* (2005), o reagente de Folin-Ciocalteu, na presença de compostos fenólicos, altera sua coloração de amarela para azul. Quanto maior a concentração desses compostos na solução, mais intensa será a coloração. Como demonstra a figura 7 abaixo.

Figura 7 - Mudança de coloração do reativo de Folin-Ciocalteu na presença de compostos fenólicos



Fonte: autoria própria (2024)

Conforme Oliveira *et al* (2009), o reagente de Folin-Ciocalteu é uma mistura de ácido fosfomolibdídico e fosfotungstico, na qual o molibdênio encontra-se em um estágio oxidativo (VI), apresentando cor amarela ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Na presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja coloração permite a determinar a concentração das substâncias redutoras que, não necessariamente, precisam ter natureza fenólica.

Após a obtenção da curva padrão, foi possível determinar a concentração de concentração de compostos fenólicos, presentes no extrato etanólico das folhas da espécie *Kalanchoe daigremontiana* coletada no município de Picos-PI.

A concentração do teor de compostos fenólicos totais presentes no extrato etanólico das folhas da espécie *K. daigremontiana* foi de 575,5 mg. Segundo Oliveira *et al.* (2011, p. 364), extratos vegetais que apresentam concentrações acima de 100 mg de equivalente de ácido gálico por grama de extrato são considerados ricos em compostos fenólicos.

5.4 TOXICIDADE DO EXTRATO FRENTE À ARTEMIA SALINA

O ensaio de toxicidade aguda realizado com o microcrustáceo *Artemia salina* permitiu avaliar a toxicidade do extrato. Os resultados do ensaio mostraram uma

mortalidade de 3,33 % na concentração de 1000 ppm, enquanto nas demais concentrações testadas não houve mortalidade (Tabela 2), apresentando um baixo percentual de letalidade dose-dependente. A solução controle feito com DMSO a 5% não apresentou mortalidade, na Tabela 2 demonstra o percentual de mortalidade dos náuplios de *A. salina* versus a concentração dos extratos.

Tabela 2 - Percentual de náuplios mortos de *A. salina* frente à diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas da *k. daigremontiana*

Concentrações	1000 ppm	500 ppm	250 ppm	125 ppm	62,5 ppm	Controle
Mortalidade %	3,33	0	0	0	0	0

Fonte: Autoria própria (2024)

No estudo, o extrato etanólico das folhas da espécie *k. daigramontiana* obteve um valor de $CL_{50} > 1000$ ppm sendo considerado atóxico para *A. salina*. De acordo com Amarante et al. (2011), um composto é classificado como de baixa toxicidade quando a CL_{50} for superior a 500 ppm; moderada quando CL_{50} está entre 100 a 500; ppm e muito tóxico quando for inferior 100 ppm.

Além disso, um estudo realizado por Silva (2007), usando o extrato etanólico de *Kalanchoe brasiliensis*, uma espécie do mesmo gênero que *K. daigremontiana*, mostrou que o extrato tem atividade bioativa no teste com *Artemia salina*. O extrato, testado em concentrações de 40 ppm a 800 ppm, apresentou um efeito dependente da dose, indicando que, quanto maior a concentração, maior a probabilidade de haver morte nos náuplios de *Artemia salina*. Estudos como esse aprimoram o conhecimento sobre a toxicidade de plantas desse gênero.

6 CONCLUSÃO

O estudo realizado com o extrato etanólico das folhas da *Kalanchoe daigremontiana* forneceu informações importantes sobre seu perfil fitoquímico e toxicidade. Com um rendimento de 10,38%, o extrato foi submetido a análise fitoquímica verificando a presença de compostos fenólicos e esteroides livre que condizem com os já existentes na literatura. É importante ressaltar que a presença de clorofila nas folhas, dificulta na determinação qualitativa dos metabolitos, principalmente se estes estiverem presentes em baixas concentrações.

Por meio de espectroscopia de UV-Vis foi determinado um teor de 575,5 mg compostos fenólicos, corroborando com os testes qualitativos. Os testes de toxicidade com *Artemia salina* revelaram uma baixa taxa de mortalidade (3,33%) na concentração mais alta testada (1000 ppm), indicando uma baixa toxicidade e confirmando uma CL₅₀ superior a 1000 ppm, o que classifica o extrato como atóxico para *Artemia Salina*.

