Actividades antimicrobiana y antiviral de extractos vegetales de algunas especies de la flora de Entre Ríos*

Vivot, Eduardo P.**; Cruañes, María J.**

*In memorian Dr. Juan de Dios Muñoz****

Resumen
Los antecedentes etnobotánicos de plantas presentes en la Provincia de Entre Ríos (Argentina), usadas como antiséptico, facilitaron la selección de algunas de géneros vasculares: *Myrcianthes pungens*, *Myrsine laetevirens*, *Tessaria integrifolia, Acanthospermum australe*, *Arctium minus* y *Polygonum punctatum.* Se ensayaron la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales mediante el test de difusión en medio sólido, contra seis especies bacterianas y dos fúngicas, y la actividad antiviral contra virus F(HSV-1) y cepa Sabin (PV-1). Una fracción del extracto etanólico de *A. minus* mostró actividad contra *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus.* Dos fracciones del extracto diclorometánico de *P. punctatum* exhibieron actividad contra *B. subtilis* y *S. aureus*. El segundo fraccionamiento mostró actividad contra *B. subtilis, Micrococcus luteus* y *S. aureus.* En actividad antifúngica, las dos primeras fracciones fueron activas contra *A. niger* y *C. albicans.* Los resultados preliminares del ensayo antiviral evidencian actividad en algunos extractos de *T. integrifolia.* Los resultados alcanzados auspician la profundización de los estudios.

Palabras claves: Etnobotánica, plantas medicinales, actividad antifúngica, actividad antibacteriana, Entre Ríos

*) Artículo que presenta resultados del PID Nº 2071, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER), Oro Verde (Argentina), financiado por la SICTFRH – UNER, en convenio con la Cátedra de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA (Dras G. Ferraro y V. Martino), Agencia de Promociones Científicas y Tecnológicas de la Argentina, subsidio UBACYT B-101. Recibido en agosto de 2007 y aceptado en octubre de 2008.
**) Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNER, Oro Verde (Argentina). vivot@ciudad.com.ar.
***) Profesor Titular Ordinario de *Botánica Sistemática*, Fac.Cs. Agropecuarias, UNER; integrante del equipo hasta su fallecimiento en febrero de 2007.

Antimicrobial and Antiviral Activities of Extracts from Several Plant Species Present in Entre Ríos*

Vivot, Eduardo P.**; Cruañes, María J.**

*In memorian Dr. Juan de Dios Muñoz****

Abstract
The ethnobotanical background of many plants used as antiseptic present in the Province of Entre Rios (Argentina) facilitated the selection of someones pertaining to the vascular genres *Myrcianthes pungens*, *Myrsine laetevirens*, *Tessaria integrifolia, Acanthospermum australe*, *Arctium minus* y *Polygonum punctatum.* The plant extracts were tested in their antimicrobial activity through the diffusion tests against six bacterial and two fungal species. The antiviral activity against virus F (HSV-1) strain and Sabin (PV-1) was also tested. A fraction of the ethanol extracts of *A. minus* showed activity against *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus.* Two fractions of dichloromethane extracts of *P. punctatum* showed activity against *B. subtilis* and *S. aureus*. In the second division they showed no activity against *B. subtilis*, *Micrococcus luteus* and *S. aureus*. Concerning to antifungal activity, the first two fractions were active against *A. niger* and *C. albicans*. Preliminary results show antiviral activity of *T. integrifolia* extracts. The results achieved justify future studies.

Keywords: Ethnobotany, Medicinal plants, Antifungal activity, Antibacterial activity, Entre Rios

*) This paper presents results of the research project # 2071, Faculty of Agricultural Sciences, Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER), Oro Verde (Argentina), funded by the SICTFRH – UNER, under agreement with the Chair of Farmacognosia, Faculty of Farmacy and Biochemestry, Universidad de Buenos Aires (Dr G. Ferraro & Dr. V. Martino), Agencia de Promociones Científicas y Tecnológicas de la Argentina, UBACYT B-101 Grant; submitted in August 2007; admitted in October 2008.
**) Faculty of Agricultural Sciences, UNER, Oro Verde (Argentina). vivot@ciudad.com.ar.
***) Full Regular Professor, *Systemic Bothany*, Faculty of Agricultural Sciences, UNER; member of the research team until his death in February 2007.

