

## Ensayo de Viabilidad de Altas Dosis de Extractos de Plantas Medicinales Argentinas en Animales de Laboratorio

RAUL ALVAREZ<sup>1</sup>, ROBERTO DEL ALAMO<sup>1</sup>, MARTA SALDIVIA<sup>2</sup>,  
MARTA DELL'ORSO<sup>2</sup> y RUBEN V.D. RONDINA<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Investigación y Desarrollo, Roux-Ocefa S.A., Argentina; <sup>2</sup>Departamento de Botánica, Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología (INFYB), Argentina, <sup>3</sup>Instituto de la Química y Metabolismo del Fármaco (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junín 956, (1113) Buenos Aires, Argentina.

**RESUMEN.** Se prepararon y vehiculizaron extractos crudos de 17 plantas medicinales argentinas. Los mismos fueron ensayados en ratón por vía oral y parenteral en una única dosis de 40 y 20 veces la dosis diaria humana respectivamente. Su efecto fue seguido hasta 14 días después. Se confirmó la viabilidad de la administración de tan altas dosis bajo la forma de un extracto crudo y la posibilidad de seguir su efecto. Se observaron algunos probables efectos farmacológicos que fueron determinados de acuerdo al comportamiento de los animales.

**SUMMARY.** "Test for the viability of administering to lab animals high doses of crude extracts of Argentine medicinal plants". The study was conducted on crude ethanol extracts coming from 17 different plants. An unique dose (per os or else via i.p.) was given to mice; it was equivalent respectively to 40 and 20 times the daily human intake. The animals were observed for 14 days. The viability of all the extracts by using both viae was demonstrated. Some pharmacological effects were detected through the behavioral pattern of mice.

### INTRODUCCION

La Argentina es un país en que aún se usan numerosas plantas en medicina popular. Sin embargo hasta hoy no se había encarado un estudio acerca de la toxicidad potencial de los productos que utiliza la población para automedicarse. Es probable que una de las razones sea el bajo valor curricular que se atribuye a este tipo de ensayo. Otra es la necesidad de conformar un grupo multidisciplinario para llevar a cabo un ensayo adecuado, que se debe basar en una correcta colección, identificación y

conservación, una extracción y vehiculización que permita el ensayo en animales y un procedimiento cuidadoso para evaluar la actividad biológica. Un tercer y principal obstáculo es la necesidad de desarrollar una tecnología que permita suministrar altas dosis del producto en ensayo para salvar el bache existente entre la resistencia natural de un roedor y la fragilidad lógica del humano (que en general implica suministrar al animal una dosis al menos diez veces mayor que la utilizada por el hombre).

Sorprendentemente nos encontramos

\* To whom correspondence must be addressed 3.

**PALABRAS CLAVE:** Plantas medicinales argentinas; Viabilidad de extractos crudos; Toxicidad; Farmacología; Screening

**KEY WORDS:** Pharmacological screening; Medicinal plants; Crude extracts viability; Toxicity; Pharmacology; Screening

Género - Especie Familia	Parte	Nombres vulgares	Origen	Archivo FB. N°
<i>Aloysia triphilla</i> (L'Herit.) Britt. Verbenáceas	px	Cedrón, Hierba Luisa	Córdoba	1084
<i>Alternanthera pungens</i> H.B.K. Amarantáceas	px	Yerba del pollo	Córdoba	1086a
<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Persoon Compuestas	st lf	Carqueja, Carquejilla	Prov. Buenos Aires	1098
<i>Bauhinia candicans</i> Benth. Leguminosas	lf	Pezuña de vaca, Pata de vaca, Pata de buey	Córdoba (Valle Hermoso)	1091
<i>Capsella Bursa-pastoris</i> (L.) Medikus Crucíferas	px	Bolsa del pastor Zurrón del pastor Pan y Quesillo	Córdoba	1085
<i>Cecropia adenopus</i> Martius Moráceas	lf	Ambay, Amba-í Imbauba, Palo de Lija	Córdoba	1090
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist Compuestas	lf st	Yerba carnícera, Carnícera	Córdoba	1084
<i>Equisetum giganteum</i> L. Equisetáceas	st lf	Cola de caballo	Córdoba	1089
<i>Euphorbia serpens</i> H.B.K. var <i>montevidensis</i> (Bois.) Cabr. Euphorbiáceas	px	Yerba meona, Yerba de la golondrina, Lechetres	Córdoba	s/n
<i>Hedeoma multiflorum</i> Benth. Labiadas	px	Tomillo, Peperina de las lomas	Prov. Buenos Aires	s/n
<i>Heliotropium curvassavicum</i> L. var. <i>argentinum</i> Johnston Borragináceas	px	Heliotropo, Pata de gallo, Ciervo caá, Hierba del ciervo, Hierba de la víbora, Yuyo del chajá	Córdoba	1054
<i>Lippia integrifolia</i> (Griseb.) Hieron. Verbenáceas	lf fl	Incayuyo Té del Inca	Córdoba	1086
<i>Lippia turbinata</i> Griseb. Verbenáceas	lf fl	Poleo, Té del país	Córdoba	1086b
<i>Mintostachis mollis</i> (H.B.K.) Griseb. Labiadas	px	Peperina, Piperina	Córdoba	1088

(cont.)

