

Avaliação de flavonoides totais e da atividade antioxidante em extratos de aranto (*Kalanchoe daigremontiana*)

*Evaluation of total flavonoids and antioxidant activity in aranto
(Kalanchoe daigremontiana) extracts*

GUSTAVO GONÇALVES SILVA

Discente do curso de Engenharia Química (UNIPAM)

E-mail: gustavo.gs.98@hotmail.com

RENATA NEPOMUCENO DA CUNHA

Professora orientadora (UNIPAM)

E-mail: renatanepc@unipam.edu.br

Resumo: Desde o princípio da humanidade, o homem recorre à natureza em busca de plantas para tratar e minimizar doenças. Para a obtenção dos benefícios provenientes dos fitoquímicos vegetais, é necessário executar métodos extrativos. Os extratos são soluções concentradas, obtidas a partir de matérias-primas vegetais. O presente trabalho consiste em realizar o estudo fitoquímico da planta aranto, a partir de sua extração etanólica por soxhlet. Faz ainda parte do escopo deste estudo avaliar os efeitos do volume de solvente e avaliar os teores de flavonoides totais. O material vegetal foi coletado na cidade de Patos de Minas (MG). O processo de extração foi feito sendo avaliados os efeitos das variáveis tempo e volume de solvente conforme o planejamento experimental. Foram encontrados teores de flavonoides de 68,436 µg/mL até 139,700 µg/mL, sendo que o maior valor foi com o menor tempo (4 h) e menor volume (180 mL). Devido ao longo tempo de extração, os experimentos de 8 e 12 h foram em sua maioria degradados.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Extração. Flavonoides.

Abstract: Since the beginning of humanity, man has turned to nature in search of plants to treat and minimize diseases. In order to obtain the benefits from plant phytochemicals, it is necessary to carry out extractive methods. Extracts are concentrated solutions obtained from vegetable raw materials. The present work consists in carrying out the phytochemical study of the aranto plant, from its ethanolic extraction by Soxhlet. It is also part of the scope of this study to evaluate the effects of solvent volume and to evaluate the total flavonoid levels. Plant material was collected in the city of Patos de Minas (MG). The extraction process was carried out by evaluating the effects of the variables time and solvent volume according to the experimental design. Flavonoid contents from 68.436 µg/mL to 139.700 µg/mL were found, with the highest value having the shortest time (4 h) and the smallest volume (180 mL). Due to the long extraction time, the experiments of 8 and 12 h were mostly degraded.

Keywords: Medicinal plants. Extraction. Flavonoids.

1 INTRODUÇÃO

Desde o princípio da humanidade, o homem recorre à natureza em busca de plantas para tratar e minimizar doenças. Nas primeiras civilizações, as plantas como medicamentos sempre foram empregadas para tratar os males que acometiam as pessoas. No curso da história, as civilizações chinesa e egípcia deixaram registradas centenas de receitas associando às plantas (CASTRO, 2005). Na China, há registros de cultivo de plantas medicinais que datam de 3000 a.C.; os egípcios, assírios e hebreus também as cultivavam em 2300 a.C. Da cultura grega surgiram várias plantas medicinais que foram precursoras farmacopeias atuais (NEWMAN *et al.*, 2001).

No Brasil, antes mesmo de seu descobrimento, os índios utilizavam plantas para a cura de doenças, para o preparo de corantes e para o auxílio da pesca. No Brasil, existe uma expressiva diversidade de plantas, vindo a ser um local de muitos estudos relacionados à fitoterapia e farmacologia (REX *et al.*, 2000). Dentro desse contexto, a partir das plantas medicinais, muitas substâncias vêm sendo isoladas e exploradas cientificamente como princípio ativo de medicamentos (FÓGLIO *et al.*, 2006).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que cerca de 80% da população mundial faz uso de algum tipo de erva na busca de alívio e tratamento para dores. Estima-se que aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis no mercado foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de plantas (CALIXTO, 2001). Tal conhecimento foi por muito tempo considerado apenas como sabedoria popular sem preocupação de estudos mais aprofundados sobre as propriedades das plantas, entretanto os estudos teóricos e científicos vêm aumentando nos últimos anos (DUTRA, 2009).