I. Introducción

Las enfermedades que aquejaron a los aborígenes americanos no muestran similitud con las que actualmente sufre el hombre moderno. Mientras en el presente están en auge enfermedades como el cáncer, desórdenes nerviosos de distinto origen, afecciones cardíacas y cerebrovasculares, sumándose a esta situación la aparición de nuevas enfermedades virales de muy difícil tratamiento, las principales afecciones de los aborígenes se centraban en otro tipo de problemas. Adolecían de infecciones derivadas de heridas cortantes, accidentes y mordeduras, problemas de piel, enfermedades genitourinarias, broncorespiratorias, gastrointestinales y bucofaríngeas. Asimismo, los partos constituyeron una de las principales causas de muerte de mujeres y niños debido a infecciones, todo lo cual expresa una etiología netamente bacteriana y viral, por lo cual debieron aprender a defenderse y en algunos casos curarse mediante el acertado uso de las plantas autóctonas.

Aunque las lenguas nativas de la Provincia de Entre Ríos están en gran parte extinguidas, en la cultura popular subsisten conocimientos que es menester rescatar urgentemente por el agravante de la desaparición de la flora nativa ante el avance de la frontera agrícola.

Una de las plantas que alcanzó un enorme arraigo en la cultura popular es *Arctium minus* (Hill.) Berhn., que no falta prácticamente en ninguna de las viejas casas de campo. A pesar de ser una especie adventicia en la Argentina, se adapta perfectamente a nuestros climas. Sus propiedades se consideran las mismas que las de *Arctium lappa* L., por lo cual hay farmacopeas europeas que las aceptan indistintamente (**Arteche García** *et al*, 1998). Su decocción se bebe para aumentar la diuresis en afecciones genitourinarias y como depurativo de fondo en problemas dermatológicos: psoriasis, dermatosis, acné, eczemas, etc. Vulgarmente se la compara con la penicilina, y la raíz especialmente es usada fresca y rallada para curar el acné y la seborrea facial, así como también en tópicos, baños o compresas sobre úlceras varicosas, heridas, lastimaduras, forúnculos, otitis y dermatitis; en infecciones bucofaríngeas se usa en gargarismos. Es considerada también un excelente hipoglucemiante y estimulante de las funciones hepáticas (**Alonso**, 1998; **Arteche García** *et al*. (1998). Se le atribuyen propiedades

antivenéreas (**Lewis y Elvin Lewis,** 1977).

Muy famosas en el saber popular son las especies de *Polygonum*, en especial *Polygonum punctatum* Elliot, por su abundancia en terrenos inundables. Es considerada astringente y diurética. La decocción se bebe como antigripal, para aliviar resfríos, tos y bronquitis (**Stark**, 1981). Aplicada externamente, se usa para problemas de piel, como antisárnico, y en baños de asiento para hemorroides (**Brandão**, 1993; **Martínez Crovetto**, 1964 y 1965; **Marzocca**, 1997). Las hojas aplicadas en cataplasmas alivian tumores (**Berro**, 1899). Para tratar dolores de muelas y de garganta se usa la decocción en gárgaras (**Martínez Crovetto**, 1964 y 1965). El jugo fresco o diluido se aplica para extraer el pus de heridas infectadas (**Stark**, 1981) y para borrar manchas de la piel, que se logra al aplicar el decoctado, con un notable enrojecimiento (información local).

En las playas del Río Uruguay y sus afluentes, es común *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze, que crece de manera aislada en la arena y es de muy fácil extracción. Su infusión o decocción se bebe como depurativo, diurético y antiartrítico. Externamente se usa para tratar heridas ulcerosas y en lavados vaginales contra gonorrea y leucorrea (**González Torres** ,1992). Tiene antecedentes como antimalárico (**Brandão**, 1993).

En épocas en que no se conocían los modernos antibióticos adquirieron reputación algunas especies de *Myrtaceae* nativas de Entre Ríos como substitutas del mirto europeo (**Hieronymus**, 1882), muy ligado a la cultura grecorromana y notablemente estimado por Dioscórides como una notable planta medicinal (**Font Quer**, 1988).