Estudos como este são fundamentais para compreender o perfil fitoquímico e a toxicidade de plantas medicinais e em outras espécies vegetais. A informação obtida contribui para a avaliação segura e eficaz do uso dessas plantas, além de oferecer bases para pesquisas futuras sobre seus potenciais benefícios e riscos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. S., YAMAGUCHI, K. K. L., & SOUZA, A. O. **O uso de indicadores ácido-base naturais no ensino de Química: uma revisão.** Research, Society and Development., 9(9), 1-20, (2020).
- ALVES, F. S. **Estudo fitoquímico e avaliação de toxicidade dos extratos de Furcraea cubensis frente a Artemia salina Leach. Trabalho de Conclusão de Curso.** Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 2017.
- AMARANTE, C. B. Muller, A. H. POVOA, M.M. DOLABELA, M. F. **Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à Artemia salina e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (Montrichardia linifera).** Acta Amazonica, v. 41, n. 3, p. 431-434, 2011.
- BORBA, E. S. et al. **Extração e determinação da composição química dos óleos essenciais de espécies de plantas medicinais.** Projeto de Iniciação Científica Integrada (PIC – QUIMI), Instituto Federal Catarinense – Campus Araquari, Araquari – SC, 2016.
- BORGES, L. P; AMORIM, V. A. **Metabólitos secundários de plantas.** Revista Agrotecnologia, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 2020.
- Borland, A. M. WULLSCHLEGER, S. D. WESTON, D. J. HARTWELL, J. TUSKAN, G. A. YANG, X. CUSHMAN, J. C. **Climate resilient agroforestry: physiological responses to climate change and engineering of crassulacean acid metabolism (CAM) as a mitigation strategy.** Plant, Cell & Environment, v.38, n.9, p. 1833-1849, 2015.
- BUTLER, M.S.; BUSS, A.D.; **Natural products—the future scaffolds for novel antibiotics?** Biochemical Pharmacolgy. v. 71, n. 7, p. 919-929, 2006.

CÂMARA, M. R. **Biomassa de Artêmia na carcinicultura: repercussões ambientais, econômicas e sociais.** Panorama da Aquicultura, v. 14, n. 82, p. 40-45, 2004.

CARLOS, L. A. **Alcaloides de Rauvolfia grandiflora e de Rauvolfia matffeldiana (Apocynaceae).** Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense – Rio de Janeiro. p. 173, 2007.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais Metabolitos secundários.** 2ª ed. Viçosa: Gráfica Suprema e Editora; 2004.

CASTELLUCI, S. LIMA, M. I. S. NORDI, N. MARQUES, J. G. W. **Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na Estação Ecológica de Jataí, município de Luiz Antonio – SP; uma abordagem etnobotânica.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 3, n. 1, p. 51-60, 2002.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach.** Wiley. 3ª ed. 2008.

DUMITRASCU, M. **Artemia salina.** Balneo-Research Journal, v. 2, n. 4, p. 119-120, 2011.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice.** Londres: Chapman and Hall, 1994. 247 p.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P-U. **Metabolismo secundário de plantas.** Reduca (biología), v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GIL, Antonio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa.** 6. ed. São Paulo: Atlas, 2017.

HERBARIUM saúde. Ano VI, n. 29, 2004.

Herman, M. et al. **Global distribution patterns and niche modelling of the invasive *Kalanchoe* × *houghtonii* (Crassulaceae)**. Scientific reports, v.10, n.1, p.1-18. 2020.

IZQUIERDO, M.; SANMARTÍ, N. e ESPINET, M. **Fundamentación y diseño de las prácticas escolares de ciencias experimentales**. Enseñanza de las Ciencias, v. 17, n. 1, p. 45-60, 1999.

Kolodziejczyk-Czepas, J.; Stochmal, A. **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, 2017.

LIMA, L. P. PINHEIRO, E. B. F. GOIS, K. M. S. SILVA, N. C. O. SILVA, C. Y. **A utilização de produtos naturais como alternativa para o ensino de química: Uma revisão**. Research, Society and Development, v. 11, n. 7, e2111729588, 2022.

MACIEL, M. A. M. PINTO, A. C. JUNIOR, V. F. V. **Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares**. Quim. Nova, Vol. 25, No. 3, 429-438, 2002.

Matos, F., J., A., **Introdução a Fitoquímica Experimental**, Fortaleza Edições UFC 1998.

MOURA, F. H. C. CORREA, R. C. G. LIMA, B. V. QUEIROZ, W. F. S. MANNAIGEL, A. R. BIDO, G. S. **Análise da atividade biológica de *Kalanchoe daigremontiana***. International Journal of Development Research, Vol. 11, Issue, 05, pp. 46932-46935, May, 2021.

MOREIRA, Layssa Aparecida de Oliveira. **Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* Leah. de extrato de duas espécies da família Melastomataceae**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química) – Instituto Federal de Goiás, Campus Anápolis, Anápolis, GO, 2013.

MOTA, M. M. **Caracterização genética, fitoquímica e das atividades biológicas de diferentes populações naturais de Varronia curassavica Jacq. e Momordica charantia L. no Espírito Santo.** Tese (Doutorado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo – Vitória. p. 175, 2019.

NAVARRO, D. **Estudo químico, biológico e farmacológico das espécies Allamanda blanchetti e Allamanda schottii na obtenção de moléculas bioativas de potencial terapêutico.** Florianópolis, 2005 pg 37.