Dentro desse contexto, a *Kalanchoe daigremontiana* é uma planta da família *Crassulaceae* e é comumente conhecida como a mãe de milhares ou aranto. O gênero *Kalanchoe* é encontrado em toda Madagascar, na África Oriental e na África do Sul, estendendo-se para a África, Arábia e Sudeste Asiático. Foi trazida para o Brasil pelos escravos na época da colonização. *Kalanchoe* é um gênero relativamente grande, e têm sido amplamente utilizados para fins de pesquisa. O aranto reproduz-se assexuadamente formando espontaneamente plântulas inteiras nas folhas (DESCOINGS, 2003).

É uma planta suculenta (Figura 1) e xerofítica que contém glicosídeos, flavonoides e lipídios; estes últimos incluem triterpenoides e bufadienolidos que possuem atividade citotóxica contra várias linhagens celulares cancerígenas (*Nanocap aran*). Extratos vegetais do aranto mostraram ter propriedades antitumorais, anti-inflamatórias e inseticidas (SUPRATMAN *et al.* 2001).

Figura 1: *Kalanchoe daigremontiana*



Fonte: arquivo pessoal, 2020.

Existem vários métodos extrativos para obtenção de extratos vegetais que incluem maceração, infusão, percolação, decocção, extração em contracorrente, extração assistida por micro-ondas, ultrassom, fluido supercrítico, turbólise e extração contínua quente ou soxhlet (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

O presente trabalho consiste em realizar o estudo fitoquímico da planta aranto, a partir de sua extração etanólica por soxhlet. Faz ainda parte do escopo deste estudo avaliar os efeitos do volume de solvente e avaliar os teores de flavonoides totais presentes no referido extrato.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

A OMS define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos”. A diferença entre planta medicinal e fitoterápico reside na elaboração da planta para uma formulação específica, o que caracteriza um fitoterápico. Segundo a Secretaria de Vigilância Sanitária, em sua Portaria n. 6, de 31 de janeiro de 1995, fitoterápico é “todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário”. Por fim encontra-se o fitofármaco, que, por definição, “é a substância ativa, isolada de matérias-primas vegetais ou mesmo, mistura de substâncias ativas de origem vegetal” (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

2.2 EXTRAÇÃO

Para a obtenção dos benefícios provenientes dos fitoquímicos vegetais, é necessário executar métodos extrativos. Os extratos são soluções concentradas, obtidas a partir de matérias-primas vegetais (raiz, caule, folhas, frutos e sementes) secas e

trituradas (ANVISA, 2010). O processo de extração pode ser dividido em duas etapas: a primeira consiste na separação dos metabólitos secundários da planta por um solvente, enquanto a segunda é a concentração por meio da eliminação do solvente, geralmente por evaporação.

O soxhlet é um aparelho utilizado para extrair compostos que requer um esgotamento total, devido à limitação da solubilidade e utilização de pequena quantidade do solvente. O soluto é colocado em um cartucho ou sobre algodão e o solvente em um balão aquecido. Este sofre ebulição, evapora e passa pelo soluto, retirando-se os metabólitos secundários. O composto entra em um condensador, sendo resfriado e retorna ao balão repetitivamente (MACIEL *et al.*, 2002).

2.3 FLAVONOIDES

Os flavonoides representam uma classe de substâncias relevantes para o gênero de *Kalanchoe*. Os flavonoides possuem estrutura básica de 15 carbonos, responsáveis pela coloração das flores, com efeitos de aromatizantes, bactericidas, fungicidas, adstringentes e anti-inflamatórios.

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de metabólitos secundários é amplamente distribuída no reino vegetal. São encontrados em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos, flores e em seus produtos de preparação, tais como os chás e vinhos. Apresenta um núcleo característico C6-C3-C6, sendo biossintetizados a partir das vias dos ácidos chiquímico e acético (COUTINHO *et al.*, 2009).

