

Contribución al estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Kalanchoe daigremontiana* Raym. -Hamet & H. Perrier

Contribution to the phytochemical study of the ethanolic extract of the leaves of *Kalanchoe daigremontiana* Raym. -Hamet & H. Perrier

José Steven Cardozo Pinzón¹, Milton Gómez Barrera²

¹. Laboratorio Búsqueda de Principios Bioactivos (LBPB), Universidad del Quindío

². LBPB, Universidad del Quindío

Recibido: Octubre 26 del 2018

Aceptado: Noviembre 28 del 2018

*Correspondencia del autor: José Steven Cardozo Pinzón,
E-mail: : jscardozop@uqvirtual.edu.co



Resumen

El creciente interés por la medicina tradicional ha promovido investigaciones sobre las constituyentes químicas de las plantas que presentan o se le atribuyen propiedades medicinales; en este sentido, algunas especies del género *Kalanchoe* han sido foco de estudio por la capacidad de formar plántulas en la margen de sus hojas, el metabolismo CAM, la presencia de bufadienólidos y el uso de sus partes vegetativas para el tratamiento de enfermedades. De manera particular, *Kalanchoe daigremontiana* Raym. -Hamet & H. Perrier, es ampliamente usada en la medicina tradicional por su actividad anticancerígena, antioxidante, analgésica, entre otros, por lo que se hace necesario detectar la presencia de los metabolitos secundarios hallados en sus hojas. Se analizó la presencia de metabolitos secundarios encontrados en el extracto etanólico por pruebas fitoquímicas preliminares y un fraccionamiento del extracto asperjado con reactivos de coloración en cromatografía de capa delgada (C.C.D), con tres eluyentes de polaridad ascendente. Se detectaron alcaloides, esteroides y/o triterpenoides libres, cardiotónicos, cumarinas y lactonas terpénicas. La presencia de estos constituyentes químicos puede contribuir a la clasificación de la especie en el género. En el revelado cromatográfico se destaca la detección de glicósidos cardiotónicos, alcaloides oxindólicos y otros metabolitos secundarios. Se resalta la detección de cumarinas y antraquinonas las cuales no se encontraban reportadas para la especie; finalmente, las hojas presentaron gran diversidad de metabolitos secundarios los cuales deberían ser estudiados más a fondo con el fin de contribuir al conocimiento de los constituyentes químicos de la especie.

Palabras clave: antioxidantes naturales, *Kalanchoe daigremontiana*, glicosidos cardiotonicos, alcaloides oxindolicos cumarinas, antraquinonas

Abstract

The growing interest in traditional medicine has promoted research into the chemical constituents of plants that present or are attributed medicinal properties; In this sense, some species of the genus *Kalanchoe* have been the focus of study due to the ability to develop plantlets on the leaf margins, the CAM metabolism, the presence of bufadienolides and the use of their vegetative parts for the treatment of diseases. In particular, *Kalanchoe daigremontiana* Raym. -Hamet & H. Perrier, is widely used in traditional medicine for its anti-cancer, antioxidant, analgesic, among others, so it is necessary to detect the presence of secondary metabolites found in its leaves. The presence of secondary metabolites found in the ethanolic extract was analyzed by preliminary phytochemical tests and a fractionation of the extract sprinkled with color reagents in thin layer chromatography (T.L.C), with three eluents of ascending polarity. Alkaloids, steroids and / or free triterpenoids, cardiotónicos, coumarins and terpene lactones were detected. The presence of these chemical constituents can contribute to the classification of the species in the genus. In the chromatographic development, the detection of cardiotonic glycosides, oxindolic alkaloids and other secondary metabolites is highlighted. The detection of coumarins and anthraquinones which were not reported for the species is highlighted; finally, the leaves presented a great diversity of secondary metabolites which should be studied more thoroughly in order to contribute to the knowledge of the chemical constituents of the species.

Keywords: *Kalanchoe daigremontiana*, cardiotonic glycosides, oxindolic alkaloids, coumarins, anthraquinones.

Introducción

El creciente interés por la medicina alternativa, ha promovido el uso de productos de origen vegetal para tratamientos terapéuticos; en consecuencia, cada vez se incrementan los estudios sobre los constituyentes de las especies que tienen o se les atribuyen propiedades medicinales, por lo tanto, las búsquedas de nuevos compuestos útiles es importante para fortalecer los sectores productivos como las industrias relacionadas con los temas (1).

En particular, el género *Kalanchoe* cuenta con 125 especies, algunas muy reconocidas por que se le atribuyen propiedades medicinales; estas han sido fuertemente estudiadas por la presencia de bufadienólidos, que son un grupo de polihidroxi esteroides C-24 y sus glucósidos, de gran interés por sus actividades cardiotónicas y anticancerígenas; en este grupo se hallan briofilina A y briofilina C de *Kalanchoe pinnata*, daigremontianina para *K. daigremontiana* × *tubiflora* (2) (Figura 1).