OLIVEIRA, Marcele dos Santos. **Chás e Plantas Medicinais: uma proposta experimental no ensino de química.** 2016. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Pampa, Bagé, 2016.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. **Fontes vegetais naturais de antioxidantes.** Revista Química nova, v. 32, n. 3, 2009.

OLIVEIRA, R. L.; MARQUES, M. M. M.; SILVA, A. R. A; SANTOS, S. C. C.; JUNIOR, S. C.; GUEDES, M. I. F. **Bioprospecção da atividade antimicrobiana e antioxidante, invitro, do extrato hidroalcoólico de Piptadenia pterosperma Benth.** Revista Brasileira de Farmacologia, v. 92, n. 4, p.362-366, 2011.

PINTO, M. A. S. **Técnicas de separação e identificação aplicada a produtos naturais.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC, 2005.

QUEIROZ, G. S. **Análise de esteroides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de Brunfelsia uniflora.** Relatório (Estágio Supervisionado II). Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis. p. 45, 2009.

RASKIN, I. RIBNICHY D. M. KOMARNYTSKY, S. ILIC, N. POULEV, A. BORISJUK, N. MORENO, D. A. RIPOLL, C. YAKOBY, N. **Plants and Human Health in the Twenty-First Century.** Trends Biotechnology, v. 20, n. 12, p. 522-531, 2002.

RODRIGUES, T. S; GUIMARÃES, S.F.; RODRIGUES-DAS-DÔRES, R. G; GABRIEL, J. V. **Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus*(boldo-da-terra) e *P. ornatus*(boldomiúdo).** Revista brasileira de plantas medicinais, v. 13, p. 587-590, 2011.

RODRIGUES, F. A; PIMENTA, V. S. C; BRAGAL, K. M. S; ARAÚJO, E. G. **Obtenção de extratos de plantas do cerrado.** Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p. 2016

SILVA, F. A; BIZERRA, A. M. C; FERNANDES, P. R. D. Testes **fitoquímicos em extratos orgânicos de *Bixa orellana* (urucum).** HOLOS, Ano 34, Vol. 02. 2018.

SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. et al. **Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to sucessional groups in Southeastern Brazil.** For. Ecol. Manag., 107:241-252, 1998

SILVA, J. G. **Avaliação do Potencial Farmacológico de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess.** Dissertação de mestrado, Recife-PE, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCBENKEL, E. P.; GOSMAM, G; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (2001). **Farmacognosia: da planta ao medicamento. (3a ed.)** Porto Alegre: UFSC

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTEZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento, 5ª ed.,** Porto Alegre – Florianópolis. Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003.

SOARES, B.V. (2008). **Estudo fitoquímico e antifúngico de extratos de plantas contra *Microsporum canis* e *Cândida* spp. Isolado de cães.** Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

SOUSA, L.C.F.S; SOUSA, J, E. S; SOUSA, J. S; WANDERLAY, J. A. C; BORGES, M. G, B; **Ethnobotany knowledge of public school students in the city of PombalPB**. Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.3, p.139 – 145 2011.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H. R.; VIEIRA, G. M. J.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO,D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. **Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais**. Química Nova, v. 30, p. 351-355, 2007.

Supratman, U; FUJITA, T; AKIYAMA, K; HAYASHI, H; MURAKAMI, A; SAKAI, H; KOSHIMIZU, K; OHIGASHI, H. **Anti-tumor Promoting Activity of Bufadienolides from Kalanchoe pinnata and K. daigremontiana× butiflora**. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, v. 65, n. 4, p. 947-949, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TIWARI, P; KUMAR, B; KAUR, M. KAUR, G; KAUR, H. **Phytochemical screening and Extraction: A Review**. Internationale Pharmaceutica Sciencia, v.1, n.1, p.98-106, 2011.

TÔRRES, A. R; OLIVEIRAL, R. A. G; DINIZ, M. F. F. M; ARAÚJO, E. C. et al. **Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.15, n.4, p.373-380, 2005.

UGALDE, G. A. **Gleschon spathulata Benth. (Lamiaceae) compostos fenólicos e atividade biológica**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria. p. 64, 2016.

Ürményi, F. G.; Saraiva, G. D.; Casanova, L. M.; Matos, A. D.; De Magalhães Camargo, L. M.; Romanos, M. T.; Costa, S. S. **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.

VASCONCELOS, J.; VIEIRA, J. G. P.; VIEIRA, E. P. P. **Plantas tóxicas: conhecer para prevenir.** Revista Científica da UFPA, v. 7, n. 1, p, 1-10, 2009.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância.** 2010.

Zhong, T.; Zhu, C.; Zeng, H.; Han, L. **Analysis of gene expression in Kalanchoe daigremontiana leaves during plantlet formation under drought stress.** Electronic Journal of Biotechnology, v.16, n.6, p.4-4, 2013