

Evaluación preliminar de la fitoquímica, actividad antibacteriana y toxicidad *in vitro* de *Lantana camara* L. (Verbenaceae)

María I. Aguado¹, Carola A. Torres^{1,2}, Carlos A. Vonka¹, María B. Nuñez^{1,2*}

¹ Departamento de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional del Chaco Austral.

² Instituto de Investigaciones en Procesos Tecnológicos Avanzados (INIPTA), Universidad Nacional del Chaco Austral. Comandante Fernández 755, 3700 Presidencia Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: mbnunez@uncaus.edu.ar

Resumen

Lantana camara Linn. (Verbenaceae) es nativa de América tropical y subtropical y naturalizada como especie invasiva en otras áreas de América, Asia, Australia, África, Caribe e islas del Pacífico y Nueva Zelanda. En la Argentina se la encuentra en al menos 11 provincias, y se emplea como digestiva, carminativa, febrífuga, diurética, analgésica, antitusiva y en baños contra el reumatismo. En la Argentina y algunos países limítrofes se informa toxicidad para el ganado bovino. Los objetivos de este trabajo son reportar los metabolitos secundarios hallados en el tamizaje fitoquímico, la toxicidad (aguda *in vitro* y genotoxicidad) y actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de esta planta. Se investigaron metabolitos secundarios mediante reacciones colorimétricas, cromatografía en capa delgada, cromatografía en papel y espectrofotometría. El contenido de fenoles totales y flavonoides totales se determinó por los métodos colorimétrico (con el reactivo Folin-Ciocalteu) y de complejación (con cloruro de aluminio), respectivamente. Además, se analizaron la toxicidad aguda *in vitro* (test de *Artemia salina*), la genotoxicidad (test de Ames) y la actividad antimicrobiana. Los resultados revelaron la presencia de flavonoides, polifenoles, polisacáridos, proteínas, taninos, triterpenos/esteroides y saponósidos. El contenido de fenoles totales fue $3,04 \pm 6.10^{-2}$ mg EAG/ml extracto y el de flavonoides $0,82 \pm 4.10^{-2}$ mg EQ/ml extracto. La concentración letal media superior a 1000 µg/ml extracto y el índice mutagénico menor a 2, permitirían inferir que este extracto sería prácticamente no tóxico. La actividad frente a bacterias Gram positivas, principalmente del género *Staphylococcus*, resultaría promisoriosa (CIM = 125-500 µg/ml). Los resultados del trabajo contribuyen a ampliar el conocimiento científico de la especie en la Argentina, siendo necesarios estudios de mayor complejidad para acrecentar su caracterización química.

Preliminary evaluation of the phytochemistry, antibacterial activity and toxicity *in vitro* of *Lantana camara* L. (Verbenaceae)

Summary

Lantana camara Linn. (Verbenaceae) is native to tropical and subtropical America and naturalized as an invasive species in other areas of America, Asia, Australia, Africa, Caribbean and Pacific Islands, and New Zealand. In Argentina, it is found in at least 11 provinces and is used as a digestive, carminative, febrifuge, diuretic, analgesic, antitussive, and in baths against rheumatism. In Argentina and some neighboring countries, toxicity to cattle is reported. The aims of this work are to report the secondary metabolites found in the phytochemical screening, the toxicity (acute *in vitro* and genotoxicity) and antimicrobial activity of the ethanolic extract of leaves of this plant. Secondary metabolites were examined by colorimetric reactions, thin-layer chromatography, paper chromatography, and spectrophotometry. The content of total phenols and total flavonoids was determined by colorimetric (with the Folin-Ciocalteu reagent) and complexation (with aluminum chloride) methods, respectively. Besides, acute *in vitro* toxicity (*Artemia salina* test), genotoxicity (Ames test), and antimicrobial activity were analyzed. The results revealed the presence of flavonoids, polyphenols, polysaccharides, proteins, tannins, triterpenes/steroids, and saponosides. The content of total phenols was 3.04 ± 6.10^{-2} mg EAG/ml extract and that of flavonoids 0.82 ± 4.10^{-2} mg EQ/ml extract. The mean lethal concentration higher than 1000 µg/ml extract and the mutagenic index lower than 2, would allow us to infer that this extract would be practically non-toxic. The activity against Gram-positive bacteria, mainly of the *Staphylococcus* genus, would be promising (MIC = 125-500 µg/ml). The results of the work contribute to broadening the scientific knowledge of the specie in Argentina requiring more complex studies to enhance its chemical characterization.

Palabras clave: actividad antimicrobiana – genotoxicidad – tamizaje fitoquímico – toxicidad aguda.

Key words: antimicrobial activity – genotoxicity – phytochemical screening – acute toxicity.

Introducción

Lantana camara Linn. (Verbenaceae) es nativa de América tropical y subtropical y naturalizada como una especie invasiva en otras áreas de América, Asia, Australia, África, Caribe e islas del Pacífico y Nueva Zelanda (Grilli y Galetto, 2009; Torres y Galetto, 2014). En la Argentina se la encuentra en Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe y Tucumán (De la Peña y Pensiero, 2017).

Es un arbusto, de 1,5-3 m, generalmente aculeado, hispídulo o pubescente con tricomas glandulares y no glandulares. Hojas de lámina membranácea, cordada, crenado-serrada, haz reticulada-rugosa a áspero-escabroso y envés densamente velutino-pubescente o hispídulo sobre los nervios. Florescencias parciales en espigas capituliformes densas; brácteas angostamente elípticas. Cáliz truncado, pubescente; corola amarillo-anaranjada. Fruto carnoso-jugoso, negro a la madurez (Rotman, 2009). Algunos de los nombres vulgares de la especie son: bandera española, *camará*, *camará de dos colores*, *cambará* y yerba de la cruz (De la Peña y Pensiero, 2017).