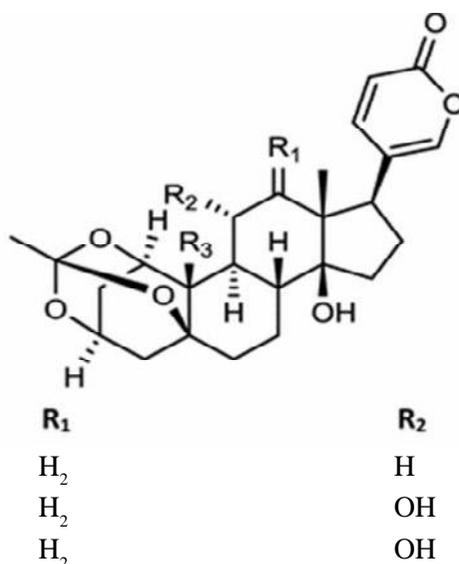


Figura 1. Estructuras de los compuestos Daigromontianina de *K. daigremontiana* × *tubiflora*; Briofilina A y Briofilina C de *K. pinnata*. Fuente: Kolodziejczyk y Stochmal, (2017).

Complementan los estudios que caracterizan las especies la formación de espolones bulbíferos, el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) y finalmente el uso de sus partes vegetativas para el tratamiento de múltiples dolencias (3, 4). Sin embargo, algunas especies dentro de este género, no han sido estudiadas o presentan pocos estudios sobre sus constituyentes químicos. Es el caso de *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H. Perrier., una hierba xerófila y erecta, originaria de Madagascar, que se ha adaptado a diferentes ecosistemas por su resistencia a presiones adversas, lo que le ha permitido diseminarse en zonas tropicales y templadas. Alcanza hasta 120 cm de longitud, posee hojas opuestas decusadas, lanceoladas, con margen aserrada, de color verde en su haz y marcas purpuras en el envés; inflorescencia en racimo terminal, con flores hermafroditas y protándricas en forma campanulada de color rosa. Presenta reproducción sexual; sin embargo, tiene la capacidad de generar plántulas en el margen de sus hojas, por lo cual muchas de las especies son conocidas como madre de miles (5).

Generalmente esta planta se conoce como “Aranto” o “espinazo del diablo”, es un atractivo ornamental; las infusiones o decocciones de sus hojas son utilizadas tradicionalmente como tratamiento alternativo para distintas dolencias como la fiebre, hipertensión, relajante muscular, sedante, antihistamínico, entre otros (6). Numerosos estudios se han enfocado en detectar e identificar los diversos constituyentes químicos que presentan actividades anticancerígenas, antioxidante, hipoglucémico y antimicrobiano; los compuestos como daigremontianina y el bersaldegenin-1, 3,5-ortoacetato, se registran en la literatura como sustancias sedantes (7-10).

Cada vez, hay más investigaciones que demuestran que los constituyentes químicos de las plantas medicinales, les otorgan a los humanos una protección frente a una gran cantidad de enfermedades, evidenciando su eficacia en la prevención y tratamiento de una alta gama de dolencias, incluyendo enfermedades del corazón, cáncer, diabetes, gripe y otras enfermedades infecciosas. Con este fin, se plantea como alternativa de desarrollo sostenible la búsqueda de sustancias útiles que puedan promover tratamientos efectivos, para las enfermedades padecidas por nuestro pueblo y que no están siendo atendidas por los sistemas de salud implementados por el estado (11). Por lo anterior, se estableció como objetivo realizar un tamizaje fitoquímico de los metabolitos secundarios que presentes en las hojas de *Kalanchoe daigremontiana*, en búsqueda de nuevos compuestos.

Materiales y métodos

Material vegetal

La colecta del material vegetal se llevó a cabo entre las 5:00 a 7:00 am., en los meses de septiembre y diciembre del 2017, en el campus de la Universidad del Quindío, municipio de Armenia, Colombia, ubicado a 1450 msnm, con una precipitación promedio anual de 2436 mm, humedad relativa entre 65 y 75% y una temperatura promedio de 19°C; clasificado, según las zonas de vida de Holdridge 1987, como bosque muy húmedo premontano (bhm-PM) (12).

El material vegetal fue determinado y depositado en el Herbario de la Universidad del Quindío (HUQ) con el código 038562; la especie *K. daigremontiana*, según Trópicos (<http://www.tropicos.org/>) está clasificada taxonómicamente en el filo Magnoliophyta de la clase Equisetopsida del orden Saxifragales, perteneciente a la familia Crassulaceae y del género *Kalanchoe*.

Para el estudio se colectaron diez kilogramos de hojas de *K. daigremontiana*, a partir de plantas con una altura mínima de 40 cm, libres de insectos, sin daño o heridas y que no estuvieran quemadas por la exposición a la luz solar. Las hojas fueron lavadas con agua, se rociaron con etanol al 75% para evitar la propagación de hongos en estas, y posteriormente se trasladaron a una estufa de aire circulante a 40°C durante 26 días. Después de seco, el material fue pulverizado en un molino manual, hasta obtener un tamaño que pasó por un tamiz N° 10, facilitando el proceso de extracción (figura 2).

