

Caracterización fitoquímica y actividad antioxidante de las especies *Sapium haematospermum* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) y *Baillonia amabilis* Bocq. (Verbenaceae)

Ariadna Soledad Soro¹, Gabriela Malena Valenzuela^{1*}, María Beatriz Nuñez²

1. Laboratorio de Química Analítica y de Toxicología. Universidad Nacional del Chaco Austral.
 2. Laboratorio de Farmacotecnia y Productos Naturales. Universidad Nacional del Chaco Austral.
- * Autor a quien dirigir la correspondencia: gabriela@uncaus.edu.ar

Resumen

Las especies estudiadas en este trabajo fueron *Sapium haematospermum* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) y *Baillonia amabilis* Bocq. (Verbenaceae), las cuales crecen en cercanías de los ríos Paraná y Paraguay. Estas especies se encuentran formando parte de los árboles cultivados en jardines y veredas de las zonas urbanas de la provincia del Chaco y se emplean en medicina popular. Los objetivos del trabajo fueron determinar aspectos farmacognósticos y principales grupos de metabolitos de las especies *Baillonia amabilis* y *Sapium haematospermum*, y evaluar la capacidad antioxidante de sus extractos. Los ensayos farmacognósticos se hicieron según Farmacopea Argentina, Séptima Edición. La detección de grupos de metabolitos secundarios se hizo a partir de un extracto etanólico de cada especie o sus fracciones, mediante reacciones colorimétricas y cromatografía en capa fina. El contenido de fenoles totales se determinó por un método colorimétrico con el reactivo Folin-Ciocalteu y el contenido de flavonoides totales por el método de complejación con nitrato de aluminio. La actividad antioxidante se ensayó con los radicales DPPH^o y ABTS^{o+}. Los ensayos fitoquímicos permitieron detectar metabolitos secundarios en la fracción A (con etanol: flavonoides, taninos) y fracción B (con cloroformo y ácido: esteroides y triterpenos) de ambas especies. El contenido de fenoles totales fue mayor para las tinturas que para infusión y decocción, en tintura de *Sapium haematospermum* el valor fue $627,71 \pm 1,45$ mg EAG/g muestra y en tintura de *Baillonia amabilis* fue $771,81 \pm 50,16$ mg EAG/g muestra. Las tinturas también presentaron mayor contenido de flavonoides y actividad antioxidante que las infusiones y decocciones en ambas especies. Para ambas especies se determinaron metabolitos secundarios como fenoles, taninos, flavonoides, esteroides y cardenólidos. Las tinturas mostraron mayor contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. Estos resultados aportan conocimiento científico para estas especies de uso popular en el Chaco.

Phytochemical characterization and antioxidant activity of the *Sapium haematospermum* Müll. Arg. y *Baillonia amabilis* Bocq.

Summary

The species studied were *Sapium haematospermum* Müll. Arg., (Euphorbiaceae) and *Baillonia amabilis* Bocq. (Verbenaceae), which grow in the vicinity of the Paraná and Paraguay rivers. These species are part of the trees grown in gardens and sidewalks in urban areas of Chaco province and are used in folk medicine. The aims were to determine pharmacognostic aspects and the main groups of metabolites of *Baillonia amabilis* and *Sapium haematospermum* and to evaluate the antioxidant capacity of their extracts. The pharmacognostic tests were done according to Argentine Pharmacopoeia 7th Edition. The detection of groups of metabolites was in ethanolic extract of each species or its fractions, by colorimetric reactions and thin layer chromatography. The total phenols content was determined by a colorimetric method and Folin-Ciocalteu reagent, while the total flavonoid content by the complexation method with aluminum nitrate. The antioxidant activity was tested with DPPH^o and ABTS^{o+} radicals. The phytochemical tests allowed the detection of secondary metabolites in fraction A (with ethanol: flavonoids and tannins) and fraction B (with chloroform and acid: steroids and triterpenes) of both species. The total phenols content was higher in tincture than in infusion and decoction. The value in *Sapium haematospermum* tincture was 627.71 ± 1.45 mg EAG/g sample, and for *Baillonia amabilis* tincture it was 771.81 ± 50.16 mg EAG/g sample. Also, the tinctures presented higher content of flavonoids and antioxidant activity than the infusions and decoctions of each species. For both species, secondary metabolites such as phenols, tannins, flavonoids, steroids and cardenolides were determined. The tinctures showed higher polyphenols content and antioxidant capacity. These results provide scientific knowledge for these species with popular use in the Chaco.