Myrcianthes pungens (O. Berg) D. Legrand se asemeja al mirto. El cocimiento de sus partes aéreas es astringente y antidisentérico en uso interno (**González torres,** 1992). Externamente se aplica en lavados vaginales. Sus hojas, mezcladas con las de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, otra especie de *Myrtaceae* muy abundante en la Mesopotamia argentina, se usa contra flujos o leucorrea (**Berro**, 1899).

Tessaria integrifolia Ruíz & Pav. var. *integrifolia* es un pequeño árbol muy común sobre las costas del río Paraná. Es usado en la construcción de paredes de adobe; asimismo, su decocción es útil como antigonorreico, cicatrizante y resolutivo (**Amat**, 1983).

Myrsine laetevirens (Mez) Arechav. es un árbol de las selvas ribereñas de

los ríos Paraná y Uruguay. La información popular lo registra como una especie cuya decocción se usa en enjuagues bucales contra dolores de muelas y externamente en lavajes para tratar irritaciones y escaldaduras (información local). La resina se usa en fricciones en el tratamiento del reuma, dolores lumbares y fracturas (**González Torres**, 1992).

Ante la necesidad de hallar nuevos fármacos antimicrobianos para combatir enfermedades infecciosas en el hombre, y habida cuenta de antecedentes como los mencionados sobre el uso como antisépticos de plantas existentes en la Provincia de Entre Ríos, que requieren de comprobación científica, se llevó a cabo una investigación sobre seis especies de géneros vasculares: *Myrcianthes pungens*, *Myrsine laetevirens*, *Tessaria integrifolia, Acanthospermum australe*, *Arctium minus* y *Polygonum punctatum.* Los extractos concentrados diclorometánico, metanólico, hidroalcohólico, y las infusiones liofilizadas de las seis especies se ensayaron en su actividad antimicrobiobiana contra seis especies bacterianas y dos fúngicas, y también se ensayaron la actividad antiviral contra virus F(HSV-1) y cepa Sabin (PV-1). Los resultados previos sobre actividad antimicrobiana fueron informados en **Vivot** *et al*. (2007). En este artículo presentaremos la evaluación de las actividades antimicrobiana y antiviral de algunos fraccionamientos de extractos crudos bioactivos.

II. Materiales y métodos

II.1. Herborización de especies

Las muestras de cada especie vegetal fueron debidamente prensadas, secadas, determinadas, envenenadas, etiquetadas, numeradas e incorporadas al Herbario de la Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNER (ERA), registrado en INDEX HERBARIORUM. Los ejemplares de herbario de las nuevas especies en estudio fueron los siguientes:

-En La Jaula, Departamento Diamante, Provincia de Entre Ríos, fue colectada *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand, 19/IV/2002; Muñoz, J. de D. 6561 (ERA).

-En La Jaula, Departamento Diamante, Provincia de Entre Ríos, fue colectada *Myrsine laetevirens* (Mez) Arecha, 19/IV/2002; Muñoz, J. De D. 6562 (ERA).

-En Bajada Grande, ciudad de Paraná, Provincia de Entre Ríos, se colectó *Polygonum punctatum* Elliot, 21/IV/2002; Muñoz, J. De D. 6563 (ERA).

-En La Juanita, Departamento Diamante, Provincia de Entre Ríos, fue colectada *Tessaria integrifolia* Ruiz & Pav. var. integrifolia, 2/V/2002; Muñoz, J. De D. 6564 (ERA).

-En la localidad de Liebig, Departamento Colón, Provincia de Entre Ríos, se colectó *Acanthospermum australe* (Loefl) Kuntze**,** 15/V/2002; Muñoz, J. De D. 6565 (ERA).

-En los alrededores de Villa Elisa, Departamento Colón, Provincia de Entre Ríos, se colectó *Arctium minus* (Hill) Bernh, 26/VI/2002; Muñoz, J. de D. 6566 (ERA).

II.2. Extractos vegetales

Se procesaron porciones de similar peso de material molido y seco de cada una de las especies vegetales coleccionadas, a las que se les efectuaron las extracciones correspondientes.

Extracto etanólico al 70%: el material se extrajo con etanol al 70% en agua, en volumen suficiente para fluidez de la mezcla, durante 24 horas con agitación intermitente, y posterior filtración con buchner al vacío, repitiéndose la extracción por otras 24 hs, filtrándose al vacío y reuniéndose los filtrados.