Obtención de extracto por percolación

El material vegetal se sometió a extracción por percolación, utilizando como solvente etanol al 95%, a un goteo uniforme hasta la obtención de cuatro litros del extracto etanólico, el cual se concentró por medio de un rotaevaporador a presión reducida y, posteriormente, se llevó a una cápsula de porcelana sometida a un baño maría para evaporar restos del solvente (13).

Pruebas fitoquímicas.

Se realizaron pruebas fitoquímicas al extracto; para detectar la presencia de alcaloides, se utilizó los reactivos de Dragendorff, Mayer, Valser y Reinekato de Amonio aplicado en diferentes soluciones; para los flavonoides se utilizó el reactivo Cianidina (Shinoda), naftoquinonas y/o antraquinonas con la reacción de Bornträger-Kraus taninos gelatina- sal y saponinas prueba de hemólisis y espuma. Finalmente, se corrió en placas de

cromatografía de capa delgada (CCD) y se asperjó con el reactivo Liberman-Burchard para los esteroides o triterpenoides; Raymond para cardiotónicos; Hidroxamato Fe^{3+} , para cumarinas y vainillina para lactonas terpénicas según el método establecido por Sanabria, 1983 (13). Los resultados se expresan, dependiendo de la intensidad de color o la abundancia de precipitado, según el reactivo como: abundante (+++), moderada (++) , poca (+), ausente (-) (13)

Fraccionamiento por cromatografía en columna

Se utilizó cromatografía en columna, empleando gel de sílice para columna como fase estacionaria, y la móvil se realizó con solventes de polaridad ascendente, empezando con cloroformo, acetato de etilo y finalizando con metanol. Las fracciones obtenidas se reunieron según la semejanza de los perfiles cromatográficos; a las fracciones reunidas se les realizó análisis con reactivos de coloración (13).

Reactivos de coloración para cromatografía de capa delgada

Se sembraron las fracciones en placas de cromatografía de capa delgada (CCD) de gel de sílice para placa, utilizando como fase móvil los eluyentes utilizados

para cada fracción con relación a su polaridad ascendente (cloroformo, acetato de etilo, metanol), las cuales fueron sometidas a un proceso de aspersión con reactivos de coloración, que reaccionan con las fracciones corridas en CCD; para la detección de los diferentes compuestos químicos se agruparon en: generales, terpenoides y esteroides, compuestos fenólicos y alcaloides. Dependiendo de las características, se evaluaron cambios físicos al instante o se calentaron a un tiempo y temperatura acorde al reactivo; por el contrario en algunos reactivos se observaron cambios al exponerlos a rayos UV de 366 nm; mostrando fluorescencia según el método establecido por Barrera 2012; para este estudio se utilizaron 22 reactivos de coloración (14).

Resultados

En las pruebas fitoquímicas preliminares, los metabolitos secundarios fueron detectados de manera cualitativa mediante ensayos de coloración y precipitación de los reactivos; determinando la presencia de alcaloides, esteroides y triterpenoides, cardiotónicos, cumarinas y lactonas terpénicas con mayor abundancia en alcaloides, triterpenoides y esteroides. De igual forma se observó ausencia de taninos y saponinas (tabla 1).

Tabla 1. Resultado de pruebas fitoquímicas para extracto etanólico de las hojas de *K. daigremontiana*.

Metabolitos secundarios	Prueba					
		Soluble	CHCl_3	CHCl_3 -EtOH	Alcaloides fenólicos	Amonio N^+R_4 u óxidos de aminas
	Reactivo					
Alcaloides	Dragendorff		++	+	-	-
	Mayer		++	+	-	-
	Valser		+++	+++	-	-
	Reinekato de amonio		+++	+++	+	-
Esteroides y/o triterpenoides	CCD Liberman-Burchard				+++	
	Reacción de Borträ-ger-Kraus.				-	
Naftoquinonas y antraquinonas	Cianidina (Shinoda)				-	
Taninos	Gelatina-sal				-	
Saponinas	Espuma				-	
	Hemólisis					
Lactonas terpénicas	CCD Vainillina				+	
Cumarinas	CCD Hidroxamato				++	
	Fe^{3+}					
Cardiotónicos	CCD Raymond				++	

Detección del metabolito: abundante (+++), moderada (++) , poco (+), ausente (-). Elaboración propia.