Palabras clave: polifenoles - radicales libres - extractos vegetales.

Key words: polyphenols - free radicals - plant extracts.

Introducción

La flora de la provincia del Chaco se distribuye en tres regiones naturales: el Chaco oriental o húmedo, el Chaco central o de transición y el Chaco occidental o seco (Alberto, 2006). Las especies estudiadas en este trabajo fueron *Sapium haematospermum* Müll. Arg. (familia Euphorbiaceae, nombres populares: “curupí” o “lecherón”) y *Baillonia amabilis* Bocq. (familia Verbenaceae; nombres populares: “baillonia”, o “sarà”), las cuales crecen en cercanías de los ríos Paraná y Paraguay (Alberto, 2006; Pérez de Molas, 2016) que corresponde a la región húmeda. En la actualidad estas especies se encuentran formando parte de los árboles cultivados en jardines y veredas de las zonas urbanas de la provincia, donde *Baillonia amabilis* se conoce como “sarandí”, y ambas especies son empleadas en la medicina popular. En nuestra zona la población utiliza infusiones de “curupí” para “bajar el colesterol y para dolores reumáticos” y de “sarandí” para “controlar la diabetes”.

La familia Euphorbiaceae es más abundante en regiones tropicales de Sudamérica y África. Para Argentina se han citado 29 géneros y 216 especies pertenecientes a esta familia; de las cuales, unos 20 géneros son indígenas de Salta y 12 se localizaron en el valle de Lerma (Novara, 2013). *Sapium haematospermum* es un árbol laticífero propio de las regiones subtropicales de América del Sur. Puede llegar a medir 10 metros de altura y posee corteza lisa y clara y hojas pecioladas. Su fruto es una cápsula piriforme que se abre dejando a la vista tres semillas de color rojo. Es muy frecuente en lugares húmedos y forma parte de las selvas en galería de la Argentina. El látex posee proteasas y es empleado en la medicina popular contra el dolor de muelas (Matínez, 2010; Mandón y col., 2016; Agudelo y col. 2017). Por otro lado, la decocción de las hojas se utiliza para bajar la fiebre y combatir los dolores reumáticos, mientras que su corteza se emplea en cataplasmas para cicatrizar heridas (Pensiero y col., 2004) y como antiparasitario de la piel (Suárez y Mereles, 2006).

La familia Verbenaceae tiene distribución cosmopolita, está principalmente en las regiones tropicales a templadas del hemisferio sur, y en Argentina se han registrado 26 géneros y unas 180 especies (Múlgura de Romero y col., 2012). La especie *Baillonia amabilis* pertenece a un género monotípico en la familia en la cual está incluida. Se trata de un arbusto aculeado, con hojas opuestas y a veces alternas en ramas jóvenes. Presenta inflorescencias en racimos, multifloros y frutos drupáceos (Pérez de Molas, 2016). De esta especie no se ha encontrado reportes científicos sobre su composición fitoquímica.

Los objetivos de este trabajo fueron caracterizar aspectos farmacognósticos y los principales grupos de metabolitos secundarios de las especies *Sapium haematospermum* y *Baillonia amabilis*, y evaluar la capacidad antioxidante de sus extractos.

Materiales

Las partes aéreas (hojas y tallos delgados) de las especies vegetales se recolectaron durante los meses de marzo, noviembre y diciembre, en la ciudad de Presidencia Roque Sáenz Peña, provincia del Chaco. La localización por coordenadas para el ejemplar de *Sapium haematospermum* fue (sur) 26° 46' 22,6" (oeste) 60° 25' 46,6" y para *Baillonia amabilis* fue (sur) 26° 78' 93,5" (oeste) 60° 43' 87,5".

Los reactivos de calidad analítica fueron: reactivo Folin-Ciocalteu (Fluka), radical DPPH (Aldrich) y radical ABTS (Sigma), nitrato de aluminio (Cicarelli) y acetato de sodio (Cicarelli). Los solventes de la fase móvil fueron de calidad analítica (Biopack) y cromatofolios de aluminio sílica gel 60, 20 x 20 cm (Merck).