Es usada generalmente como una planta ornamental y, en muchos lugares del mundo se utiliza para tratar una amplia variedad de trastornos, en remedios populares contra tumores y cáncer, fiebre, gripe y dolor de estómago. En América Central y América del Sur, las cataplasmas de las hojas se emplean para tratar herpes, varicela, sarampión, reumatismo y, preparaciones de la planta, para tratar el asma y la hipertensión arterial (Kalita y col., 2012; Nurul y Abdul, 2013). En la Argentina, la infusión de la planta fresca se emplea como digestiva, carminativa, febrífuga, diurética, analgésica, antitusiva y en baños contra el reumatismo (Hurrell y Bazzano, 2003; Rondina y col., 2008; Hernández y col., 2010).

Acerca de la toxicidad de *L. camara* en Brasil, los investigadores Brito, Tokarinia y Döbereiner (2004) señalaron como tóxicas para el ganado bovino y ovino, a las muestras provenientes de seis de los catorce estados en los que se realizó el estudio. Por su parte, Bevilacqua y col. (2011) refieren baja toxicidad aguda de fracciones apolares y polares de extractos crudos en ratones, la que se atribuiría a triterpenos de la familia lantadenos. Según González y Recalde (2006), en Paraguay la especie está incorporada a una lista de plantas tóxicas para los humanos; los frutos inmaduros contendrían los compuestos antes mencionados. De acuerdo con la bibliografía (Rodríguez y col., 2018), en Uruguay también la mencionan como tóxica para el ganado. En la Argentina se ha reportado la toxicidad en bovinos, en Jujuy (Marin y col., 2005) y en Corrientes (Casper y col., 2012). Sin embargo, en una publicación conjunta de UMSA y otras instituciones (2002), se comenta que en algunas comunidades guaraníes del Chaco boliviano (provincia Cordillera) se emplea como forraje en la alimentación animal.

En este artículo la búsqueda de la información ha sido orientada hacia el conocimiento fitoquímico y toxicidad *in*

vitro de la especie, reportados particularmente en la Argentina y países limítrofes. Si bien es un arbusto muy difundido y estudiado mundialmente, son escasas las publicaciones encontradas en relación a la composición química, toxicidad y actividad antimicrobiana *in vitro* en extractos etanólicos de la especie en la Argentina. En la actualidad, se encuentran reportes de actividad antimicrobiana *in vitro* de esta especie en distintas partes del mundo, probando extractos de hojas con distintos solventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, éter de petróleo, diclorometano y metanol, como también del aceite esencial (Ayub y otros, 2017; Carvajal Tesorero y col., 2013; Kumar y col., 2006; Navarrete Barragán y col., 2020; Saraf y col., 2011, Venegas del Castillo y Vásquez-Valles, 2016). En particular se reportó que los extractos etanólicos de hojas mostraron fuerte actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y los extractos etanólicos de los tallos mostraron también actividad frente a bacterias Gram negativas (Saraf y col., 2011). El presente estudio se focaliza en probar la actividad biológica usando las hojas para un uso sustentable de la especie y utilizar como solvente el etanol por su menor toxicidad y su capacidad extractiva de metabolitos de polaridad media como los flavonoides y terpenos, los cuales tienen reconocida actividad antimicrobiana.

Por lo tanto, los objetivos de este trabajo son reportar los principales metabolitos secundarios hallados en el tamizaje fitoquímico, así como la toxicidad (aguda *in vitro* y genotoxicidad) y la actividad antimicrobiana de un extracto etanólico de hojas de *L. camara*.

Materiales y métodos

Material vegetal

Las ramas de la especie vegetal se recolectaron durante el mes de diciembre de 2018, en zona rural de los alrededores de la ciudad de Presidencia Roque Sáenz Peña, ubicada en el centro de la provincia del Chaco (República Argentina). La localización por coordenadas es 26°44'44.888" S 60°24' 8.817 O.

Un ejemplar con flores, previamente identificado por medio de técnicas taxonómicas de rutina por un especialista del área de Farmacobotánica, se separó, se herborizó y se depositó en el Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-CONICET), voucher Aguado MI 01, Corrientes-Argentina.

De las ramas frescas del arbusto se separaron las hojas, se acondicionó el material (lavado, enjuague, escurrimiento) y se secó a temperatura ambiente y a la sombra (7 días).

Obtención del extracto y su fraccionamiento

La elaboración del extracto se realizó por maceración (Farmacopea Argentina, 2013), para esto la droga vegetal (DV)

(seca y molida, tamaño de partícula entre 355 y 850 μm) se dejó en contacto con etanol (EtOH) 96 % (v/v) a 65 °C, durante 2,5 horas. Se filtró el líquido, se prensó el residuo, y se lavó el recipiente y el residuo con pequeñas porciones del etanol 96 %, reuniendo los filtrados para obtener un extracto etanólico (EE) al 20 % (p/v).

Para la separación del EE en distintas fracciones se siguió la técnica propuesta por Rondina y Coussio (1969), descripta por Ardoino y col. (2013) y Soro y col. (2019). El extracto EE filtrado constituyó la primera fracción (fracción A). Un tercio de ese filtrado se secó, se trató con ácido clorhídrico al 1 % y se filtró. Al residuo de la filtración se le agregó cloroformo y se filtró (fracción B). Al filtrado ácido anterior se lo alcalinizó con amoníaco y se controló el pH con papel de tornasol, luego se extrajo con cloroformo. Esta fracción se concentró y se recuperó el volumen con ácido clorhídrico al 1 % (fracción C). El extracto inicial se secó y recuperó con ácido clorhídrico al 1 % y se neutralizó (fracción D).

Material biológico

Los aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y de *Escherichia coli* fueron provistos por el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital "4 de Junio" y el de la Unidad Médica Educativa de la Universidad Nacional del Chaco Austral. Todos los microorganismos fueron mantenidos a -20 °C en caldo infusión cerebro corazón (BHI, Laboratorios Britania, Argentina) conteniendo glicerol al 30 % (v/v).

Los huevos de *Artemia salina* L. (Artemiidae) fueron adquiridos como presentación comercial (marca Vitafish) en un acuario de la ciudad.