En el fraccionamiento del extracto con los eluyentes de polaridad ascendente, se obtuvieron once fracciones de cloroformo, ocho de acetato de etilo y siete de metanol; en el revelado cromatográfico se obtuvieron 20 reacciones positivas con los reactivos de coloración, estos con el fin de detectar la posible presencia de algunos tipos de metabolitos secundarios; mediante la técnica CCD; la cual es una prueba de sensibilidad que permite fraccionar el extracto de modo que los compuestos queden separados acorde a su polaridad; estos son revelado por medio de pruebas colorimétricas para la detección de metabolitos secundarios; muchos de estas pruebas de colorimetría deben ser visualizadas al UV dado que esta onda de luz genera una excitación en las moléculas; emitiendo fluorescencia y que a simple vista el ojo humano no puede captar. Retomando los resultados de las pruebas fitoquímicas preliminares, estas mostraron negativo para flavonoides; sin embargo, se confirma la presencia de flavonoides en el revelado cromatográfico, lo que indica la necesidad de emplear diversas técnicas para la detección de los metabolitos secundarios. En el estudio se resalta la detección de aldehídos, cetonas, glicósidos cardiotónicos, aceites esenciales, carotenoides, sapogeninas, vitaminas, flavonoides y la posible presencia de alcaloides como ajmalina, brucina, secal, vinca, oxindólicos, alcaloides tipo morfina, codeína, tebaína. Se detectó la presencia de cumarinas y antraquinonas, que no se encontraban reportadas para la especie (tabla 2, figura 3 y 4).

Tabla 2. Resultados de la Cromatografía en capa delgada para las fracciones del extracto etanólico de las hojas

Grupos	Metabolitos secundarios	Reactivo revelador	Cloroformo	Acetato de etilo	Metanol
Generales	Aldehídos y cetonas	2,4 Dinitrofenilhidrazina	+++	+++	+++
Terpenoides y esteoides	Glicósidos cardiotónicos	Ácido 3,5 dinitrobenzoico	+++	+++	+++
	Aceites esenciales	Ácido fosfomolibdico	+++	+++	+++
	Diterpenos y esteroides	Cloruro de antimonio (III)Ácido acético	+++	+++	+++
	Sapogeninas esteroidales esteroides de sp Solanum	Paraformaldehido-ácido fosfórico	++	++	++
	Carotenoides, sapogeninas, glicósidos esteroidales, derivados terpénicos, vitamina A y D	Reactivo de Carr-Price	+	+	+
	Aceites esenciales, terpenoides, derivados de fenilpropano, fenoles, etc.	Vainillina ácido sulfúrico	+++	+	+
Compuestos fenólicos	Cumarinas, antrona, antraquinonas	Hidróxido de potasio (reacción de Borntrager)	+++	+++	+++
	Fenoles, cumarinas, aminas y otras sustancias reductoras	Hexacianoferrato (III) de potasio-Cloruro de hierro (III)	+++	+++	+++
	Catequinas y proantocianinas	Vainillina ácido clorhídrico	-	-	-
Alcaloides	Alcaloides como ajmalina y brucina	Ácido nítrico	+	+++	+
	Alcaloides oxindólicos	Cloruro de hierro ácido perclórico	+++	+++	+++
	Alcaloides indólicos y derivado	Reactivo de Ehrlich	-	-	-
	Alcaloides tipo morfina, codeína, tebaína	Reactivo Marquis	+++	+++	+++

Derivados de purinas (cafeína, teofilina, teobromina)	Yodo ácido clorhídrico	++	+++	+
Alcaloides del Secal	Reactivo de Van Urk	+++	+++	+++
Alcaloides de la vinca	Sulfato de amonio y hierro (III)	+++	+++	+++
Alcaloides y aminas	Tiocianato de cobalto (III)	+++	+++	+++

Detección de los metabolitos secundarios abundante (+++), moderada (++), poco (+), ausente (-). Elaboración propia.