Plantas medicinais e condimentares que contêm flavonoides são usadas há milhares de anos na medicina oriental. No entanto, a despeito da literatura avaliada, ainda são pouco usados terapeuticamente na medicina popular do ocidente, embora possuam atividade antioxidante na função protetora e no tratamento de doenças degenerativas mediadas por estresse oxidativo (DORNAS *et al.*, 2009).

Apesar de os flavonoides serem largamente utilizados e vários estudos sugerirem promissoras atividades farmacológicas, os mecanismos de absorção digestiva e de biodisponibilidade não estão completamente explicados. Sabe-se que os flavonoides são absorvidos por via oral e transportados pela albumina plasmática. Sofrem metabolismo de primeira passagem, reduzindo assim a sua biodisponibilidade. Enzimas bacterianas podem também quebrar as moléculas dos flavonoides influenciando sua absorção (SOBREIRA, 2013).

Destacam-se, dentre outros, os seguintes efeitos dos flavonoides sobre os sistemas biológicos: capacidade antioxidativa (esta constitui a atividade mais elucidada pelos estudos até agora desenvolvidos); atividades anti-inflamatórias e de efeito vasodilatador; ação antialérgica; atividade contra o desenvolvimento de tumores, anti-hepatotóxica, antiulcerogênica; atuação antiplaquetária, bem como ações antimicrobianas e antivirais (LOPES *et al.*, 2000).

2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Alguns estudos foram realizados com a finalidade de avaliar a atividade antioxidante de plantas do gênero *Kalanchoe* utilizando o método *in vitro* estabelecido pela medida de capacidade sequestrante de radicais livres através do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) (SOBREIRA, 2013). Dois trabalhos publicados avaliaram a atividade antioxidante de diversos extratos de *Kalanchoe pinnata*. No trabalho realizado por Gupta *et al.* (2009), o extrato metanólico das folhas de *K. pinnata* apresentou atividade sequestrante de radicais livres em 63,97% quando comparada com o padrão BHT (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol). Já no estudo conduzido por Majaz *et al.* (2011), o extrato metanólico das raízes produziu uma atividade de 73,37%, quando comparada com o ácido ascórbico.

De forma geral, denominam-se antioxidantes as substâncias que, presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (SOUSA *et al.*, 2007).

Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais (SOUSA *et al.*, 2007).

3 METODOLOGIA

3.1 PREPARO DO MATERIAL

O material vegetal foi coletado na cidade de Patos de Minas (MG). Todas as etapas reacionais foram realizadas no Laboratório Central Analítica do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). A identificação e o depósito da exsicata foram realizados no Herbário *Mandevilla sp.* sob o número 130.3.1. As folhas foram separadas e lavadas, obtendo-se 867,54 g de folhas frescas. Em seguida foram secadas por 96 horas em estufa na temperatura de 50 °C. O material foi submetido à trituração no liquidificador industrial e obtendo-se 30,92 g.

3.2 EXTRAÇÃO E PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O processo de extração, ou seja, de obtenção do extrato a partir de folhas de aranto foi realizado por soxhlet (Figura 2), usando o álcool de cereais como solvente. Os experimentos foram realizados com a massa de folhas secas constantes (5 g em cada), sendo avaliados os efeitos das variáveis tempo e volume de solvente conforme o planejamento experimental explicitado na Tabela 1.

Tabela 1: Planejamento experimental para obtenção de extrato a partir de folhas de aranto

Experimentos	Tempo (h)	Volume de álcool de cereais (mL)
1	4 (-1)	180 (-1)
2	4 (-1)	380 (+1)
3	8 (0)	280 (0)
4	8 (0)	280 (0)
5	12 (+1)	180 (-1)
6	12 (+1)	380 (+1)

Fonte: elaborada pelos autores, 2020.

Figura 2: Processo de extração por soxhlet



Fonte: arquivo pessoal, 2020.

3.3 TESTE DE FLAVONOIDES QUALITATIVO

Para identificação de flavonoides, foi realizado o teste de Shinoda adaptado de Simões *et al.* (1999): em um tubo de ensaio com 2 mL de etanol adiciona-se a ponta de uma espátula do extrato e três fitas de magnésio metálico de 1 cm cada e 1 mL de HCl concentrado. O aparecimento de coloração róseo-avermelhada indica resultado positivo para flavonoides.