Análisis cualitativos

Investigación de metabolitos por reacciones fitoquímicas

La determinación de los grupos de metabolitos se efectuó, según correspondiese a la naturaleza del ensayo, en DV, EE y sus fracciones. Los principales grupos de metabolitos se reconocieron mediante reacciones colorimétricas o de precipitación (Lock de Ugaz, 2001; Murillo y Méndez, 2008).

Las reacciones directas en DV permitieron explorar metabolitos como antraquinonas y derivados (reacción de Bornträger), cumarinas (prueba de Legal, prueba de Erlich), glucósidos cianogenéticos (reacción de Guignard), proteínas/grupos amino (reacción de la ninhidrina), lípidos (Sudán III, reacción con yodo) y saponinas (prueba de la espuma, Norma IRAM 37514).

En la fracción A (etanólica) se investigaron: flavonoides (reacción de Shinoda, vapores de amoníaco), hidratos de carbono (prueba de Molisch), lípidos (Sudán III, reacción con yodo) y taninos/grupos OH- fenólicos (prueba de la gelatina-sal, tratamiento con butanol, ácido clorhídrico y carbonato de sodio).

La fracción B (clorofórmica, ácida) se empleó para in-

vestigar antraquinonas y derivados (reacción de Bornträger) y triterpenos/esteroides (prueba de Liebermann-Burchard, prueba de Salkowski).

En la fracción C (clorofórmica, neutra) se investigaron alcaloides (reactivo de Dragendorff, prueba de Mayer), glucósidos cardiotónicos (prueba de Legal, prueba de Baljet), triterpenos/esteroides (idem fracción B), y leucoantocianinas (reacción de Rosenheim).

En la fracción D (acuosa) se buscaron glucósidos cardiotónicos (idem fracción C), hidratos de carbono (idem DV), polifenoles/taninos (reacción del cloruro férrico, ensayo con reactivo Folin-Ciocalteu, prueba de la gelatina-sal) y proteínas/grupos amino (idem DV).

Investigación de metabolitos por cromatografía en capa delgada

El EE también se investigó por cromatografía en capa delgada (CCD); las fases móviles y reveladores fueron tomados de las alternativas que plantean Wagner, Bladt y Zgainski (2001) y Murillo y Méndez (2008). Para alcaloides se utilizó el sistema de fase móvil: tolueno, acetato de etilo, dietilamina (7:2:1) y revelado con reactivo de Dragendorff. Para flavonoides se usó el sistema de fase móvil: acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético, agua (10:1,1:1,1:2,7) y la solución reveladora difenil-boriloxietilamina - polietilenglicol-28 (NP-PEG 28). Para polifenoles/taninos en general se empleó el sistema: butanol, ácido acético, agua (4:1:5) y los reveladores luz UV, ferricianuro de potasio y cloruro férrico. Para terpenos y esteroides se ocupó el sistema: cloroformo, metanol, agua (6,4:5:1) y como reveladores los reactivos de Liebermann-Burchard y anisaldehído-ácido sulfúrico.

Ensayos complementarios

A pequeñas porciones de DV en polvo se le practicaron procedimientos generales de extracción (Ringuelet y Viña, 2013) a fin de explorar metabolitos potencialmente tóxicos: alcaloides (por mezcla hidroalcohólica ácida y por solvente orgánico en medio alcalino) y triterpenos/esteroides (procedimientos para saponósidos y para heterósidos cardiotónicos). Los extractivos para ensayos complementarios (EEC) de alcaloides se exploraron en CCD con el sistema solvente y reactivos reveladores antes mencionados, contrastando con sulfato de atropina como testigo. Para saponósidos se recurrió al sistema de fase móvil: butanol- ácido acético glacial-agua (4:1:5), el revelado se hizo con el reactivo de Liebermann-Burchard y se usó como testigo el extracto de corteza de *Quillaja saponaria* (Rosaceae) en etanol 70 %. Para los heterósidos se empleó el sistema: acetato de etilo, metanol, agua (8:1:1:8), como revelador el reactivo de Liebermann-Burchard, y como testigos digitalina en cloroformo y extracto de *Q. saponaria* en etanol 70 %.

Caracterización preliminar de los flavonoides mayoritarios por espectrofotometría UV-visible

En placa de sílica gel se sembró una muestra del EE, empleando las fases móvil y estacionaria ya citadas en el ensayo de flavonoides. Se observó con luz UV a 366 nm (con y sin empleo de vapores de amoníaco) y con el revelador NP-PEG 28. Se rasparon los sectores de la placa donde se localizaron las manchas mayoritarias y se solubilizaron en metanol (EM).

Por otra parte, a partir de DV sometida a una hidrólisis ácida (HA) con HCl 2 M durante 40 minutos a 100 °C y posterior partición con acetato de etilo, se obtuvieron flavonoides, los cuales se analizaron y separaron por cromatografía en papel (CP) (Cartaya, 2001; Harborne, 1973), fase móvil: agua, con el mismo revelado que la placa anterior. Las muestras de HA fueron solubilizadas en metanol (EHM).

Tanto EM como EHM se sometieron a un barrido espectral en un espectrofotómetro UV-visible Shimadzu UV-1800 (200 a 400 nm), determinando los valores de las bandas I y II para luego compararlos con bibliografía de referencia como Markham (1982).

Cuantificación de fenoles y de flavonoides

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico (Singleton y col., 1999) con el reactivo Folin-Ciocalteu. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico/ml de extracto etanólico (mg EAG/ml EE). Los flavonoides se cuantificaron con el método del cloruro de aluminio (Popova, 2005) y su contenido se expresó como miligramos equivalentes de quercetina/ml de extracto etanólico (mg EQ/ml EE). En ambos casos las determinaciones se efectuaron por triplicado; los valores presentados corresponden a la media \pm desviación estándar.