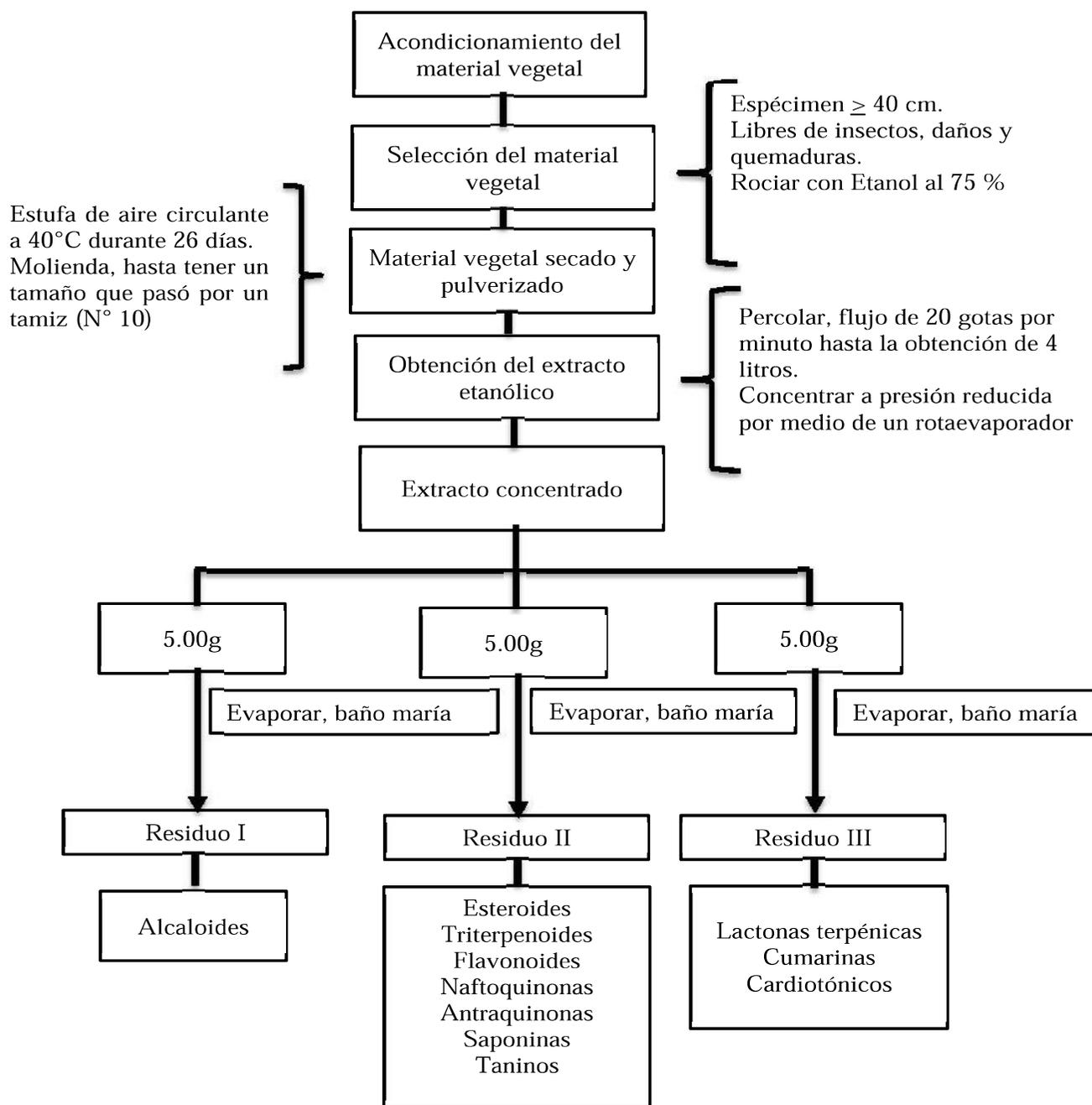


Figura 2. Diagrama del acondicionamiento del material vegetal. Modificado de Sanabria 1983 (13).

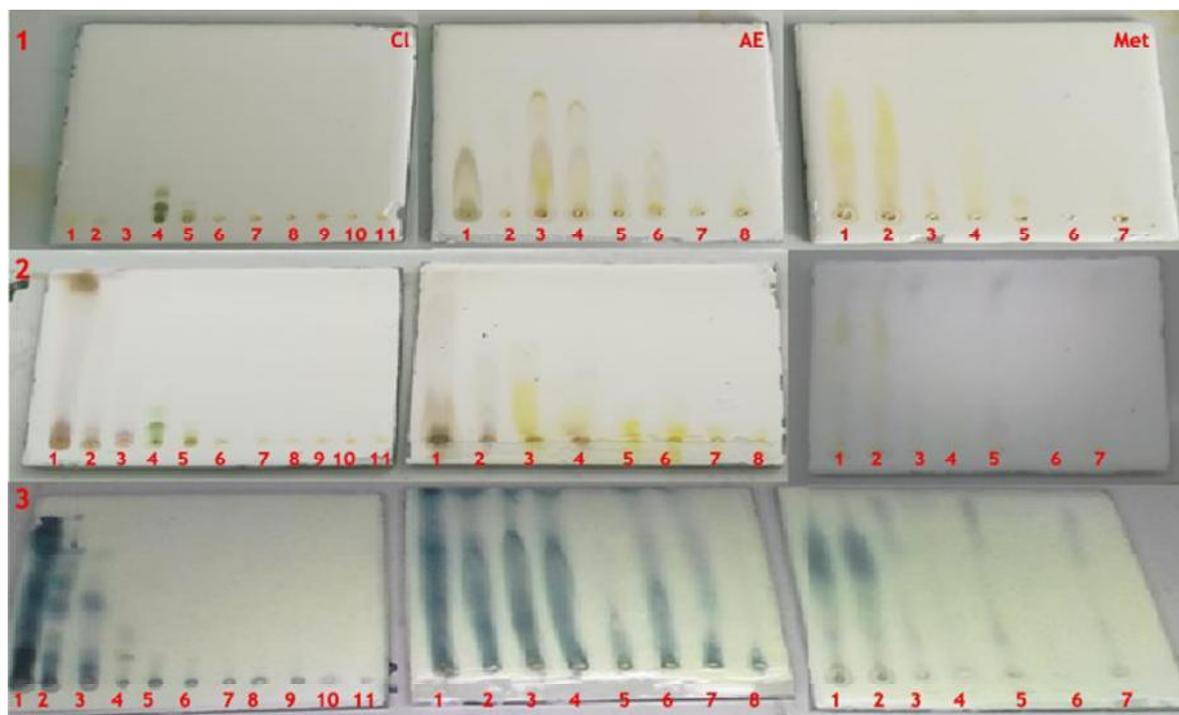


Figura 3. Revelado cromatográfico en placas gel de sílice con tres eluyentes de polaridad ascendente. De izquierda a derecha; con las fracciones reunidas por cada solvente cloroformo (1-11), acetato de etilo (1-8) y metanol (1-7). Arriba: 1 control; 2 Cloruro de antimonio (III)- ácido acético detección de diterpenos y esteroides; 3 ácido fosfomolibdico detección de aceites esenciales; observado a la luz visible. Elaboración propia.