3.4 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS

A determinação de flavonoides totais foi realizada com o preparo do branco adicionando-se 2 mL da solução de cloreto de alumínio (AlCl_3) 5% ao etanol até a marca dos 50 mL e a absorbância foi determinada em 425 nm. Uma solução de concentração 2 mg/mL de extrato bruto dissolvido em etanol foi preparada e em 15 mL desta foram adicionados 2 mL de AlCl_3 5% em etanol e o volume completado até 50 mL com etanol. Após repouso de 30 minutos, realizou-se leitura em espectrofotômetro no mesmo comprimento de onda que o padrão.

A quercetina foi adotada como padrão nas concentrações de 10, 20, 30, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$ e, para a quantificação dos flavonoides, utilizou-se da equação gerada pelo gráfico da curva padrão. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ANÁLISE QUALITATIVA DE FLAVONOIDES

A partir do teste de Shinoda realizado no extrato de aranto, foi observada a presença de flavonoides evidenciada pela coloração róseo-avermelhada, como mostra a Figura 3.

Figura 2: Teste de Shinoda para presença de flavonoides



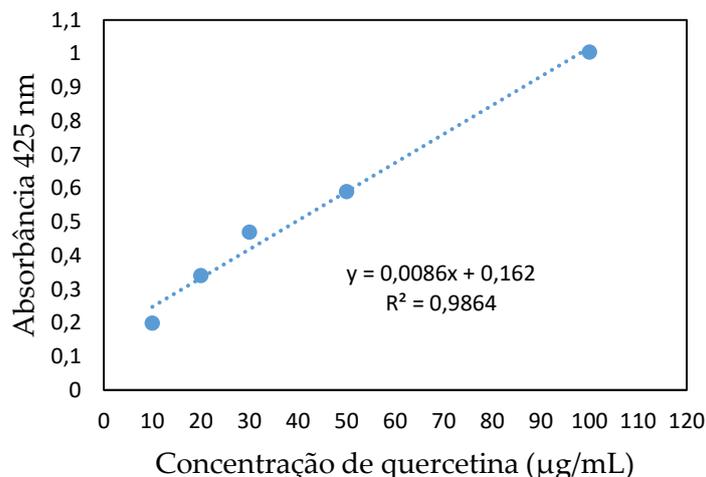
Fonte: arquivo pessoal, 2020.

4.2 TESTE DE FLAVONOIDES TOTAIS

A curva de calibração para determinação de flavonoides totais obteve a equação da reta $y = 0,0086x + 0,162$ (sendo y a absorbância e x a concentração em $\mu\text{g/mL}$) com coeficiente de determinação (R^2) de 0,9864, como mostra a Figura 4.

A Tabela 2 explicita os resultados dos teores de flavonoides totais. Resultados similares foram obtidos por Costa (2012), que obteve, em seus trabalhos, valores de teores de flavonoides da ordem de 30,75 a 196,46 $\mu\text{g/mL}$ com diversas concentrações do extrato de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess. Na literatura, os estudos para o gênero *Kalanchoe* são voltados para a investigação da atividade farmacológica e algumas pesquisas voltadas para isolamento e caracterização de flavonoides.

Figura 4: Curva de calibração utilizada para a quantificação de flavonoides totais



Fonte: elaborada pelos autores, 2020.