Actividad antimicrobiana

La evaluación cualitativa de esta actividad se realizó mediante bioautografía puntual, cargando 60 μ g de extracto seco disuelto en EtOH, en cromatoplasas de sílica gel. Todas las placas se cubrieron con 2 ml de medio de cultivo (infusión cerebro corazón con 0,6 % de agar) conteniendo 10^5 UFC/ml de la cepa de bacteriana (Nieva Moreno y col., 1999). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h y se midieron los halos de inhibición formados luego del revelado con la sal 3-(4,5-dimetiltiazol 2yl)-2,4-difenilbromuro de tetrazolio (MTT). Los ensayos se hicieron por duplicado.

La evaluación cuantitativa se realizó mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM). Ambas pruebas se efectuaron mediante microdilución en caldo (CLSI, 2006). Al EE obtenido originalmente se le eliminó el solvente por evaporación y el residuo seco se disolvió en DMSO, y el extracto resultante se designó

como ED. El rango de concentraciones probado fue de 31,25-1000 μ g/ml. Los microorganismos utilizados fueron bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y cinco aislamientos clínicos de *S. aureus*: Sa 5289, Sa 5347, Sa 5307, Sa 5627, Sa 5246, Sa 5621, Sa 5357) y Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 35218 y dos aislamientos clínicos resistentes a ampicilina: *E. coli*: Ec 1763, Ec 1785). Como control positivo se usó ampicilina (en un rango de concentraciones de 102,4 a 0,2 μ g/ml) y como control negativo DMSO. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Ensayo de toxicidad aguda in vitro

Con el ED también se desarrolló el *Test de la Artemia salina*. Los huevos se incubaron en una cámara con agua de mar artificial (ajustada a pH 9,0) a 25 °C, con aireación y luz artificial directa (Zampini y col., 2008), durante 24 h. Luego se dispuso una serie de 10 larvas en tubos conteniendo diferentes concentraciones del extracto (10 -1000 μ g/ml) en el agua de mar. Se incluyó un grupo control con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra, y como control positivo una solución de dicromato de potasio (3,75 - 60 μ g/ml). Después de 24 h, se contó el número de larvas muertas (sin motilidad) con ayuda de una lupa estereoscópica y se determinaron la mortalidad y la Concentración Letal 50 (CL_{50}). Los ensayos se efectuaron por triplicado y los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Para la clasificación se consideró la escala referenciada por el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, mencionada por Bussmann y col. (2011).

Ensayo de genotoxicidad

Este ensayo se realizó según la técnica de Maron y Ames (1983). Las cepas de *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100 fueron cultivadas en caldo nutritivo y expuestas a diferentes concentraciones del ED (500, 250 y 125 μ g/ml). El ED se agregó a 2 ml de agar blando suplementado con L-histidina y D-biotina, luego fue mezclado con 100 μ l de la suspensión bacteriana y se incubó a 37 °C durante 48 h. También se realizó un control negativo (sin extracto), un control positivo con 4-NPD (4-nitro-o-fenilendiamina) y un control de solvente con DMSO. Las muestras se analizaron por triplicado con dos réplicas. El control negativo permite evaluar el número de colonias que reversion espontáneamente. Los resultados se expresaron como el número de revertantes por placa y como el índice mutagénico (IM) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$IM = \frac{\text{número de revertantes en la muestra}}{\text{número de revertantes espontáneos}}$$

Resultados y discusión

Análisis cualitativo

En la tabla 1 se incluyen los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica con los metabolitos reconocidos en DV y en EE. En las condiciones de ensayo, se detectaron presencia de flavonoides, hidratos de carbono, polifenoles/taninos, proteínas/grupos amino, taninos/grupos OH-, saponinas triterpénicas (mancha púrpura) y esteroides (mancha azul/azul verdoso), en tanto que resultó dudosa la presencia de cumarinas. No se detectó la presencia de alcaloides, antraquinonas, glucósidos cardiotónicos, glucósidos cianogenéticos y leucoantocianinas y lípidos.

En la tabla 2 se muestran los grupos de metabolitos cuya exploración se realizó por CCD a partir del EE y de los extractivos EEC. Se determinó la presencia de triterpenos saponósidos y se corroboró la ausencia de alcaloides y de heterósidos cardiotónicos.

El análisis preliminar de los grupos de metabolitos presentes en el extracto EE es, en parte, coincidente con lo referido por Oliveira de Sousa y col. (2015) en extractos con hojas de la especie del estado de Ceará, Brasil. En este caso determinaron presencia de fenoles, flavonoides, taninos, saponinas, esteroides y terpenos. Bevilacqua y col. (2011), con material vegetal de San Pablo, Brasil, para el extracto etanólico de hojas de *L. camara* reportaron la presencia de glicósidos y ácidos grasos como componentes mayoritarios.

Caracterización preliminar de flavonoides mayoritarios

En la tabla 3 se reporta acerca de la composición de los flavonoides mayoritarios del EM según los análisis por CCD y espectrofotometría UV-visible. La información obtenida sugeriría que los compuestos mayoritarios en forma de glicósidos corresponderían al grupo de las flavonas. En la tabla 4 se reporta el tipo de flavonoides hallados en EHM, donde los componentes por su escasa movilidad en la CP serían glicoflavonas, ya que debido a la resistencia de la unión heterosídica C-C pueden permanecer como compuesto no hidrolizado (Harborne, 1973).

Entre las flavonas aisladas de hojas de *Lantana camara* que han sido reportadas, pueden mencionarse la flavona glucósido camarasida (Ghisalberti, 2000). La hidrólisis ácida de la flavona pectolinarina produjo una aglicona denominada pectolinarigenina y se reconoció D-glucosa y L-ramnosa (Juang y col., 2005). Otras flavonas obtenidas de un extracto metanólico fueron acacetin-7-O-β-D-rutinosido, tricina, hispidulina, 3,5,7,8-tetra hidroxil-6-3'-dimetoxi flavona (Patil y col., 2015). En un ensayo de aislamiento bioguiado a partir de un extracto metanólico de *L. camara* se informó la presencia de la glicoflavona vitexina (Qureshi y col., 2019).