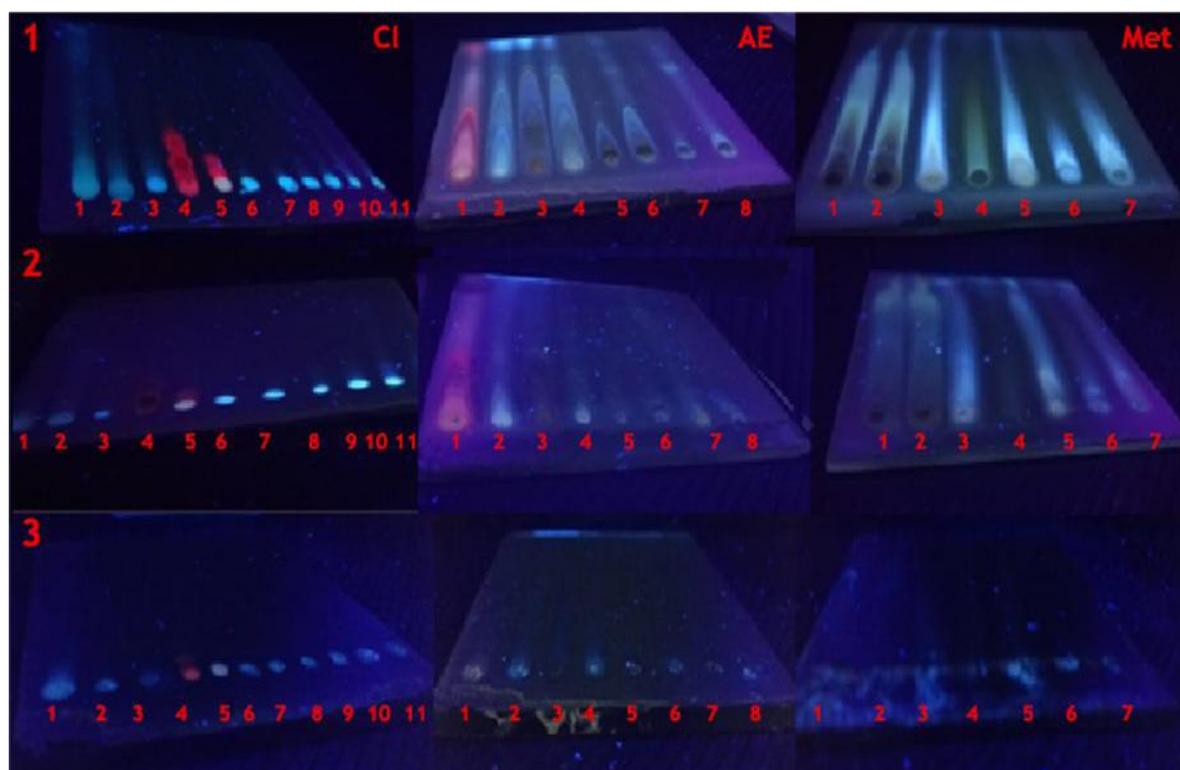


Figura 4. Revelado cromatográfico en placas gel de sílice con tres eluyentes de polaridad ascendente. De izquierda a derecha; con las fracciones reunidas por cada solvente cloroformo (1-11), acetato de etilo (1-8) y metanol (1-7). Arriba: 1 control; 2 hidróxido de potasio detección de cumarinas, antronas y antraquinonas; 3 acetato de plomo básico detección de flavonoide; observado a 366 nm. Elaboración propia.

Discusión

En el género *Kalanchoe* se han aislado e identificado diferentes compuestos, probablemente promovido por el uso en el campo etnomedicinal en diferentes partes del mundo, ya que estos poseen un alto contenido de componentes bioactivos, que le permiten posicionarse como fuente útil en la industria y tecnología (10). Al comparar los resultados de la marcha fitoquímica de la clase de compuestos detectados, con estudios previos para el género y la especie, se encuentra que se detectaron metabolitos secundarios tipo cumarina y antraquinonas que no se habían reportado; por esta razón, los constituyentes químicos detectados pueden contribuir a la clasificación de la especie en el género (10, 15). En términos generales se detectó para las hojas de *K. daigremontiana* una mayor precipitación en pruebas fitoquímicas preliminares e intensidad de coloración para los alcaloides junto con la posible presencia de una gran variedad, que posiblemente sean afines a alcaloides tipos morfina, codeína y tebaína; además, la posible presencia de alcaloides como ajmalina utilizada para el tratamiento de la presión sanguínea; los alcaloides del secal, utilizados para enfermedades cancerígenas; la detección de estos posibles tipos de alcaloides son el primer acercamiento hacia cuales podrían ser los alcaloides presentes en la especie, junto con los esteroides, que son importantes para la formación de vitaminas y, finalmente, los triterpenoides que constituyen aceites esenciales y tienen propiedades antisépticas (7).