Parte experimental/Métodos

Reconocimiento de las especies vegetales en estudio

El material vegetal se herborizó y un ejemplar de la parte aérea completo se envió al Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE). La especie *Sapium haematospermum* se identificó con el código CTES0060491 y la especie *Baillonia amabilis* con el código CTES0060492.

Preparación de los extractos acuosos e hidroalcohólicos

Para los ensayos experimentales, el material vegetal se secó a la sombra y a temperatura ambiente durante 7 días. Luego, el material se pulverizó y tamizó hasta lograr un polvo moderadamente grueso. El material en polvo se extrajo con agua destilada a ebullición (para infusión y decocción al 5 % p/v) y etanol 70° a temperatura ambiente (para tintura al 20 % p/v), según Farmacopea Argentina - Séptima edición (FA 7), volumen IV (2014).

Caracterización fitoquímica

Los ensayos histoquímicos (detección de almidón, lípidos y aceite esencial, cristolitos y cristales de oxalato de calcio, y taninos) y los ensayos farmacognósticos (cenizas totales e insolubles en ácidos y pérdida por secado) se realizaron según FA 7, usando el polvo vegetal de ambas especies.

En el tamizaje fitoquímico se consideró la marcha sistemática de Rondina y Coussio (1969) descripta por Ardoino y col. (2013), partiendo del polvo de cada planta que se extrajo con etanol 96° y se filtró (fracción A). Un tercio de ese filtrado se secó y se redisolvió con tres porciones de ácido clorhídrico al 1 % y se filtró. Al marco se le agregó cloroformo y su filtrado posterior se envasó (fracción B). Al filtrado ácido anterior se lo alcalinizó con amoníaco y se controló el medio con papel de tornasol, luego se extrajo con cloroformo. Esta fracción se concentró y se

recuperó el volumen con solución de ácido clorhídrico al 1 % (fracción C). El extracto inicial se seca y recupera con ácido clorhídrico al 1 % y se neutraliza, dando la fracción acuosa (fracción D).

La fracción A se usó para investigar flavonoides (reacción de Shinoda), fenoles/taninos (reacción con cloruro férrico y reacción con gelatina), lípidos (vapores de yodo), hidratos de carbono (reacción con fenol y ácido sulfúrico). La fracción B se empleó para investigar esteroides y triterpenos (prueba de Liebermann-Burchard), antraquinonas (reacción de Bornträger). En la fracción C se investigó alcaloides (reacción de Dragendorff directa), cardenólidos (reacción de Kedde), esteroides (prueba de Liebermann-Burchard), y leucoantocianinas (reacción de Rosenheim). La fracción D se usó para determinar compuestos fenólicos (reacción de cloruro férrico) y péptidos/proteínas (reacción de Biuret).

También se realizó una reacción directa para reconocer presencia de saponinas. Se usó el polvo vegetal (1 g) y 15 ml de agua destilada, se calentó a baño maría durante 15 minutos. Un mililitro se colocó en un tubo de hemólisis y se agitó durante 15 segundos. Luego se observó si forma espuma y si permanece a los 5 y 15 minutos (poder afrógeno).

Caracterización de flavonoides por cromatografía en capa fina

El reconocimiento de flavonoides se realizó con muestras de tinturas, infusiones y decocciones de ambas especies mediante cromatografía en capa fina usando dos fases móviles: 1) tolueno-ácido acético-acetato de etilo (36:5:12), y 2) acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100:11:11:27). Las placas desarrolladas se observaron con luz UV a 254 nm y 366 nm, siendo revelados con el reactivo NP/PEG (*natural product* y polietilenglicol) y como testigos se usaron soluciones de quercetina, apigenina, luteolina, ácido gálico y rutina (1 mg/ml).

