



Revista MINERVA

Plataforma digital de la revista: <https://minerva.sic.ues.edu.sv>



Estudio de la toxicidad aguda y subaguda oral del extracto etanólico de las hojas de *Hamelia patens* (Rubiceae) en ratón

Acute and sub-acute oral toxicity study of the ethanolic extract of leaves from *Hamelia patens* (Rubiceae) in mice

María H. Escobar¹, Juan Pablo Sánchez-Pérez², Jesús N. Ávalos³, José G. Mejía⁴, Simón G. Toloza⁵, Marvin J. Núñez², Miguel A. Moreno¹

Correspondencia:
miguel.moreno@ues.edu.sv

Presentado: 20 de noviembre de 2020
Aceptado: 20 de febrero de 2021

- 1 Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad de El Salvador
- 2 Laboratorio de Investigación en Productos Naturales, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador
- 3 Laboratorio de Patología, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador
- 4 Laboratorio de Experimentación Animal, Centro de Investigación y Desarrollo en Salud, Universidad de El Salvador
- 5 Laboratorio de Química Clínica, Hospital Nacional Rosales, El Salvador

RESUMEN

El extracto etanólico de las hojas de *Hamelia patens* fue evaluado para determinar la toxicidad oral aguda y subaguda en ratones de laboratorio. Las dosis de 5, 50, 300 y 2000 mg/kg de peso corporal no produjeron mortalidad ni cambios significativos en los comportamientos generales de los animales. En el estudio de toxicidad subaguda, el extracto etanólico se administró a la dosis de 2000 mg/kg de peso corporal diariamente por un período de 28 días. Los resultados muestran una CL₅₀ por encima de 2000 mg/kg, lo que es indicativo de un uso seguro para el ser humano en tanto que no representa alteraciones en el estado general de los animales experimentales.

Palabras clave: *Hamelia patens*, toxicidad aguda, toxicidad subaguda.

ABSTRACT

The ethanol extract of leaves from *Hamelia patens* was evaluated for acute and sub-acute oral toxicity. The single oral doses of the ethanol extract at 5, 50, 300, and 2000 mg/kg body weight did not produce mortality or significant changes in the general behaviors. In the sub-acute toxicity study, the ethanol extract was administrated orally at a dose of 2000 mg/kg/day for 28 days. The results show a CL₅₀ up from 2000 mg/kg, which is indicative of safe use for the human being because does not represent serious alterations in the state of health of the experimental animals.

Keywords: *Hamelia patens*, acute toxicity, subacute toxicity.

INTRODUCCIÓN

Aproximadamente el 80% de la población mundial usa plantas como medicina natural. Es por ello que la Organización Mundial para la Salud (OMS) ha insistido en que el uso de plantas medicinales puede ser de gran aplicación en la atención primaria en los sistemas de salud, pero con base en estudios científicos que avalen la seguridad, efectividad y calidad requerida para la administración en humanos (OMS, 2000; 2002). Hoy en día, es exactamente en países como El Salvador, que poseen una gran biodiversidad y una valiosa tradición popular en el uso de plantas medicinales, donde la medicina tradicional sobrevive en su forma más auténtica y por tanto muy asociada al empirismo. *Hamelia patens* es una planta utilizada en la medicina tradicional salvadoreña que se asocia con propiedades como la analgesia, actividad antimicrobiana, antidepresivo, inmunoestimulante, cicatrizante, antitumoral y antiinflamatorio (Chauhan y Singh, 2019), y ha sido considerada una de las especies más utilizadas en la medicina tradicional salvadoreña (Merino, 1998). Es utilizada, además, como especie decorativa casi en todo el mundo, y su fruto se considera alimento (Little et al., 1974). Es una especie vegetal utilizada en la medicina natural para tratar el pie de atleta, las heridas y erupciones cutáneas, las picaduras de insectos, el shock nervioso, la inflamación, el reumatismo, el dolor de cabeza, el asma y la disentería (Raintree Nutrition, 2001; Ahmad et al., 2012; Liogier, 1990). *H. patens* debe sus propiedades medicinales a algunos grupos de sustancias de diversa composición química como alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides (Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006; Bouic y Lamprecht, 1999; Reyes-Chilpa et al., 2004), cuya acción farmacológica le confieren su valor medicinal (Hsu et al., 1997; Ovesná et al.,