Tabela 1: Resultados de flavonoides totais

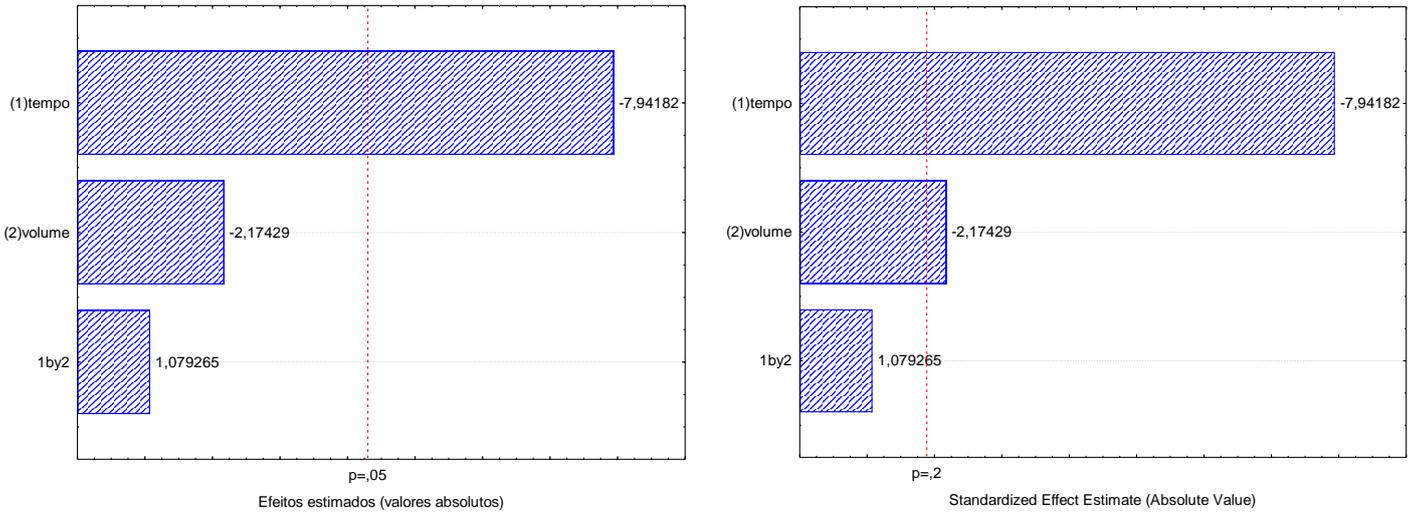
Experimentos	Tempo (h)	Volume (mL)	Flavonoides Totais (µg/mL)
1	4 (-1)	180 (-1)	139,700± 24,227
2	4 (-1)	380 (+1)	116,780± 24,227
3	8 (0)	280 (0)	97,700± 24,227
4	8 (0)	280 (0)	110,373± 24,227
5	12 (+1)	180 (-1)	76,150± 24,227
6	12 (+1)	380 (+1)	68,436± 24,227

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Nota-se pela Tabela 2 que extrações maiores dos teores de flavonoides totais foram obtidas para a condição de menor tempo de extração (4 horas) e menor volume de solvente (180 mL). Souza *et al.* (2009), em seu trabalho de extração de compostos fenólicos utilizando o planejamento experimental com rotação, observaram que ao agitar no processo de extração teve um efeito contrário, resultando num menor teor de composto fenólico.

Este resultado sugere que aumento de tempo de agitação pode ocasionar uma diminuição nos teores extraídos pela degradação dos compostos fenólicos, o que pode explicar o porquê de os experimentos com 12 horas terem obtido os menores teores, pois os compostos flavonoides podem ter sido degradados.

Para avaliar os efeitos dos parâmetros tempo e volume sobre a extração de flavonoides, realizou-se o tratamento estatístico tendo-se obtido o diagrama de Pareto (Figura 5), que mostra os efeitos das variáveis avaliadas, assim como a interação entre os parâmetros.