Cuantificación del contenido de fenoles totales y de flavonoides totales

Los ensayos de cuantificación de polifenoles se realizaron con las muestras de tinturas, infusiones y decocciones de ambas especies. La determinación de fenoles se hizo por el método de Singleton y col. (1999) con el reactivo Folin-Ciocalteu y de flavonoides por el método de Lock y col. (2006) por complejación con nitrato de aluminio. El contenido de fenoles totales se expresó como miligramos equivalente de ácido gálico por gramo de material vegetal (mg EAG/g), y el contenido de flavonoides totales como miligramos equivalente de quercetina por gramo de material vegetal (mg EQ/g). Los ensayos se realizaron por triplicado.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se ensayó según el método de Brand-Williams y col. (1995) con el radical DPPH° y según el método de Re y col. (1999) con el radical catión ABTS°. Ambos ensayos se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de material vegetal (μM Trolox/g). Los ensayos se realizaron por triplicado.

Resultados y Discusión

Caracterización fitoquímica de ambas especies

Las reacciones histoquímicas permitieron comprobar la presencia de lípidos y de taninos en ambas especies, ausencia de almidón y carbonato de calcio.

En los ensayos farmacognósticos sobre el material vegetal se determinó para *Sapium haematospermum* 14,1 % de pérdida por secado, 9,55 % de cenizas totales y 1,75 % de cenizas insolubles; para *Baillonia amabilis* se determinó 13 % de pérdida por secado, 5,9 % de cenizas totales y 0,55 % de cenizas insolubles.

Los valores obtenidos en las pruebas de humedad residual están dentro de los valores considerados aceptables para la conservación de material vegetal. En cuanto a los valores obtenidos de cenizas totales son de interés para la caracterización de cada especie y no hay información reportada para estas plantas. *Sapium haematospermum* puede compararse con los valores presentados por Ocampos y col. (2013) para *Sapium glandulosum*, donde obtuvieron 7,55 % de cenizas totales, siendo mayor para la especie de este estudio.

Los ensayos fitoquímicos permitieron reconocer metabolitos secundarios (Tabla 1). En ambas especies se halló en la fracción A (con etanol): flavonoides, fenoles y taninos. En la fracción B (con cloroformo y ácido): se reconoció a esteroides con una coloración azul-verdoso y en la fracción C (con cloroformo neutro) se reiteró el reconocimiento de esteroides. En la fracción D (acuosa) se reconoció la presencia de fenoles. La presencia de fenoles en la fracción A y en la fracción D presentaron coloración verde grisácea, lo que sería indicio de grupos 2-OH adyacentes en ambas especies. En la reacción directa se determinó ausencia de saponinas con el polvo vegetal de cada especie.

La presencia de cardenólidos se determinó en la fracción clorofórmica de ambas especies observando en el papel la aparición de coloración púrpura o violeta persistente. También se realizó un ensayo complementario (reacción de Baljet) y en ambas especies la prueba fue positiva observando una coloración anaranjado rojiza y se usó como testigo solución de digitalina.

En el reporte de Ocampos y col. (2013) para *S. glandulosum* señalan presencia de flavonoides en el extracto etanólico y

Tabla 1. - Metabolitos secundarios detectados en las fracciones extraídas

Fracción	Metabolitos	Especies	
		SH	BA
A	Flavonoides	++	++
	Fenoles	+	+
	Taninos	+	+
	Lípidos	+	+
	Hidratos de Carbono	+	+
B	Esteroides y triterpenos	+	+
	Antraquinonas	-	-
C	Alcaloides	-	-
	Cardenólidos	+	+
	Esteroides y triterpenos	-	-
	Leucoanticianinos	-	-
D	Fenol	+	+
	Péptidos/proesteínas	+	+

++ : Reacción visible intensa; + : Reacción visible; - : Reacción no observada.

taninos en el extracto acuoso, ambos reconocidos en *S. haematospermum*.

En el reporte de Usman y col. (2017) para la especie *Clerodendrum capitatum* (Wild.) Schum. & Thonn. (Verbenaceae), se describe la presencia de flavonoides, glucósidos cardíacos, terpenos, esteroides y taninos. Estos componentes, excepto los glucósidos cardiotónicos, fueron revelados para *Baillonia amabilis* que pertenece a la misma familia. Esa especie tiene reportes de potentes actividades antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante, entre otras.