2006); sin embargo, éstas sustancias también pueden tener efectos tóxicos como ya se ha demostrado en otras plantas de composición química similar (Zeinsteger et al., 2001; Abramov et al., 2001; Lin et al., 1990; Safayhi y Saile, 1997; Akbarsha y Murugaian, 2000; Naithani et al., 2001). De acuerdo a lo anterior y a la escasa información sobre los efectos tóxicos de esta especie, se realizó el presente trabajo para determinar el potencial tóxico de *H. patens*, mediante prueba de toxicidad aguda y a dosis repetidas durante 28 días en ratones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción general. Las pruebas se realizaron en colaboración entre el Laboratorio de Experimentación Animal, y el Laboratorio de Patología, ambos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, de acuerdo a lo establecido en las guías CCAC para el cuidado y uso de animales de laboratorio (CCAC, 1998) y el Procedimiento Normalizado de Trabajo (PROC-NT005) del Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) basado en las directrices 423 y 407 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) (OECD, 1995; 2000). El manejo de los animales se realizó mediante procedimientos estandarizados y la regla básica a seguir fue que todos los animales tratados deben ser sacrificados por dislocación cervical. Fue utilizado el número mínimo de animales para obtener datos consistentes. Cada animal se utilizó una vez.

El extracto etanólico de *H. patens* se elaboró en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. Los estudios de hematología y bioquímica clínica se realizaron en el Laboratorio de Química Clínica del Hospital Nacional Rosales.

Material vegetal. *Hamelia patens* (Rubiaceae) fue recolectada en la localidad El Jocotón, municipio de Coatepeque, Departamento de Santa Ana, El Salvador, y fue identificada por el botánico Jorge Monterrosa. Un ejemplar de comprobante (ISB-88) fue depositado en el Herbario del Jardín Botánico La Laguna, El Salvador.

Preparación de extracto etanólico. 1 kg de hoja seca fue cortada en trozos y se extrajo con etanol en un aparato Soxhlet y finalmente se concentró a presión reducida, obteniéndose 85,7 g de extracto etanólico.

Animales. Se utilizaron ratones blancos albinos cepa NIH de ambos sexos, con peso corporal promedio entre 19 y 24g. Los animales fueron alimentados con una dieta estándar para roedores, agua *ad libitum* y mantenidos en condiciones de temperatura y humedad relativa controladas de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y entre 50-60% respectivamente y ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Toxicidad oral aguda. Con el propósito de definir la dosis de la sustancia para realizar el estudio de toxicidad por dosis repetidas de 28 días y según el método de clase de toxicidad aguda (OECD, 2001), se realizó el ensayo de Toxicidad Oral Aguda. La prueba consta de cuatro pasos sucesivos, donde la sustancia de ensayo fue administrada a las dosis de 5, 50, 300 y 2000 mg / kg de peso corporal en cada paso. Se inició con la dosis de 5 mg / kg de peso corporal. Se utilizaron 3 animales para cada concentración. La sustancia de ensayo se administró a una sola dosis por vía intragástrica, sin exceder el volumen máximo de 1 ml / 100 g de peso corporal. Se realizaron observaciones de cada animal después de la administración de la sustancia de prueba durante los primeros 30 minutos y diariamente hasta los 14 días. No se observó mortalidad relacionada con la sustancia de prueba para ninguna de las dosis evaluadas, no hubo cambios en el

comportamiento de ninguno de los animales. Debido a que no se observó mortalidad en el primer paso, se administró la siguiente dosis de 50 mg / kg de peso corporal y así sucesivamente hasta la dosis límite de 2000 mg / kg de peso corporal.