Tabla 1.- Exploración de metabolitos mediante reacciones fitoquímicas

Metabolitos	Droga vegetal	Extracto (EE)
Alcaloides	nr	-
Antraquinonas y derivados	-	-
Cumarinas	+/-	+/-
Flavonoides	nr	+
Glucósidos cardiotónicos	nr	-
Glucósidos cianogenéticos	-	nr
Hidratos de carbono	nr	+
Leucoantocianinas	nr	-
Lípidos	-	-
Polifenoles/taninos	nr	+
Proteínas/grupos amino	+	+
Saponinas	+	+
Taninos y grupos OH-	nr	+
Triterpenos/esteroides	nr	+

EE: extracto etanólico; **+**: presencia; **-**: ausencia; **+/-**: dudoso; **nr**: no realizado.

Tabla 2.- Exploración de metabolitos mediante cromatografía en capa delgada

Metabolitos	Extracto (EE)	Extractivos (EEC)
Alcaloides	-	-
Flavonoides	+	nr
Polifenoles/taninos	+	nr
Triterpenos/esteroides	+	nr
Esteroides (heterósidos cardiotónicos)	nr	-
Triterpenos (saponósidos)	nr	+

EE: extracto etanólico; **EEC:** extractivos para ensayos complementarios; **+**: presencia; **-**: ausencia; **nr**: no realizado.

Análisis cuantitativo

El contenido de fenoles totales fue de $3,04 \pm 6.10^{-2}$ mg EAG/ml EE; el de flavonoides, $0,82 \text{ mg} \pm 4.10^{-2}$ mg EQ/ml EE. Existen publicaciones que informan acerca del contenido de fenoles y de flavonoides totales de extractos acuosos y etanólicos de la especie que se desarrolla en algunos lugares de Brasil (Sousa y col., 2015) y de la Argentina (Michelsoni y col., 2018), pero los resultados se expresan de manera diferente. Los investigadores Sousa y col. (2015) sugieren que el potencial uso de este arbusto en el tratamiento de varias enfermedades se debería a su capacidad de actuar como antioxidante, atribuible particularmente a los flavonoides.

Tabla 3.- Caracterización preliminar de los flavonoides mayoritarios en EM

Rf	Color UV (366 nm)		Longitud de onda UV-vis. (nm)		Tipo de compuesto
	Sin vapores NH ₃	Con vapores NH ₃	Banda II	Banda I	
0,25	Celeste claro	Amarillo verdoso	292	332	Glicósido de flavona
0,65	Celeste claro	Amarillo verdoso	291	337	Glicósido de flavona

EM: extracto metanólico; **fase móvil:** acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético, agua (10:1,1:1,1:2,7); **revelador:** NP-PEG 28 (difetilboriloxietilamina - polietilenglicol-28).

Actividad antimicrobiana

El extracto de *L. camara* sólo fue activo frente a *Staphylococcus aureus*, presentando halos de inhibición mayores a 10 mm, similar a lo registrado en Perú (Distrito de La Libertad) por Requielme Bautista y Leal-Vera (2019), para extractos obtenidos por percolación de hojas frescas con los solventes EtOH 50 ° y EtOH 75 °.

Los valores de CIM (tabla 5) estuvieron comprendidos entre 125 y 500 µg/ml y de CBM entre 500 y 1000 µg/ml frente a las bacterias Gram positivas ensayadas, excepto en tres cepas que no se detectó CBM. Los valores hallados mostrarían una aceptable actividad antibacteriana y los valores de CIM determinados en este trabajo resultaron similares a los informados por investigadores de Brasil, tales como Barreto y col. (2010) y Oliveira de Sousa y col. (2015), quienes reportaron CIM = 512 µg/ml para *S. aureus*. Los extractos investigados en ese país sí resultaron activos frente a *E. coli* (CIM = 256 µg/ml), en tanto que el extracto aquí estudiado no fue activo. Estas diferencias podrían depender de diversos factores, tales como: estado de las hojas (frescas o secas), método de extracción (maceración en frío o en caliente, agotamiento por solvente, percolación), la sensibilidad de las cepas bacterianas y la técnica microbiológica usada para la determinación de la CIM/CBM. Otras causas que podrían explicar estas discrepancias estarían relacionadas con factores inherentes a la planta, tales como su distribución geográfica o sus características genéticas.

De acuerdo con Salada y col. (2015), un compuesto se considera bactericida cuando el valor de CBM es inferior a 4 veces el valor de CIM. Por lo tanto, si CBM/CIM da un valor igual o mayor a 4 se considera bacteriostático.

Tabla 4.- Caracterización preliminar de flavonoides mayoritarios en EHM

Rf	Longitud de onda UV-vis. (nm)		Tipo de compuestos
	Banda II	Banda I	
0,10	260	349	Glicoflavona
0,25	256	332	Glicoflavona

EHM: extracto de hidrólisis ácida en metanol; **fase móvil:** agua; **revelador:** NP-PEG 28 (difetilboriloxietilamina-polietilenglicol-28).

Los resultados del presente estudio permiten decir que el extracto presenta actividad bacteriostática frente a todos los aislamientos de *S. aureus* usados en este ensayo y bactericida frente a las cepas de *S. epidermidis* y *E. faecalis*. La actividad antibacteriana podría atribuirse a los flavonoides, taninos y terpenos presentes en este extracto; ya que estos componentes han sido reportados con esa acción (Oliveira de Sousa y col., 2015; Girish, 2017).

Ensayo de toxicidad aguda in vitro

En cuanto al ensayo de letalidad, el valor de CL₅₀ fue 1358 ± 16 µg/ml, infiriéndose que sería prácticamente no tóxico (entre 1000 y 1500 µg/ml), de acuerdo con los estándares establecidos por CYTED (Retuerto-Figueroa y col., 2020). Este valor resulta similar a lo establecido por Baldera Paico y Dejo Tovar (2018, en Lambayeque, Perú) para un extracto etanólico de hojas (CL₅₀ = 1625 µg/ml, considerado relativamente inocuo).

El valor de CL₅₀ no muestra una actividad fisiológica o biológica en particular, es indicador de toxicidad a nivel celular (Sánchez y Neira, 2005). Este valor orienta en la búsqueda de nuevos componentes bioactivos en las plantas, pero representa una evaluación preliminar de la toxicidad.