Figura 5: Diagrama de Pareto nos níveis de significância de 0,05 e 0,2

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

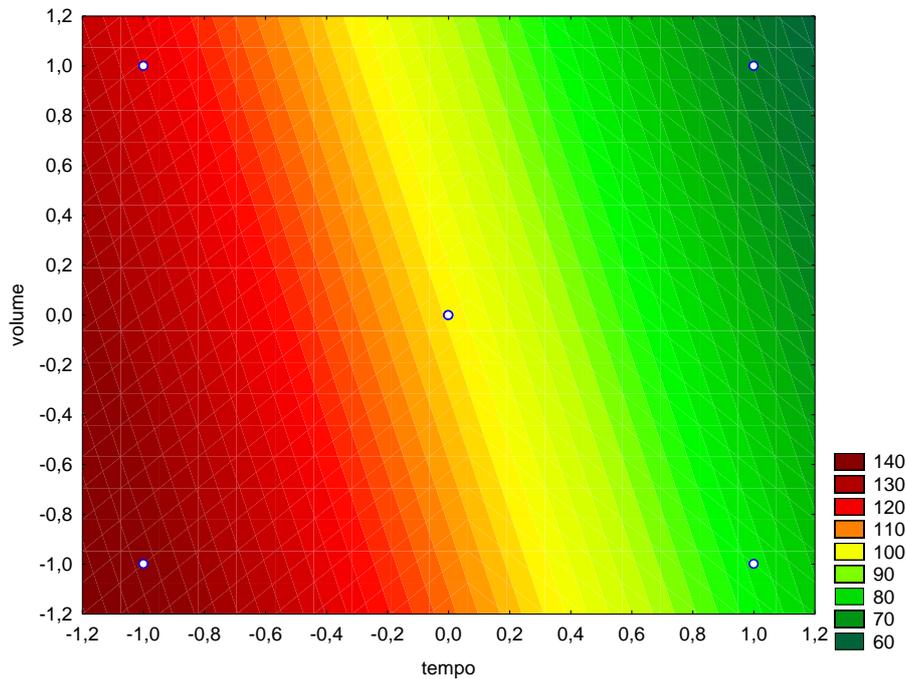
Nota-se pelo Diagrama de Pareto que, nos níveis baixos de significância, o volume de solvente e a interação desse com o tempo de extração não exercem efeito estatístico significativo sobre a extração de flavonoides. Ampliando-se o nível de significância para 0,2, obtém-se o efeito do volume de solvente sobre a resposta. O diagrama confirma os efeitos negativos das variáveis, indicativos de que um aumento no tempo e no volume de extração contribui para uma menor obtenção dos teores de flavonoides.

A equação do modelo que prediz a extração de flavonoides frente ao tempo e volume de solvente é dada por

$$\text{Teores de Flavonoides} = 101,5232 - 27,9735 * X1 - 7,6585 * X2,$$

em que X1 e X2 são, respectivamente, o tempo de extração e o volume de solvente. A Figura 6 apresenta a superfície de resposta ajustada à equação.

Figura 6: Superfície de resposta ajustada à equação que prediz os teores de flavonoides



Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Nota-se que pela figura que os maiores teores extraídos de flavonoides ocorrem nas condições de baixo tempo e volume de solvente. No trabalho de Gomes (2017), a melhor extração foi obtida no experimento no qual tanto a razão (7:1) de solvente: planta quanto o tempo (1 h) de extração foram os máximos. Isso pode ser explicado pela Lei de Fick, pois, quanto maior o volume de solvente, mais facilitada a transferência do produto do meio sólido para o meio líquido, ou seja, quanto maior for a razão solvente: planta, maior será o gradiente de concentrações dos produtos. Além disso, promover o contato entre o meio fermentado e o solvente por um maior período de tempo também pode favorecer o fenômeno de transporte de massa.

Porém, o maior tempo do experimento de Gomes (2017) de 1 h é bem inferior ao menor tempo de estudo do presente trabalho, que é de 4 h. Torres *et al.* (2018) discute que o uso da temperatura é um fator que melhora a extração de compostos fenólicos, em especial os flavonoides. Contudo, também é sabido que o emprego de altas temperaturas pode levar à degradação desse composto.

Este resultado sugere que o longo tempo de extração ocasionou uma diminuição nos teores extraídos pela degradação dos compostos fenólicos pelas enzimas óxido-redutases do tecido ou reversão do equilíbrio dos compostos entre as frações sólido-líquido do sistema (SOUZA *et al.*, 2009).

5 CONCLUSÃO

A concentração máxima de flavonoides foi de 139,700 µg/mL com um tempo de extração de 4 horas e volume de 180 mL de etanol. O planejamento experimental se

mostrou eficiente, já que foi possível diferenciar os experimentos, porém devem ser evidenciados mais fatores como o rendimento do extrato, e o teste de quantificação de atividade antioxidante deve ser executado para um melhor estudo da planta.