Infusión acuosa: el material seco y molido se extrajo con agua destilada hervida al 5%, según VI Edición de Farmacopea Argentina, y se filtró al vacío.

Extracto diclorometánico: al material molido y seco, en volumen suficiente para fluidez de la mezcla, se lo extrajo con diclorometano durante 24 hs con agitación intermitente, y posterior filtración con buchner al vacío, repitiéndose dos veces consecutivas la extracción por otras 24 hs, filtrándose al vacío, reuniéndose los filtrados.

Extracto metanólico: el material se extrajo con metanol, en volumen suficiente para fluidez de la mezcla, durante 24 horas con agitación intermitente, y posterior filtración con buchner al vacío, repitiéndose la extracción por otras 24 horas, filtrándose al vacío y reuniéndose los filtrados.

La extracción con los distintos solventes se realizó sobre el material vegetal, comprendiendo las partes aéreas. Todos los filtrados fueron

desolventizados hasta residuo sólido.

II.3. Ensayos Antimicrobianos

Las fracciones activas de los extractos diclorometánico de *Polygonum punctatum* y etanólico de *Arctium minus* se ensayaron contra las bacterias *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Micrococcus luteus, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* y contra los hongos *Candida albicans* y *Aspergillus niger* mediante el test de difusión en medio sólido, por impregnación de 0,25 mg de extracto seco disuelto en 10 mL del correspondiente solvente y aplicado sobre discos de papel de filtro de 5,5 mm de diámetro. Los discos secados a estufa a 37ºC se ubicaron sobre medio de agar solidificado, previamente inoculado con aproximadamente 10^4 CFU/mL, a dos pH finales (6,6 y 7,9). La presencia o ausencia de una zona de absoluta inhibición fue usada como criterio para definir los extractos activos o inactivos.

II.4. Ensayos antivirales

En la línea celular se utilizaron células Vero (ATCC, CCL 81) crecidas en medio Eagle Minimal Essential suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB), glutamina 2 mM, bicarbonato de sodio 2,25 g/L, aminoácidos no esenciales 1 mM, 100 Unidades/mL de penicilina y 100 mg/mL de sulfato de estreptomicina (MC). Se cultivaron a 37 ºC en una atmósfera húmeda con 5 % de CO_2. Los Virus utilizados para los ensayos fueron Virus *Herpes simplex* tipo 1, cepa F (HSV-1) Familia Herpesviridae, y *Poliovirus* tipo 1, cepa Sabin (PV-1) Familia Picornaviridae.

III. Resultados y discusión

III.1. Actividad antimicrobiana

La evaluación de la actividad antimicrobiana de las especies en estudio determinó el fraccionamiento de los extractos correspondientes a las especies *Polygonum punctatum* y *Arctium minus.*

III.1.1. *Polygonum punctatum*

Se efectuó el fraccionamiento del extracto diclorometánico de *Polygonum punctatum* en columna Sephadex LH20 eluyendo sucesivamen-

te con hexano, HEX-DCIM (5:5), DCIM, DCIM-MEOH (9:1), DCIM-MEOH (5:5) y con MEOH, lográndose 56 fracciones; los eluatos se reunieron según los perfiles cromatográficos en nueve fracciones.

Las fracciones 1, 2 y 3, eluidas con hexano, y la fracción 6, eluida con diclorometano, resultaron activas frente a *B. subtilis* y *S. aureus* (**Tabla Nº 1**).

Las fracciones activas 7, 8 y 9 fueron fraccionadas nuevamente en columna de Silicagel 60 eluidas con: DCIM, DCIM- MEOH (9:1), DCIM- MEOH (5:5), DCIM- MEOH (1:9) y MEOH, obteniéndose 60 fracciones que, reagrupadas, constituyeron las fracciones 1', 2', 3' y 4-5', que fueron ensayadas con los resultados que se indican en la **Tabla Nº 2**.

Los resultados muestran actividad de las fracciones 1', 2' y 3' contra *B. subtilis*, y poca actividad la fracción 4-5'. Las fracciones 1' y 2' muestran actividad contra *S. aureus*, y poca actividad la fracción 3'.