Tabla 5.- CIM y CBM (µg/ml) de ED *L. camara* sobre bacterias Gram positivas

Cepa bacteriana	<i>L. camara</i>		Ampicilina
	CIM	CBM	CIM
Sa 5289	250	1000	25,6
Sa 5347	250	1000	25,6
Sa 5307	500	nd	51,2
Sa 5627	250	1000	25,6
Sa 5246	500	nd	51,2
Sa 5621	500	nd	51,2
Sa 5357	500	1000	51,2
Sa ATCC 29213	125	500	0,8
Se ATCC 12228	250	500	0,8
Ef ATCC 29212	250	500	0,4

ED: extracto seco de *L. camara* diluido en DMSO; **CIM:** concentración inhibitoria mínima; **CBM:** concentración bactericida mínima; **Sa:** *Staphylococcus aureus*; **Se:** *S. epidermidis*; **Ef:** *Enterococcus faecalis*; **nd:** No detectado.

Tabla 6.- Genotoxicidad de ED *L. camara* sobre *Salmonella typhimurium*

Muestra	Concentración (µg/placa)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98		<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	
		Nº rev/placa	IM	Nº rev/placa	IM
Control negativo	---	29 ± 1	---	123,5 ± 4,9	---
Control DMSO	---	27 ± 2	---	125,0 ± 1,5	---
4-NPD	10	560,0 ± 22,6	19,3	536,0 ± 56,6	4,34
ED	500	24,5 ± 2,1	0,84	90,5 ± 2,1	0,73
	250	31,0 ± 1,3	1,06	112,5 ± 3,5	0,91
	125	27,0 ± 6,9	0,93	99,5 ± 7,8	0,80

ED: extracto seco de *L. camara* diluido en DMSO; Nº rev/placa: número de revertantes por placa; IM: índice mutagénico; 4-NPD: 4-nitro-o-fenilendiamina.

Ensayo de genotoxicidad

El extracto ED frente a *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100 a concentraciones de 500, 250 y 125 µg/ml de extracto no evidenció genotoxicidad, pues los valores de IM fueron menores a 2 (Tabla 6). Esto indicaría que el ED es seguro a las concentraciones bioactivas determinadas en este estudio. Si bien no se encontraron trabajos recientes sobre estudios de genotoxicidad en extractos alcohólicos de hojas de *L. camara*, la ausencia de mutagenicidad hallada en este trabajo coincide con lo informado por Alkofahi y col. (1990) quienes trabajaron con extractos etanólicos de 40 plantas medicinales de Jordania, entre las que se encontraba *L. camara*.

Sin embargo, aunque estos resultados indican baja toxicidad aguda *in vitro* y ausencia de genotoxicidad, es necesario recordar que se encontraron estudios *in vivo* que revelan toxicidad con el extracto etanólico (Bevilacqua y col., 2011) y extracto metanólico (Pour y col., 2011) de *Lantana camara*. Por ello, se considera necesario otros estudios de toxicidad *in vivo* para extractos etanólicos de esta especie.

Conclusiones

En las condiciones de este estudio exploratorio, el extracto etanólico de las hojas de *Lantana camara* revelaría la presencia de polifenoles/taninos, flavonoides, hidratos de carbono, proteínas, saponósidos triterpenos y esteroides. En los ensayos *in vitro* se determinó ausencia de toxicidad aguda y de genotoxicidad, de modo concordante con lo reportado en algunas regiones de Brasil y de Perú. Con respecto a la actividad antibacteriana, los resultados son prometedores, principalmente frente a bacterias Gram positivas.

Los resultados del trabajo contribuirían a ampliar el conocimiento científico de un extracto etanólico de la especie en la Argentina, aunque resultan imprescindibles estudios de mayor complejidad para caracterizar los saponósidos esteroides y triterpenoides.

El aislamiento bioguiado de compuestos de interés y la combinación del extracto con antibióticos comerciales constituyen los nuevos desafíos propuestos por el grupo.

Referencias bibliográficas

- Alkofahi, A.S.; Abdelaziz, A.; Mahmoud, I.; Abuirjie, M.; Hunaiti, A.; El-Oqla, A. (1990). "Cytotoxicity, Mutagenicity and Antimicrobial Activity of Forty Jordanian Medicinal Plants". *International Journal of Crude Drug Research*, 28 (2) 139-144. <https://doi.org/10.3109/13880209009082798>
- 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.
- Ayub A., Tauseef S., Zehra S.Q., Begum S., Siddiqui B.S., Ahmed A. (2017). "Antimicrobial activity of *Lantana camara* Linn". *FUFAST J. BIOL.* 7 (1): 127-130. https://www.researchgate.net/publication/320290212_ANTIMICROBIAL_ACTIVITY_OF_LANTANA_CAMARA_LINN_13
- Baldera Paico, C.J.; Dejo Tovar, A.M. (2018). "Efecto biocida del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (Lantana) sobre el estadio adulto de *Aedes aegypti* y toxicidad sobre *Artemia salina* (Camarón salino) en condiciones de laboratorio". Tesis. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Facultad de Ciencias Biológicas. Lambayeque, Perú. <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/3021>
- Barreto, F.S.; Sousa, E.O.; Campos, A.R.; Costa, J.G.M.; Rodrigues, F.F.G. (2010). "Antibacterial activity of *Lantana camara* Linn and *Lantana montevidensis* Briq. extracts from Cariri-Ceará, Brazil". *Journal of Young Pharmacists* 2: 42-44.
- Bevilacqua A.H.V.; Suffredini I.B.; Romoff P.; Lago J.H.G.; Bernardi M.M. (2011). "Toxicity of apolar and polar *Lantana camara* L. crude extracts in mice". *Research in Veterinary Science* 90: 106-115.
- Brito, M.F.; Tokarinia, C.H.; Döbereiner, I. (2004). "A toxidez de diversas lantanas para bovinos e ovinos no Brasil". *Pesquisa Veterinária Brasileira* 24: 45-51.
- Bussmann, R.W.; Malca, G.; Glenn, A.; Sharon, D.; Nilsen, B.; Parris, B.; Dubose, D.; Ruiz, D.; Saleda, J.; Martinez, M.; Carillo, L.; Walker, K.; Kuhlman, A.; Townesmith, A. (2011). "Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru". *Journal of Ethnopharmacology* 137 (1): 121-40.
- Cartaya, O.; Reynaldo, I. (2001). "Flavonoides: Características químicas y aplicaciones". *Cultivos Tropicales* 22 (2): 5-14.