Devido ao longo tempo de extração, os teores de flavonoides, em sua maioria, foram degradados, o que torna necessário o desenvolvimento de novas metodologias de otimização do método extrativo, a fim de selecionar as melhores condições de extração, sem que a substância seja degradada durante o processo extrativo.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Farmacopeia Brasileira**. v. 1, p. 546. 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5%C2%AA+edi%C3%A7%C3%A3o+-+Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b907-6a96b5c2d2fc>.
- CALIXTO, J. B. Fitofármacos no Brasil: agora ou nunca!. **Ciência hoje**, [S. l.], v. 21, n. 1234, p. 26-30, 2001.
- CASTRO, M. S. A. Farmacologia de Produtos Naturais: Plantas Medicinais. *In*: FRANCISCHI, J. N. *et al.* **A farmacologia em nossa vida**. Minas Gerais: Ed. Universitária, cap. 9, 2005, p. 115-123.
- COSTA, A. C. de O. **Caracterização e quantificação de marcadores químicos do extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess.** 2012. 226 f. Dissertação (Mestrado em Bioanálises e Medicamentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.
- COUTINHO, M. A. S. *et al.* Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.
- DESCOINGS, B. *Kalanchoe*. Illustrated handbook of succulent plants: *Crassulaceae*. **Springer-Verlag**, Berlin, p. 143-181, 2003.
- DORNAS, W. C. *et al.* Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2009.
- DUTRA, M. G. **Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás.** 2009. 112 f. Dissertação (Mestrado Multidisciplinar em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente) - Centro Universitário de Anápolis - UniEvangélica, Anápolis, 2009.
- F.I.B. Dossiê Antioxidantes. **Revista Food Ingredientes Brasil**, 2009. p. 16-23, n. 6. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>.

FÓGLIO, M. A. *et al.* Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. **Multiciência**, Curitiba, v. 7, n. 10, p. 17-26, 2006.

GOMES, M. V. O. **Produção de quercetina por fermentação em meio sólido**. 2017, 57 f. Projeto Final (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2017.

GUPTA, R. *et al.* Anti-inflammatory activity of extracts and isolated alkaloidal fraction from leaves of *Bryophyllum pinnatum*. **Pharmacologyonline**, [S. l.], v. 2, p. 873-886, 2009.

LOPES, R. M. *et al.* Flavonoides. **Biotecnologia ciência & desenvolvimento**, [S. l.], v. 17, p. 18-22, 2000.

MACIEL, M. A. M. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-38, 2002.

MAJAZ, Q. *et al.* Evaluation of antioxidant activity of *Kalanchoe pinnata*. **International Journal of Research in Ayurveda e Pharmacy**, [S. l.], v. 2, n. 6, p. 1772-1775, 2011.

NEWMAN, D. J. *et al.* The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Products Rep**, [S. l.], v. 17, p. 215-234, 2001.

OLIVEIRA, V. B. *et al.* Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por CLAE-DAD de *Dicksonia sellowiana* (presl.). *Hook, dicksoniaceae*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Paulínia, v. 18, n. 1, p. 230-239, 2016.

REX, J. H. *et al.* Practice guidelines for the treatment of candidiasis. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 30, n. 4, p. 662-678, 2000.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira *et al.* (orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Rio Grande do Sul: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999.

SOBREIRA, F. C. **Avaliação da atividade antiúlcera de *Kalanchoe pinnata* (lam.) Pers (crassulaceae)**. 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado em Insumos Farmacêuticos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

SOUSA, C. M. de M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, M.M. *et al.* Estudo das condições de extração de compostos fenólicos de cebola (*Allium cepa* L.). **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 192-200, 2009.

SUPRATMAN, U. *et al.* Anti-tumor promoting activity of bufadienolides from *Kalanchoe pinnata* and *K. daigremontiana* × *tubiflora*. **Biosci Biotechnol Biochem**, [S. l.], v. 65, p. 947-949, 2001.

TORRES, D. da S. *et al.* Influência do método extrativo no teor de flavonoides de *cnidoscolus quercifolius* pohl (euphorbiaceae) e atividade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 41, n. 7, p. 743-747, 2018.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIZZOTTO, M. *et al.* **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Embrapa Clima Temperado-Documents (INFOTECA-E), 2010.
Disponível em:
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/886074/1/documento316.pdf>.