El resultado antifúngico muestra que las fracciones 1 y 2 tienen poca actividad contra *C. albicans* y *A. niger.*

Se efectuó el fraccionamiento del extracto metanólico de *P. punctatum,* el cual, una vez concentrado por rotoevaporación, se suspendió en agua y se extrajo sucesivamente con éter, acetato de etilo y diclorometano, quedando el residuo acuoso. Las fracciones fueron ensayadas en las actividades antimicrobiana y antifúngica sin resultados positivos.

III.1.2. *Arctium minus*

El extracto etanólico de *A. minus* fue fraccionado mediante extracción líquido-líquido lográndose las fracciones etérea, de acetato de etilo y residuo acuoso, las que fueron ensayadas con los resultados que se muestran en la **Tabla Nº 3**. Como puede observarse en la misma, la fracción acetato de etilo es activa contra *M. luteus* y *S. aureus*, y tiene muy poca actividad contra *B. subtilis.*

TABLA Nº 1: Actividad antimicrobiana del primer fraccionamiento del extracto diclorometánico de *P. punctatum.*

Microorganismos y fracciones	*Bacillus subtilis* ATCC 6633 CCM-A-10		*Escherichia coli* ATCC 11105 CCM-A-424		*Micrococcus luteus* ATCC 9341 CCM-A- 45		*Listeria monocytogenes* ATCC 15313 CCM-A- 454		*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 CCM-A-39		*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 PCCM-A-305		*Candida albicans* ATCC 10231	*Aspergillus niger* ATCC 16404
	AM 1	AM 11	AM 1	AM 11	AM 1	AM1 1	AM 1	AM11	AM 1	AM 11	AM 1	AM1 1	A. Sab	A. Sab
P. p Fr 1, 2, 3 (HEX.)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+*	-	-
P. p Fr 6 (Cl2CH2)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+*	-	-

(-) sin halo; * muy poca actividad, (+) halo poco nítido, + halo entre 6 y 10 mm; ++ halo entre 10 – 20 mm , +++ halo > 20 mm

TABLA Nº 2: Actividad antimicrobiana del segundo fraccionamiento de los extractos de fracciones activas del extracto DCIM de *P. punctatum.*

Microorganismos y fracciones	*Bacillus subtilis* ATCC 6633 CCM-A-10		*Escherichia coli* ATCC 11105 CCM-A-424		*Micrococcus luteus* ATCC 9341 CCM-A- 45		*Listeria monocytogenes* ATCC 15313 CCM-A- 454		*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 CCM-A-39		*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 PCCM-A-305		*Candida albicans* ATCC 10231	*Aspergillus niger* ATCC 16404
	AM 1	AM 11	AM 1	AM 11	AM 1	AM1 1	AM 1	AM11	AM 1	AM 11	AM 1	AM1 1	A. Sab	A. Sab
P. p Fr 1' (Cl_2CH_2)	+	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	+	+*	+*	+*
P. p Fr 2' (Cl_2CH_2)	+	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	+	+*	+*	+*
P. p Fr 3' Cl_2CH_2)	+	+	-	-	+*	-	-	-	-	-	+*	+*	-	-
P. p Fr 4/5' (Cl_2CH_2)	+*	+*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) sin halo; * muy poca actividad, (+) halo poco nítido, + halo entre 6 y 10 mm; ++ halo entre 10 – 20 mm , +++ halo > 20 mm

TABLA Nº 3: Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *A. minus.*

Microorganismos y fracciones	*Bacillus subtilis* ATCC 6633 CCM-A-10		*Escherichia coli* ATCC 11105 CCM-A-424		*Micrococcus luteus* ATCC 9341 CCM-A- 45		*Listeria monocytogenes* ATCC 15313 CCM-A- 454		*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 CCM-A-39		*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 PCCM-A-305		*Candida albicans* ATCC 10231	*Aspergillus niger* ATCC 16404
	AM 1	AM 11	AM 1	AM 11	AM 1	AM1 1	AM 1	AM11	AM 1	AM 11	AM 1	AM1 1	A. Sab	A. Sab
A. minus Fr Etérea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. minus Ac. Et.	+*	+*	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-	-
A. minus H_2O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) sin halo; * muy poca actividad, (+) halo poco nítido, + halo entre 6 y 10 mm; ++ halo entre 10 – 20 mm , +++ halo > 20 mm

III.2. Actividad Antiviral

Los extractos concentrados diclorometánico, metanólico, hidroalcohólico, y las infusiones liofilizadas de las especies *M. laetevirens, A. minus, M. pungens, A. australe* se ensayaron para determinar su posible actividad contra (PV-1) y (HSV-1), determinándose la Máxima Concentración No Citotóxica (MCNC) como la mayor concentración del extracto que no produce efecto tóxico en las células Vero.