Toxicidad subaguda oral. De acuerdo con los resultados de toxicidad oral aguda, que no produjeron ningún efecto tóxico observable, se procedió a realizar la prueba límite de la OCDE a 2000 mg / kg de peso corporal a un volumen de 0,2 ml de la sustancia de prueba que fue administrada a los animales en condiciones óptimas, todos los días durante 28 días. La prueba se realizó de acuerdo con la Guía de la OCDE para este tipo de estudio (OECD, 1995). Se utilizaron cuatro grupos experimentales (2 grupos de hembras y 2 grupos de machos) de 5 animales por grupo, de los cuales un grupo por sexo se trató con la sustancia de ensayo (grupos de tratamiento) y los dos grupos restantes se utilizaron como controles administrándoles agua destilada. Las observaciones clínicas se realizaron dos veces al día durante 28 días. Al finalizar los experimentos, se procedió a obtener muestras de sangre del plexo ocular de cada animal.

Necropsia y análisis sanguíneo. Los animales se sometieron a una necropsia macroscópica completa. Se midieron valores hematológicos (hematocrito, concentración de hemoglobina, recuento de eritrocitos, recuento de leucocitos total y diferencial) y bioquímicos (glucosa, colesterol total, urea, creatinina, bilirrubina, alanina aminotransferasa – ALAT y aspartato aminotransferasa - ASAT).

Análisis estadístico. Los resultados del peso corporal y el peso de los órganos se analizaron mediante la prueba t de Student. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos.

RESULTADOS

No se observó mortalidad ni cambios de comportamiento o toxicidad después de la administración oral de la sustancia de ensayo a una dosis de 2000 mg / kg de peso corporal, ni la ganancia de peso corporal de los grupos

experimentales se vieron significativamente afectados por la administración del extracto (tabla 1). De la misma manera, no se reportó alteración en la superficie, color, consistencia, longitud y peso de los órganos, excepto por el aumento estadístico significativo de los valores promedio del peso del hígado en las hembras de tratamiento (tabla 2).

Tabla 1

Comportamiento del peso corporal en los grupos de animales tratados con el extracto etanólico de H. patens y el grupo control

HEMBRAS							
Grupo	Peso inicial	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Ganancia %	Valor p
Control	20.54 ± 0.69	20.59 ± 0.84	21.45 ± 0.82	21.86 ± 0.38	22.42 ± 1.01	9.1 ± 1.85	
Tratamiento	19.84 ± 0.61	19.48 ± 1.87	20.65 ± 1.43	20.72 ± 1.31	22.02 ± 1.25	10.96 ± 4.76	0.91
MACHOS							
Control	23.05 ± 0.27	23.01 ± 0.25	23.59 ± 1.39	24.45 ± 1.29	25.96 ± 1.50	12.59 ± 5.27	
Tratamiento	23.81 ± 2.81	24.78 ± 1.76	25.90 ± 1.49	25.92 ± 1.10	26.24 ± 1.98	10.69 ± 5.57	0.73

Los valores se expresan como medias ± desviación estándar (S.D). Se hicieron comparaciones entre los grupos control y tratamiento. * valor de p <0,05 se considera una diferencia significativa.

Los índices de bioquímica clínica y hematológica no se vieron afectados estadísticamente por la sustancia de ensayo, excepto por una disminución significativa en los valores observados del recuento de hematocrito y eritrocitos del grupo de hembras tratamiento. También se observa una disminución significativa del colesterol en el grupo de machos tratados con la sustancia de estudio (tabla 3).

DISCUSIÓN

Una disminución de más del 10% del peso corporal es indicativo de efectos adversos para la salud (Ramesh et al., 2007). En el presente estudio, no se observó alteración en cuanto a

la ganancia normal de peso de los animales de experimentación ni la aparición de signos tóxicos. Sobre el aumento de los valores promedio del peso de hígado de las hembras tratamiento respecto al grupo control, no tiene importancia clínica porque no guarda relación ni con alteraciones macroscópicas como superficie, color, consistencia y tamaño del órgano, ni con alteración en los valores de bioquímica sanguínea, cambios histopatológicos de ese órgano.