- Carvajal Tesorero, Z.; Ramírez Zambrano, L.; Ducurú, M.; Gómez, V.; Cabrera, G.; Méndez, J.; Rodríguez Ortega, M. (2013). "Actividad biológica de extractos de tres plantas sobre bacterias patógenas para el humano". *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33 (1): 35-39.
- Caspe, S.G.; Ramirez, J.C.; Pereyra, M.; Sala, J.M.; Sarmiento, N.F. (2012). "Intoxicación natural en bovinos con *Lantana camara* en la provincia de Corrientes". *Noticias y Comentarios* 484. Ediciones INTA, Corrientes: 1-4. <https://inta.gob.ar/documentos/intoxicacion-natural-en-bovinos-con-lantana-camara-en-corrientes.-noticias-y-comentarios-484>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2006). *Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals*. CLSI, Pennsylvania.
- De la Peña, R.; Pensiero J.F. (2017). *Las plantas como recurso alimenticio de las aves*. Ediciones UNL, Santa Fe: 189.
- Farmacopea Argentina, Séptima Edición compilada (2013), Volumen IV, p. 239. Ministerio de Salud de la Nación. Buenos Aires, Argentina. <https://www.argentina.gob.ar/farmacopea-argentina/libro-farmacopea-argentina-7a-ed>
- Ghisalberti, E.L. (2000). "*Lantana camara* L. Verbenaceae. Review". *Fitoterapia* 71: 467-486.
- Girish K. (2017). "Antimicrobial activities of *Lantana camara* Linn". *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 10(3):57-67. DOI-10.22159/ajpcr.2017.v10i3.16378
- González Y.; Recalde L. (2006). "Plantas tóxicas de Asunción y Gran Asunción". *Rojasiana* 7 (2): 79-89.
- Grilli, G.; Galetto, L. (2009). "Remoción de frutos en el bosque chaqueño". *Ecología Austral* 19: 149-156.
- Harborne, J.B. (1973). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Technique of Plant Analysis*. Chapman A & Hall, London, 57.
- Hernández, M.P.; Civitella, S.M.; Rosato, V.G. (2010). "Uso medicinal popular de plantas y líquenes de la Isla Paulino, Provincia de Buenos Aires, Argentina". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 9: 258-269. <https://www.redalyc.org/pdf/1994/199428471008.pdf>
- Hurrell, J.; Bazzano, D. (2003). *Biota Rioplatense VIII. Arbustos I. Nativos y exóticos*. Literature of Latin America, Buenos Aires: 233.
- Instituto Argentino de Normalización y Certificación (1997). Norma IRAM 37514. *Drogas vegetales. Detección de saponósidos en plantas medicinales*. Argentina.
- Juang, F.C., Chen, Y.F., Lin, F.M., Huang, K.F. (2005). "Constituents from the leaves of *Lantana camara* (IV)". *J Chin Med* 16 (2-3): 149-155.
- Kalita, S.; Kumar, G.; Karthik, L.; Bhaskara Rao, K.V. (2012). "A review on medicinal properties of *Lantana camara* Linn". *Research Journal of Pharmacy and Technology* 5 (6): 711-715.
- Kumar, V.P.; Chauhan, N.S.; Padh, H.; Rajani, M. (2006). "Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants". *J Ethnopharmacol.* 107: 182-8
- Lock de Ugaz, O. (2001). "Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios". En: Villar López, M.; Mesa Ramos, M.; Pimentel, O.G. (ed). *Manual de Fitoterapia* Cap. IV. OPS. Perú: 41-43.
- Marin, R.E.; Erquiaga, R.; Sernia, C.; Morrel, E.; Scicchitano, S.; Odriozola, E. (2005). "Intoxicación natural y experimental de bovinos por consumo de *Lantana camara*". *Veterinaria Argentina* 22 (215): 332-343.
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of flavonoid identification*. Academic Press, London: 85.
- Maron, D.M.; Ames, B.N. (1983). "Revised methods for the Salmonella mutagenicity test". *Mutation Research* 11: 173-215. <https://www.replace.be/sites/default/files/Revised%20methods%20for%20the%20Salmonella%20mutagenicity%20test.pdf>
- Micheloni, O.B.; Gonzalez, E.; Leclercq, B.; Rolandelli, G.; Oackley, L.; Farroni, A.E. (2018). "Estudio de la actividad biológica y toxicidad de extractos naturales obtenidos a partir de especies vegetales silvestres". En INTA, *Desarrollos tecnológicos en el marco del Programa Nacional de Agroindustria y Agregado de Valor*. Argentina: 58-65.
- Murillo, E.; Méndez, J. (2008). *Guía metodológica para la detección rápida de algunos núcleos secundarios y caracterización de una droga cruda*. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. Colombia. <http://es.scribd.com/doc/276763755/Guia-Para-Deteccion-Rapidas-de-Algunos-Nucleos-Secundarios>
- Navarrete Barragán, N.A.; Pita-Ospina, E.F.; Sánchez Mora, R.M.; Giraldo Quintero, S.E.; Bernal Lizarazú, M.C. (2020). "Actividad *in vitro* de los extractos etanólicos de *Lantana camara* L., *Petiveria alliacea* L. y *Lippia dulcis* T. frente a bacterias patógenas". *NOVA* 18 (33): 53-71. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v18n33/1794-2470-nova-18-33-53.pdf>
- Nieva Moreno, M.I.; Isla, M.I.; Cudmani, N.G.; Vattuone, M.A.; Sampietro, A.R. (1999). "Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis". *Journal of Ethnopharmacology* 68: 97-102.
- Nurul, F.; Abdul, P. (2013). "Extraction of *Lantana camara* for wound healing application". Thesis. Faculty of Chemical & Natural Resources Engineering University Malaysia Pahang. <https://core.ac.uk/reader/159182150>
- Oliveira de Sousa, E.; Fernandez Galvão Rodrigues, F.; Rolim Campos, A.; Martins da Costa, J. G. (2015). "Phytochemical analysis and modulation in aminoglycosides antibiotics activity by *Lantana camara* L". *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 37 (2): 213-218.
- Patil, G.; Khare, A.B.; Huang, K.F.; Lin, F.M. (2015). "Bioactive chemical constituents from the leaves of *Lantana camara* L.". *Indian Journal of Chemistry* 54B: 691-697.
- Popova, M.; Silicib, S.; Kaftanogluc, O.; Bankov, V. (2005). "Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition". *Phytomedicine* 12: 221-228.
- Pour, B.M.; Latha, L.Y.; Sasidharan, S. (2011). "Cytotoxicity and Oral Acute Toxicity Studies of *Lantana camara* Leaf Extract". *Molecules* 16: 3663-3674. <https://doi.org/10.3390/molecules16053663>
- Qureshi, H.; Anwar, T.; Ali, Q.; Haider, M.Z.; Habib, N.; Fatima, S.; Waseem, M.; Bibi, Y.; Arshad, M.; Adkins, S.W. (2019). "Isolation of natural herbicidal compound from *Lantana camara*". *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 101 (5): 631-638. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1670822>
- Requelme-Bautista, M.C.; Leal-Vera, C.A. (2019). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) sobre *Staphylococcus aureus**. Tesis. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Perú. <http://repositorio.uladec.edu.pe/handle/123456789/17081>