Caracterización de flavonoides por cromatografía en capa fina

La cromatografía desarrollada con la fase móvil 1 se presenta en la figura 1. Para la tintura de *S. haematospermum* se observó una banda azul (Rf 0,15) que coincide con el

testigo ácido gálico (Rf 0,17), la banda amarilla (Rf 0,33) coincide con el testigo rutina (Rf 0,33), la banda celeste (Rf 0,35) no pudo identificarse y una banda celeste (Rf 0,4) coincide con la del testigo apigenina (Rf 0,41). En la decocción de la misma especie se halló una banda celeste (Rf: 0,35) que no pudo ser identificada. Para la tintura de *Baillonia amabilis* se observó una banda azul celeste de (Rf 0,15) coincidente con la del testigo de ácido gálico, y dos bandas celestes (Rf 0,23 y Rf 0,32) de las cuales no se logró su identificación.

La cromatografía que se desarrolló con fase móvil 2 se presenta en la figura 2. La infusión, decocción y tintura de *S. haematospermum* presentó una banda anaranjada (Rf 0,4) que coincide con el testigo rutina (Rf 0,42), para la infusión y decocción se observó una banda color celeste verdoso (Rf 0,7) no identificada. En la infusión, decocción y tintura se halló una banda azul (Rf 0,9) que coincide con la del testigo ácido gálico (Rf 0,9). Para la decocción y tintura de *Baillonia amabilis* se observó una banda anaranjada (Rf 0,43 y Rf 0,44, respectivamente) que coincide con la del testigo rutina (Rf 0,42), en la infusión y decocción se halló una banda celeste (Rf 0,48) no identificada. En la infusión y tintura de esta especie se encontró una banda celeste verdoso (Rf 0,57 y Rf 0,59) no identificada, y para decocción y tintura se halló una banda celeste verdoso (Rf 0,65 y Rf 0,67) que no pudo identificarse con los testigos.

Contenido de fenoles totales y flavonoides totales

Las tinturas en etanol de 70° de ambas especies presentaron mayor contenido de fenoles totales y de flavonoides totales, esto se define al compararse con los valores hallados para la infusión y decocción de cada especie. Los valores de fenoles totales y de flavonoides totales para *S. haematospermum* y para *B. amabilis* se presentan en la tabla 2.

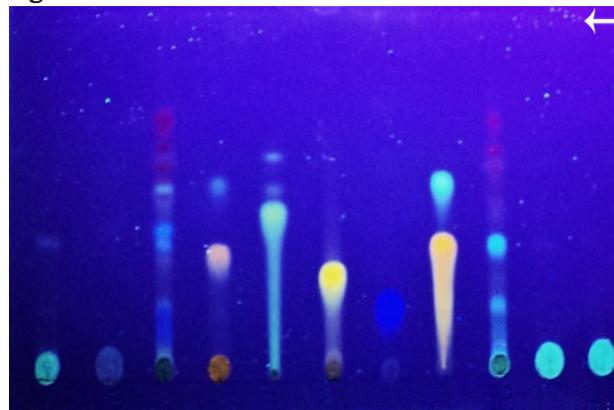
Actividad antioxidante

Las tinturas de ambas especies presentaron mayor capacidad

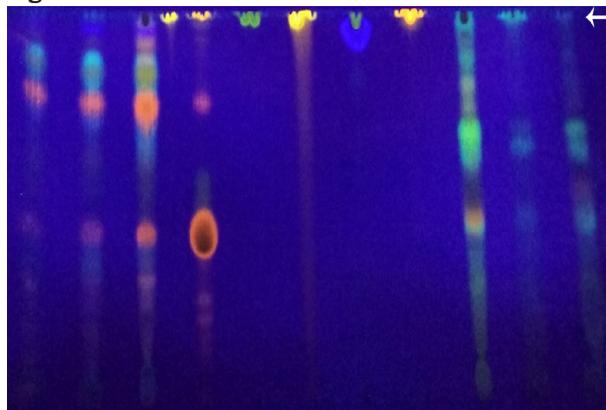
Tabla 2. - Cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante

Muestras	Fenoles Totales (mg EAG/g)	Flavonoides Totales (mg EQ/g)	Actividad Antioxidante μM Trolox /g muestra	
			DPPH°	ABTS ^{••}
Tintura de <i>S. haematospermum</i>	627,70 ± 1,45	12,20 ± 0,11	1.906,6 ± 3,4	11.444,7 ± 0,8
Decocción de <i>S. haematospermum</i>	557,00 ± 0,91	3,40 ± 0,27	1.102,8 ± 2,4	3.363,7 ± 0,6
Infusión de <i>S. haematospermum</i>	215,20 ± 0,28	7,71 ± 0,34	824,7 ± 1,6	3.359,8 ± 0,9
Tintura de <i>B. amabilis</i>	771,81 ± 50,16	12,6 ± 1,1	670,8 ± 2,1	7.768,1 ± 1,8
Decocción de <i>B. amabilis</i>	314,01 ± 38,48	2,20 ± 0,01	438,3 ± 1,2	3.002,2 ± 0,3
Infusión de <i>B. amabilis</i>	240,23 ± 38,48	2,5 ± 0,2	295,5 ± 0,9	3.319,0 ± 0,3

Resultados expresados como promedio y su desviación estándar ($X \pm d.s.$) de tres réplicas (n = 3).

Figura 1.- Caracterización de flavonoides fase móvil 1

DS IS TS R A L AG Q TB IB DB
DS: decocción *Sapium haematospermum*; **IS:** infusión *Sapium haematospermum*; **TS:** tintura *Sapium haematospermum*; **R:** rutina; **A:** apigenina; **L:** luteolina; **AG:** ácido gálico; **Q:** quercetina; **TB:** tintura *Baillonia amabilis*; **IB:** infusión *Baillonia amabilis*; **DB:** decocción *Baillonia amabilis*; la flecha indica el frente de corrida.

Figura 2.- Caracterización de flavonoides fase móvil 2

DS IS TS R A L AG Q TB IB DB
DS: decocción *Sapium haematospermum*; **IS:** infusión *Sapium haematospermum*; **TS:** tintura *Sapium haematospermum*; **R:** rutina; **A:** apigenina; **L:** luteolina; **AG:** ácido gálico; **Q:** quercetina; **TB:** tintura *Baillonia amabilis*; **IB:** infusión *Baillonia amabilis*; **DB:** decocción *Baillonia amabilis*; la flecha indica el frente de corrida.

atrapadora de radicales libres que los extractos acuosos, lo que indicaría diferencias en los componentes extraídos según el solvente usado en la separación. Los valores se presentaron en la tabla 2.

También se observó que a mayor concentración de compuestos fenólicos como en el extracto etanólico de *Baillonia amabilis*, hubo mayor capacidad para inhibir a los radicales DPPH^o y ABTS⁺.

Se encontró que los extractos y componentes aislados de varias especies del género *Sapium* fueron reportados por sus promisorias actividades biológicas como actividad antioxidante, antimicrobiana y efecto citotóxico (Al Muqarrabun y col., 2014; Andrade y col., 2017). Sin embargo, no se encontró reportes sobre actividad antioxidante de las especies de este estudio.

Conclusiones

Para ambas especies se determinó en la fracción etanólica fenoles, flavonoides y taninos, y en la fracción clorofórmica esteroides y cardenólidos. Las tinturas mostraron mayor contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. Esto aporta conocimiento científico para las especies y *Sapium haematospermum* y *Baillonia amabilis* que presentan uso popular en la provincia del Chaco.

Referencias bibliográficas

- Agudelo, I.; Wagner, M.; Ricco, R. (2017). Variación en el contenido de clorofilas, carotenos y antocianos en agallas inducidas por *Neolithus* spp. (Hemiptera: Psyllidae) sobre *Sapium haematospermum* (Euphorbiaceae). *Lilloa*, 54(2): 1-10.
- Al Muqarrabun, L.M.R.; Ahmat, N.; Ruzaina, S.; Aris, S. (2014).

A review of the medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Sapium*. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1): 9-20 [en línea] doi: 10.1016/j.jep.2014.05.028

Alberto J.A. (2006). *El Chaco Oriental y sus fisonomías vegetales*. Instituto de Geografía (IGUNNE). Facultad de Humanidades. UNNE, 5(4):1-9 [en línea] URL: <http://hum.unne.edu.ar/revistas/geoweb/Ge05/contenid/acorien1.htm>

Andrade, E.A.; Gaspardo Folquittob, F.; Camargo Luzc, L.E.; Paludod, K.S.; Faragob, P.V.; Manfron Budelb, J. (2017). Anatomy and histochemistry of leaves and stems of *Sapium glandulosum*. *Rev. bras. farmacogn.* 27(3): 282-289 [en línea] <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjpp.2017.01.001>.