Los resultados muestran que estos extractos tienen baja MCNC o no tienen actividad a concentraciones menores a MCNC, que varían entre 12,5 y 250 mg/mL.

Los ensayos de la actividad antiviral de los extractos de *T. integrifolia* mostraron los resultados preliminares de la actividad en los extractos etanólico 70% y metanólico a MCNC de 500 mg/ mL, lo que brinda posibilidades de encontrar compuestos activos contra HSV –1 y PV-1.

IV. Conclusiones

De las especies ensayadas, las partes aéreas *P. punctatum* son las que mostraron mayor actividad antimicrobiana en varias de las fracciones del extracto diclorometánico.

Por otro lado, los extractos de *A. minus* evidencian actividad antibacteriana, no así antifúngica ni antiviral.

En la evaluación de la actividad antiviral, los extractos de la especie *T. integrifolia* muestran resultados positivos anti HSV-1 y anti PV-1 a MCNC de 500 mg/ mL.

Los resultados encontrados en las especies vegetales evaluadas en las distintas actividades ensayadas sustentan las bases y validan los usos tradicionales como desinfectantes o antisépticos, auspiciando la profundización de los estudios en busca de los compuestos responsables de las bioactividades.

Agradecimiento

Agradecemos la colaboración de la Dra. Lucía Cavallaro, docente de la Cátedra de *Virologia* de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

Referencias bibliográficas

ALONSO,J.R. (1998).**Tratado de Fitomedicina.** Buenos Aires: ISIS Ediciones.

AMAT, A.G. (1983). Taxones de Compuestas Bonaerensis. Críticas para la Investigación Farmacológica, en: **Acta Farmacéutica Bonaerense** 2 (1): 23-36.

ARTECHE GARCÍA, A. *et al*. (1998). **Fitoterapia**. Barcelona: Edit. Masson.

BRANDÃO, M. (1993). Plantas Daninhas. Novo Enfoque: Comestiveis e Medicinais, en: **Ciencia das Plantas Daninhas** 1 (2): 3-10.

BERRO, M.B. (1899). La Vegetación Uruguaya. En: Arechavaleta, J. (dir). **Anales del Museo Nacional de Montevideo,** Tomo II, fasc. 11. Montevideo, Tallares Gráficos A. Barreiro y Ramos.

FONT QUER, P. (1998). **Plantas Medicinales**. Barcelona: Labor.

GONZÁLEZ TORRES, D.M. (1992). **Catálogo de Plantas Medicinales Usadas en Paraguay**. Asunción: Servilibro.

HIERONYMUS, J. (1882). **Plantas Diafóricas de la Flora Argentina**. Buenos Aires: Atlántida.

LEWIS, W.H.; ELVIN LEWIS, P.F. (1977). **Medical Botany**. New York: John Wiley & Sons.

MARTÍNEZ CROVETTO, R. N. (1964). Estudios Etnobotánicos I. Nombres de Plantas y su Utilidad según los Indios Vilelas del Chaco, en: **Bonplandia** 2 (1): 123.

MARTÍNEZ CROVETTO, R. N. (1965). Estudios Etnobotánicos II. Nombres de Plantas y su Utilidad según los Indios Tobas del Este. **Bonplandia** 1 (4): 279-333.

MARZOCCA, A. (1997). **Vademécum de Malezas Medicinales de la Argentina. Indígenas y Exóticas**. Buenos Aires: Hemisferio Sur.

STARK, R. (1981). **El libro de los afrodisíacos.** Barcelona: Martínez Roca.

VIVOT, E.; MASSA, R.; CRUAÑES, MARIA J.; MUÑOZ, J.DE D.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. (2007). Actividad Antimicrobiana In Vitro de Seis Especies Autóctonas de la Flora de Entre Ríos (Argentina), en: **Lat.Am. J. Pharm**. **26** (4):563-566.