Los índices de bioquímica clínica y hematológica son indicadores del alcance y la profundidad de los efectos adversos de una sustancia en órganos específicos (González Torres et al., 2006); de acuerdo con ello, la disminución en los valores del recuento total

Tabla 2

Efecto del extracto etanólico de las hojas de *H. patens* sobre el peso de los órganos en los grupos control y tratamiento

Órgano	Grupo	Hembras		Machos	
		media ± S.D	Valor p	media ± S.D	Valor p
Hígado	Control	1.013 ± 0.402	0.048*	1.213 ± 0.241	0.447
	Tratamiento	1.097 ± 0.065		1.342 ± 0.108	
Corazón	Control	0.12 ± 0.163	0.889	0.116 ± 0.188	0.782
	Tratamiento	0.117 ± 0.17		0.124 ± 0.015	
Pulmón	Control	0.193 ± 0.402	0.490	0.136 ± 0.309	0.330
	Tratamiento	0.167 ± 0.043		0.184 ± 0.077	
Riñón	Control	0.156 ± 0.124	0.866	0.203 ± 0.004	0.114
	Tratamiento	0.155 ± 0.012		0.19 ± 0.187	
Estomago	Control	0.466 ± 0.077	0.687	0.593 ± 0.956	0.464
	Tratamiento	0.415 ± 0.163		0.49 ± 0.112	
Vazo	Control	0.176 ± 0.044	0.452	0.163 ± 0.188	0.095
	Tratamiento	0.152 ± 0.03		0.136 ± 0.207	
Intestino delgado	Control	1.47 ± 0.176	0.912	1.306 ± 0.175	0.837
	Tratamiento	1.457 ± 0.083		1.28 ± 0.224	
Intestino grueso	Control	0.773 ± 0.075	0.510	0.816 ± 0.192	0.388
	Tratamiento	0.812 ± 0.097		0.73 ± 0.117	

Los valores se expresan como medias ± desviación estándar (S.D). Se hicieron comparaciones entre el grupo control y el grupo tratamiento.* valor de p <0,05 se considera una diferencia significativa.

de eritrocitos y del hematocrito en el grupo tratamiento hembras, no corresponde a algún proceso toxicológico ya que no guarda relación con ningún otro indicador evaluado. En cuanto a la disminución de los niveles de colesterol en el grupo tratamiento machos, teóricamente se atribuiría a un efecto hipolipidémico de *H. patens*; tesis que debe ser verificada en estudios posteriores. Finalmente, los resultados del presente estudio sobre la mortalidad, no concuerdan con los reportados en otros estudios similares (Esposito-avella et al., 1985; Esposito y Gupta, 1986), donde se observaron mortalidades del 30 y 50% con dosis repetidas de 10 días, equivalentes a $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ de una DL50

de 1540 mg / kg de peso corporal de extracto etanólico de *H. Patens*. Tales diferencias podrían explicarse gracias a diferencias en las concentraciones de los metabolitos secundarios como resultado de las diferencias geográficas de las muestras vegetales.

CONCLUSIONES

Al considerar la generalidad de los resultados obtenidos en la toxicidad oral aguda y subaguda, basados por un lado, en alteraciones en algunos de los parámetros de toxicidad evaluados, pero sin correspondencia clínica con otros parámetros, concluimos que el extracto etanólico de las hojas de *Hamelia*

Tabla 3

Efecto del extracto etanólico de *A. patens* sobre parámetros hematológicos y bioquímicos clínicos en grupos de control, tratamiento