De esta manera, por su uso en la medicina tradicional, también es consumida en ensaladas, por lo que en valores nutricionales, se hace referencia a los carotenoides y ésteres; de igual forma, se detectaron aceites esenciales reportados en trabajos anteriores, abriendo la oportunidad para el posible uso en la industria alimenticia (15-17). En este estudio se detectaron vitaminas en baja proporción que son de especial interés en la fabricación de alimentos y la presencia de aldehídos, cetonas y algunos compuestos fenólicos que le otorgan sabor y aroma a la especie; por último los triterpenoides son generalmente usados en la formación de cápsulas para medicamentos (18, 19).

Asimismo, distintos estudios se han enfocado en el uso de extractos o metabolitos secundarios específicos de *K. daigremontiana* o híbridos de esta misma, para contrarrestar plagas por su potencial de constituyentes fitoquímicos con actividad insecticida y citotóxica, lo que ha llamado la atención al desarrollo de biopesticidas (20).

Los estudios realizados se enfocaron en especies como *Bombyx mori* (gusano de seda) en donde se le atribuye el efecto insecticida a los bufadienólidos y *Plutella xylostella* (polilla de la col) se detectaron alcaloides, flavonoides, saponinas, glucósidos cardiacos, polifenol y esterol que podrían ser responsables del comportamiento anti alimentario y mortalidad de dicha especie (19, 21). La detección de estos metabolitos secundarios, a los que se atribuyen funciones de defensa contra insectos, abre una oportunidad para la ampliación de estudios desde el punto de vista fitoquímico con relación a su amplia acción biológica.

De otra parte, la presencia de glicósidos cardiotónicos es de especial interés, por ser los promotores de los bufadienólidos, que según la literatura son los responsables de diferentes propiedades farmacológicas como la actividad sedante, anticancerígena e insecticida (2).

Logrando hasta el aislamiento de siete de estos compuestos en sus partes aéreas y ocho en sus raíces, siendo esta, una de las especies más ricas en dicho compuesto (22); uno de los más reconocidos es la Daigremontiana que presenta un fuerte efecto sedante; sin embargo, grandes dosis de este compuesto vuelve tóxica a la especie (9, 15, 22).

Se detectaron la posible presencia de alcaloides tipo oxindólicos; sin embargo, para la especie no se ha profundizado sobre los alcaloides que contiene. En particular, este tipo de alcaloides ha sido fuertemente estudiado para la especie *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC (uña de gato) perteneciente a la familia Rubiaceae, los cuales presentan efectos sobre células leucémicas, inhibiéndolas hasta en 50%; se hace énfasis en que, posiblemente, se pueda convertir en una droga para el tratamiento de pacientes con leucemias por sus propiedades inmunológicas (23). Por lo anterior, la detección de este tipo de alcaloide, abre la posibilidad de nuevos usos y un enfoque hacia la búsqueda de compuestos útiles.

De otra parte, en el grupo de los compuestos fenólicos, se destaca la presencia de flavonoides que son característicos del género, estos presentan propiedades antibacterianas y son utilizados como colorantes (17). En este grupo, se detectó la presencia de cumarinas y antraquinonas, que no se encontraban reportados previamente para la especie, probablemente porque la proporción de esta en las hojas es menor, por lo que se hace necesario una mayor cantidad de material vegetal; caso contrario sucede con los alcaloides, esteroides y triterpenoides

que se encuentran en mayor cantidad. Las cumarinas se emplean como anticoagulantes; algunos de estos compuestos solo se encontraban reportados para la especie *Kalanchoe gracilis* Hance. Finalmente las antraquinonas se destacan por su acción laxante (15).

Conclusiones

Las pruebas fitoquímicas mostraron que las hojas de *K. daigremontiana* presentan gran diversidad de metabolitos secundarios, resaltando la presencia de glucósidos cardiotónicos usados en el tratamiento de enfermedades cardíacas.

Se detectó la presencia de alcaloides y sus posibles variaciones, que pueden ser aprovechadas como fuente de sustancias bioactivas para la aplicación en la industria farmacéutica.

Finalmente se resalta la presencia de metabolitos secun-

darios tipo cumarinas y antraquinonas, que no se encontraban reportadas para la especie, por lo cual, se debería estudiar más a fondo para la creación de productos naturales que ayuden a mejorar el sistema industrial del país.

Financiación

Programas de Química y Biología de la Universidad del Quindío.

Agradecimientos

A la Unidad de Relaciones Internacionales e Interinstitucionales (URII), la vicerrectoría de investigaciones y la decanatura de la Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías de la Universidad del Quindío por el apoyo económico para la divulgación del proyecto en eventos científicos y en la plataforma de información sobre biodiversidad de Colombia.