Ardoino, S.M.; Boeris, M.A.; Toso, R.E. (2013). Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica. *Revista Ciencias Veterinarias*, 15(1): 115-125.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm-Wiss. u.-Technol.*, 28: 25-30 [en línea] [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Farmacopea Argentina, 7ª Edición compilada (2014), Volumen IV, p. 239. Ministerio de Salud de la Nación; Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos; ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) e INAME (Instituto Nacional de Medicamentos). Buenos Aires, Argentina [en línea] <https://www.argentina.gob.ar/farmacopea-argentina/libro-farmacopea-argentina-7a-ed>.

Lock, O.; Cabello, I.; Doroteo, V. H. (2006). Práctica VI. Análisis de flavonoides en plantas [en línea] https://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-6.pdf

Mandón, E.; Bettucci, G.; Di Sapio, O.; Cortadi A. (2016). Morfoanatomía de *Sapium haematospermum* Müll. Arg. (Hippomaneae-Euphorbiaceae) y análisis fitoquímico de su látex; utilizado en medicina popular. *Dominguezia* 32(2): 79-80 [en línea] <http://www.dominguezia.org/volumen/articulos/3226.pdf>

- Martínez G.J. (2010) Los remedios naturales en la prevención y cuidado de la salud oral de los tobas del Chaco Central (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(2): 109-122 [en línea] <http://www.redalyc.org/html/856/85612475006/>
- Múlgura de Romero, M.E.; Rotman A. D.; Atkins, S. (2012). Verbenaceae Adans. In: *Flora Argentina*, [en línea] <http://www.floraargentina.edu.ar/publicaciones/VERBENACEAE.pdf>.
- Novara, L.J. (2013) Euphorbiaceae Juss. Herbario MCNS. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. *Flora del valle de Lerma*, 11 (8): 1-188.
- Ocampos, F.M.M.; Miguel, O.G.; de Oliveira, D.M.S. (2013). Quality control parameters of *Sapium glandulosum* (L.) Morong (Euphorbiaceae): Loss on dryng, total ash and phytochemical screening. *Visão Acadêmica*, 14(2), [en línea] <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v14i2.31012>
- Pensiero, J.; Muñoz, J.D.; Martínez, V. (2004). Alternativas de sustentabilidad del bosque nativo del Espinal. Área Etnobotánica. Proyecto Bosques Nativos y Áreas Protegidas. Argentina. Banco Mundial - N° 4085-AR, [en línea] <https://edoc.site/etnobotanica-pdf-free.html>
- Pérez de Molas, L.F. (2016). *Manual de Familias y Géneros de árboles del Paraguay*. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. San Lorenzo, Paraguay, [en línea] <http://archivo.seam.gov.py/sites/default/files/2020Manual%20de%20familias%20y%20g%C3%A9neros%20IFN%202016.pdf>
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1999) *Free Radic. Biol. Med.* (9-10): 1231-7, [en línea] [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rondina, R.; Coussio, J. (1969). Estudio Fitoquímico de Plantas Medicinales Argentinas. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, Serie 2, 6(33): 351-366.
- Singleton, V.L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R.M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178, [en línea] [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Suárez M., M.O.; Mereles H., M.F. (2006). Los árboles medicinales utilizados en la comunidad de Paso Jovál, Departamento de Guairá, Paraguay. *Rojasiana* 7(2): 91-115, [en línea] [http://www.qui.una.py/files/publicaciones/rojasiana/Vol%207%20\(2\)%202006/6_Los%20arboles%20medicinales.pdf](http://www.qui.una.py/files/publicaciones/rojasiana/Vol%207%20(2)%202006/6_Los%20arboles%20medicinales.pdf)
- Usman, H.; Iliya, V.; Suyi H., E.; Umar, H.A. (2017). Comparative phytochemistry and *in vitro* antimicrobial effectiveness of the leaf extracts of *Clerodendrum capitatum* (Verbenaceae) and *Ficus glumosa* (Moraceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6): 945-948.