Parámetro	Grupo	Hembras		Valor p	Machos		Valor p
		Media ± S.D			Media ± S.D		
Hemoglobina	Control	15.15	± 0.30	0.501	15.15	± 0.30	0.964
	Tratamiento	14.48	± 1.69		15.02	± 0.74	
Hematocrito (%)	Control	45.68	± 0.94	0.027*	45.68	± 0.94	0.921
	Tratamiento	44.00	± 0.82		45.20	± 2.17	
Neutrofilos (%)	Control	39.33	± 5.73	0.183	37.68	± 3.09	0.269
	Tratamiento	55.00	± 18.87		31.60	± 8.17	
Linfocitos (%)	Control	59.33	± 7.36	0.199	62.33	± 3.09	0.269
	Tratamiento	46.00	± 16.73		66.40	± 6.23	
Conteo de eritrocitos (ml/mm)	Control	50.23	± 1.04	0.026*	50.23	± 1.04	0.687
	Tratamiento	48.40	± 0.90		48.92	± 3.70	
Glucosa (mg/dl)	Control	115.49	± 9.95	0.148	111.71	± 14.98	0.241
	Tratamiento	134.76	± 14.08		136.09	± 26.85	
Colesterol (mg/dl)	Control	53.68	± 11.81	0.877	65.88	± 8.98	0.026*
	Tratamiento	54.61	± 18.48		77.26	± 11.07	
Urea (mg/dl)	Control	47.15	± 2.35	0.472	37.03	± 0.90	0.108
	Tratamiento	44.59	± 8.03		45.47	± 5.70	
Creatinina (mg/dl)	Control	0.31	± 0.02	0.889	0.35	± 0.05	0.692
	Tratamiento	0.31	± 0.02		0.34	± 0.04	
Bilirubina (mg/dl)	Control	22.28	± 3.23	0.975	12.63	± 3.99	0.433
	Tratamiento	22.32	± 2.44		13.83	± 2.90	
ALAT (U/L)	Control	47.67	± 8.01	0.338	42.10	± 6.88	0.467
	Tratamiento	50.77	± 6.21		44.03	± 9.35	
ASAT (U/L)	Control	74.16	± 3.89	0.680	73.40	± 3.78	0.710
	Tratamiento	75.95	± 10.42		70.69	± 9.93	

Los valores se expresan como medias ± desviación estándar (S.D). Se hicieron comparaciones entre el grupo control y el grupo tratamiento.* valor de p <0,05 se considera una diferencia significativa.

patens posee una CL50 superior a 2000 mg / kg de peso corporal, en tanto que no representa alteraciones en el estado de salud general de los animales de experimentación; por tanto y según las categorías de toxicidad de la Guía 423 de la OCDE (2001), la sustancia ensayada

por vía oral se clasifica de uso seguro para el ser humano.