- Retuerto-Figueroa, M.G.; Ramos-Llica, E.; Gorriti-Gutiérrez, A.R.; Gallardo-Jugo, T.; Ortega-Romero, E.; Calixto-Cotos, M.; Cosquillo-Rafael, M.; Fuertes-Ruitón, C.; Quispe-Jacobo, F.; Villafuerte-Montes, U. (2020). "Estudio farmacognóstico, antioxidante y citotóxico de *Sinningia warmingii* 'papa madre'". *Rev. Toxicol* 37: 6-10. <http://rev.aetox.es/wp/index.php/estudio-farmacognostico-antioxidante-y-citotoxico-de-sinningia-warmingii-papa-madre/>
- Ringuelet J.; Viña S. (2013). *Productos naturales vegetales*. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires: 54.
- Rodríguez, E.E.; Aceñolaza, P.G.; Picasso, G.; Gago, J. (2018). *Plantas del bajo Río Uruguay: Árboles y Arbustos*, volumen I. Comisión Administradora del Río Uruguay, Uruguay: 69.
- Rondina, R.V.D.; Bandoni A.L.; Coussio, J.D. (2008). "Especies medicinales argentinas con potencial actividad analgésica". *Dominguezia* 24 (1): 47-69.
- Rondina, R.V.D.; Coussio, J.D. (1969). "Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas (I)". *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 2 (6): 352-366.
- Rotman, A.D. (2009). "El género *Lantana* L. (Verbenaceae-Verbenoideae) en Paraguay: sinopsis y novedades". *Candollea* 64 (2): 297-301.
- Salada, J.; Balala, L.; Vásquez, E. (2015). "Phytochemical and antibacterial studies of *Lantana camara* L. leaf fraction and essential oil". *International Journal of Scientific and Research Publications* 5 (3): 1-5.
- Sánchez, L.; Neira, A. (2005). "Bioensayo general de letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava* L y *Psidium guineense* Sw". *Cultura Científica*, 3: 40-45. https://www.jdc.edu.co/revistas/index.php/Cult_cient/article/view/469
- Saraf, A.; Qureshi, S.; Sharma, K.; Khan, O.A. (2011). "Antimicrobial activity of *Lantana camara* L.". *Journal of Experimental Sciences* 2 (10): 50-54. https://www.researchgate.net/publication/261224269_Antimicrobial_activity_of_Lantana_camara_L
- 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 Enzymology* 299: 152-178.
- Soro, A.S.; Valenzuela, G.M.; Nuñez, M.B. (2019). "Caracterización fitoquímica y actividad antioxidante de las especies *Sapium haematospermum* Müll Arg. (Euphorbiaceae) y *Baillonina amabilis* Bocq. (Verbenaceae)". *Dominguezia* 35 (1): 87-92.
- Sousa, E.O.; Miranda, C.M.B.A.; Nobre, C.B.; Boligon, A.A.; Athaydec, M.L.; Costa, J.G.M. (2015). "Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts". *Industrial Crops and Products* 70: 7-15.
- Torres C.; Galetto L. (2014). "Nectar sugar composition and flower visitors for the naturalized exotic *Lantana camara* (Verbenaceae) at Central Argentina". *The International Journal of Plant Reproductive Biology* 6 (2): 174-180.
- UMSA - Fundación Kaa-Iya - IRD CABI - WCS Bolivia - HNB CYTED – OEA (Editores). (2002). *Plantas del Chaco II. Usos tradicionales Izoceño-guaraní*. Bolivia: 348. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/diversio-04/010029501.pdf
- Venegas del Castillo, A.; Vásquez-Valles, M.N. (2016). Efecto del aceite esencial de *Lantana camara* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *REBIOL* 36 (1): 29 - 37. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/1311>
- Wagner, H.; Bladt, S.; Zgainski, E.M. (2001). *Plant Drug Analysis. A thin layer chromatography atlas*. Springer-Verlag, Berlín: 43, 82, 119.
- Zampini, I.C.; Villarini M.; Moretti M.; Dominici L.; Isla, M.I. (2008). "Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of hydroalcoholic extracts of *Zuccagnia punctata* Cav". *Journal of Ethnopharmacology* 115 (2): 330-335.