Referencias

1. Pinto Barrero MI y Ruiz Díaz P. Integración de la medicina alternativa en los servicios de salud de Colombia. *Aquichan*. 2012; 12(2), 183-193
2. Kolodziejczyk Czepas J, Stochmal A. Bufadienolides of *Kalanchoe* species: an overview of chemical structure, biological activity and prospects for pharmacological use. *Phytochem Rev*. 2017;16(6):1155-71.
3. Cardena García C. *Kalanchoe spp*: una fuente natural de nuevas sustancias bioactivas puestas de manifiesto por la Etnomedicina. *Encuentros en la Biología*. 1998; 2(124): 31-32. Disponible en <http://www.encuentros.uma.es/encuentros124/articulos124.pdf>
4. Geydan TD, Melgarejo LM. Metabolismo ácido de las crasuláceas. *Acta Biolo Colomb*. 2005;10(2):3-15.
5. Herrera I, Nassar J. Reproductive and recruitment traits as indicators of the invasive potential of *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae) and *Stapelia gigantea* (Apocynaceae) in a Neotropical arid zone. *J Arid Environ*. 2009;73(11):978-86.
6. Medina M. Los otros ojos del cáncer. Sevilla: Punto Rojo Libros SL. 2016; 1:240-2. Disponible en https://books.google.com.co/books?id=8YiQDQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gs_b_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
7. Singab ANB, El-Ahmady SH, Labib RM, Fekry SS. Phenolics from *Kalanchoe marmorata* Baker, Family Crassulaceae. *B-FOPCU*. 2011;49(1):1-5.
8. Garcês H, Sinha N. The 'mother of thousands' (*Kalanchoë daigremontiana*): A plant model for asexual reproduction and CAM studies. *Cold Spring Harb Protoc*. 2009;2009(10):pdb. emo133.
9. Supratman U, Fujita T, Akiyama K, Hayashi H, Murakami A, Sakai H, et al. Anti-tumor Promoting Activity of Bufadienolides from *Kalanchoe pinnata* and *K. daigremontiana* × *butiflora*. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2001;65(4):947-9.
10. Milad R, El-Ahmady S, Singab AN. Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae): a review of its ethnomedicinal, botanical, chemical and pharmacological properties. *European J Med Plants*. 2014;4(1):86.
11. Montes-Valencia N. La Industria Química: Importancia y Retos. *Lámpsakos*. 2015;(14):72-85.

12. Rodríguez C. Biodiversidad del relicto “Cedro Rosado” de la Universidad del Quindío. Biología y Educación Biodiversidad del relicto “Cedro Rosado” de la Universidad del Quindío. Biología y Educación 1999;(9):17-8.
13. Sanabria Galindo A. Análisis fitoquímico preliminar: Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1983. Repositorio en <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=bac.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=021280>
14. Gómez Barrera, M. De la planta a la droga. Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Programa de Química, Universidad del Quindío. Inedito. 2012;1:73-114.
15. Puertas Mejía MA, Tobón Gallego J, Arango V. *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet. & H. y su potencial uso como fuente de antioxidantes y colorantes naturales. Rev Cubana Plant Med. 2014;19(1):61-8.
16. Pérez Mejía M N. Perfil fitoquímico de cultivos en suspensión de *Kalanchoe daigremontiana*. Tesis de maestría. CeproBi-IPN, Yauatepec, Morelos: Instituto Politécnico Nacional. 2015. Repositorio Dspace: <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/14861>
17. Anisimov M, Gerasimenko N, Chaikina E, Serebryakov YM. Biological activity of metabolites of the herb *Kalanchoe daigremontiana* (Hamet de la Bathie) Jacobs et Perr. Biol Bull. 2009;36(6):568.
18. Maisterra Udi M. (2016). Hongos y plantas de interés medicinal en la Selva de Irati (Navarra). Ensayos de citotoxicidad del hongo obtenido de la Selva de Irati y comparación con tres plantas comerciales utilizadas en el tratamiento del cáncer. Tesis doctoral. Disponible: Bragança, Instituto Politécnico Bragança. Repositorio universitario: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/13661>
19. Hidayati D, Darmanto Y, Nurhidayati T, Abdulgani N. Larvicidal and antifeedant activities of *Kalanchoe daigremontiana* against *Plutella xylostella* larvae. Nus Biosci. 2016;8(2):312-5.
20. Kuo P-C, Kuo T-H, Su C-R, Liou M-J, Wu T-S. Cytotoxic principles and -pyrone ring-opening derivatives of bufadienolides from *Kalanchoe hybrida*. Tetrahedron. 2008;64(15):3392-6.
21. Supratman U, Fujita T, Akiyama K, Hayashi H. Insecticidal compounds from *Kalanchoe daigremontiana* × *tubiflora*. Phytochemistry. 2001;58(2):311-4.
22. Moniuszko-Szajwaj B, Pecio Ł, Kowalczyk M, Stochmal A. New bufadienolides isolated from the roots of *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae). Molecules. 2016;21(3):243.
23. Lock de Ugaz O. Revisión del género *Uncaria*. *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*: las “Uña de gato”. Revista de Química. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1995;9(1), 49-61. Repositorio universitario: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/viewFile/8355/8662>