AGADECIMIENTOS

El financiamiento para este proyecto

fue proporcionado por el Consejo de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador. Agradecemos a Nuria Torres de ADACAD de la Universidad de El Salvador por su ayuda con el análisis estadístico de los resultados. Agradecemos mucho a Ricardo Miranda y Rafael Cedillos por sus observaciones para presentar el documento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abramov, A. Y., Zamaraeva, M. V., Hagelgans, A. I., Azimov, R. R., & Krasilnikov, O. V. (2001). Influence of plant terpenoids on the permeability of mitochondria and lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1512(1), 98–110.
- Ahmad, A., Pandurangan, A., Singh, N. & Ananad, P. (2012). A mini review on chemistry and biology of *Hamelia Patens* (Rubiaceae). *Pharmacognosy Journal*, 4(29), 1–4. doi:10.5530/pj.2012.29.1
- Akbarsha, M. A., & Murugaian, P. (2000). Aspects of the male reproductive toxicity/male antifertility property of andrographolide in albino rats: effect on the testis and the cauda epididymidal spermatozoa. *Phytotherapy research: PTR*, 14(6), 432–435. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200009\)14:6<432::aid-ptr622>3.0.co;2-i](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200009)14:6<432::aid-ptr622>3.0.co;2-i)
- Bouic, P.J. & Lamprecht, J.H., (1999). Plant sterols and sterolins: a review of their immunomodulating properties. *Altern Med Rev*. 4(3):170-7.
- CCAC (1998). Guide for the care and use of laboratory animals. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Canada. www.cvac.com
- Chauhan, P., & Singh, M. (2019). A Review on Medicinal Property of *Hamelia patens* Jacq. DOI: 10.21276/sajp.2019.8.5.6
- Esposito. M. & Gupta, M. (1986). Evaluación fotoquímica y farmacológica de *Hamelia patens* y *Terminalia catappa*. Centro de Investigaciones Farmacológicas de la Flora Panameña CIFLORPAN. Facultad de Farmacia, Universidad de Panamá, Panamá, Panamá.
- Esposito-avella, M., Brown, P., Tejeira, I., Buitrago, R., Barrios, L., Sanchez, C., ... Cedeño, J. (1985). Pharmacological screening of Panamanian medicinal plants. Part 1. *International Journal of Crude Drug Research*, 23(1), 17–25.
- González Torres, Yana, Scull Campos, Isidoro, Bada Barro, Ana M., Fuentes Morales, Dasha, González Navarro, Bárbara, Arteaga Pérez, María E., & Hernández Sosa, Osvaldo. (2006). Ensayo de toxicidad a dosis repetidas durante 28 días del extracto acuoso de *Cecropia peltata* L. (yagruma) en ratas Cenp: SPRD. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(2)
- Hsu, H.Y., Yang, J.J. & Lin, C.C. (1997). Effects of oleanolic acid and ursolic acid on inhibiting tumor growth and enhancing the recovery of hematopoietic system postirradiation in mice. *Cancer Lett*. 111(1-2):7-13.
- Lin, C. N., Lu, C. M., Cheng, M. K., Gan, K. H., & Won, S. J. (1990). The cytotoxic principles of *Solanum incanum*. *Journal of natural products*, 53(2), 513–516. <https://doi.org/10.1021/np50068a041>
- Liogier, H.A. (1990). Plantas medicinales de Puerto Rico y del Caribe. Iberoamericana de Ediciones, Inc. San Juan, PR. 566 p.
- Little, E.L., Woodbury, R.O. & Wadsworth F.H. (1974). Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Vol. 2. Agriculture Handbook 449. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC. 1,024 p.
- Merino M.H. (1998). Contribución al conocimiento etnobotánico en San Luis La Herradura, Departamento de La Paz, El Salvador. (Tesis para optar al grado de

- Licenciada en Biología). Universidad de El Salvador.
- Naithani. V., Haider. S. & Kakkar., P. (2001). Plant toxins: a historical, evolutionary, economic and toxicological account. *Journal of Ecophysiology & Occupational Health*, 1(3,4), 339-364.
- OECD (1995). Guideline for the testing of chemicals N° 407. Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents.
- OECD (2001) Guideline for testing of chemicals N° 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method.
- OMS. (2000). Pautas Generales para las Metodologías de Investigación y Evaluación de Medicina Tradicional. WHO/EDM/TRM/. Ginebra, Suiza.
- OMS. (2002). Estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional. 2002-2005. WHO/EDM/TRM/. Ginebra, Suiza.
- Ovesná, Z., Kozics, K., & Slamenová, D. (2006). Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells. *Mutation research*, 600(1-2), 131-137. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.03.008>
- Raintree Nutrition. (2001). Scarlet bush. Raintree Nutrition, Inc. <http://www.raintree.com/scarletbush.htm>. 3 p.
- Ramesh, T., Lee, K., Lee, H. W., & Kim, S. J. (2007). Acute oral toxicity study of *Asiasari radix* extract in mice. *International journal of toxicology*, 26(3), 247-251. <https://doi.org/10.1080/10915810701352887>
- Reyes-Chilpa, R., Rivera, J., Oropeza, M., Mendoza, P., Amekraz, B., Jankowski, C. & Campos, M. (2004). Methanol extracts of *Hamelia patens* containing oxindole alkaloids relax KCl-induced contraction in rat myometrium. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 27(10), 1617-1620.
- Rios, M.Y. & Aguilar-Guadarrama, B. (2006). Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). *Rev Cubana Plant Med*;11(1)
- Safayhi, H., & Sailer, E. R. (1997). Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. *Planta médica*, 63(6), 487-493. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957748>
- Zeinsteger. P., Acosta de Pérez. O., Teibler. P., Rios. E., & Jorge. N. (2001). Hepatotoxicidad de compuestos volátiles de *Senecio grisebachii* (primavera). *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas-Universidad Nacional del Nordeste*, Corrientes.