Género - Especie Familia	Parte	Nombres vulgares	Origen	Archivo FB. N°
<i>Passiflora coerulea</i> L. Passifloráceas	px	Pasiflora, Pasionaria, Mburucuyá	Entre Ríos	1095
<i>Phyllanthus sellowianus</i> Mueller Euforbiáceas	st	Sarandí blanco	Entre Ríos (Villaguay)	s/n
<i>Stevia rebaudiana</i> (Bertonii) H. Compuestas	lf fl	Yerba dulce Caá-ehé Azúcar-caá	Misiones  (cultivada)	1094
<i>Tilia sp.</i> Tiliáceas	lf fl	Tilo, Tila	Desconocido	1097

Referencias: fl: flores; st: tallos; lf: hojas; r: raíces; px: parte aérea sin raíz

Tabla 1. Plantas medicinales ensayadas.

conformando un grupo en que conflúan las diversas especialidades mencionadas. Se disponía además del bustrón, un elemento recientemente diseñado por uno de nosotros <sup>1</sup> y que facilita la sencilla, económica y exhaustiva extracción del material. Además se había resuelto el problema de una adecuada vehiculización para administrar los extractos por vía enteral o parenteral <sup>2-3</sup>, incluyendo la posibilidad de preparar extractos viables y estables cuya concentración fuera cercana a un gramo de droga desecada por mililitro de solución. Ello facilitó la administración de las altas dosis necesarias, sensiblemente mayores a las utilizadas por el humano.

El trabajo consistió en el ensayo de viabilidad de extractos de diferentes plantas argentinas a muy altas dosis, tanto por vía oral como parenteral, utilizando el ratón como animal de experimentación.

#### PARTE EXPERIMENTAL

1. *Material vegetal.* Fue obtenido de droguerías o acopiadores, desecado al aire y clasificado con ayuda de los testigos disponibles en el Departamento de Botánica del

INFYB. Se tomó una muestra de cada droga, que fue identificada, numerada y depositada en dicho Departamento.

2. *Obtención del extracto.* El material pulverizado hasta polvo fino fue colocado en un bustrón y extraído por percolación continua en las siguientes condiciones:

- Se colocaron 11 g de material en el reservorio para la droga.
- Se colocaron 20 ml de etanol en el balón *ad hoc*.
- Se extrajo durante 16 horas en forma continua con un caudal de aproximadamente 40 ml por hora.
- Se descartó el marco.

3. *Cálculo del rendimiento.* Se tomó 1/10 del volumen del extracto obtenido y se llevó a sequedad para calcular el rendimiento en g de extracto seco por 100 g de material vegetal.

4. *Vehiculización.* Se disolvieron en el extracto no utilizado 5 g de povidona de peso molecular 27000 ("Kollidon 25", BASF). Se llevó a sequedad *in vacuo* por medio de

un evaporador rotativo. Se tomó el residuo con solución de cloruro de sodio al 8.5 p. 1000 (estéril) y se completó a 10 ml.

5. *Ensayo in vivo.* Se efectuaron ensayos por dos vías: parenteral y oral.

*Animales:* ratones macho swiss R-O de 20 a 30 g de peso.

*Dosis:* indicada en las tablas 3 y 4; en el caso de la vía oral se administró el doble de la utilizada por la vía parenteral.

*Número de animales:* para cada caso se utilizaron tres animales, que se compararon

con otros tres, empleados como control, a los que se administró una solución de povidona equivalente. En caso de registrarse alguna muerte se repitió el ensayo con otro número igual de animales y su correspondiente testigo.

*Evaluación.* Se evaluó el comportamiento de los animales de acuerdo con la referencia <sup>4</sup>, considerándose los puntos descriptos en la tabla 2.

6. Todos los pasos operativos fueron consignados en un protocolo *ad-hoc* que se muestra en la tabla 5.

- 
1. Observación del comportamiento
    - a) Actividad espontánea:
      - Actividad motora
      - Comportamiento anormal
    - b) Respuestas motoras afectivas:
      - Reacción al manipuleo
      - Tacto y fuga
      - Mordedura forzada
    - c) Respuestas senso-motoras:
      - Orientación visual
      - Reacción al dolor (pinzamiento de la cola)
      - Reflejo auricular
  2. Observación neurológica
    - Posición del cuerpo
    - Fuerza prensil
    - Trapecio
    - Reflejo de enderezamiento
    - Presencia de convulsiones, temblores, sacudidas
  3. Observación del sistema nervioso
    - Cierre parpebral
    - Exoftalmia
    - Lagrimación
    - Salivación
    - Piloerección
    - Diarrea (inhibición)
- 

Tabla 2. Evaluación tóxico-farmacológica efectuada sobre los animales ensayados.

## DISCUSION Y RESULTADOS

En la selección del material a analizar se optó por el que se encuentra a la venta en las droguerías o herboristerías por ser consecuencia de la mezcla de numerosos individuos y por ende más representativo del material promedio, y por ser el producto efectivamente utilizado por el público en medicina popular.

La nómina de las especies ensayadas se consigna en la tabla 1.

En cuanto al tipo de solución a ensayar, se descartó de entrada el uso de infusiones, ya que es materialmente imposible ensayarlas en dosis 20-40 veces superiores a las humanas, dado el enorme volumen involucrado. Se optó por ensayar extractos alcohólicos por ser el etanol unos de los disolventes más cercanos al agua en cuanto a polaridad pero con una volatilidad que permitiría una fácil operación de concentración del extracto.

El principal objetivo del ensayo consistió en ratificar la posibilidad de administrar dosis 20-40 veces mayores que las utilizadas por el hombre.

También se efectuó, a manera de ensayo, la evaluación tóxico-farmacológica de los extractos. La misma se llevó a cabo usando dos rutas diferentes, la intraperitoneal (I.P.) y la oral (P.O.). *La dosis usada en la segunda fue el doble que en la primera.* En todos los casos se usaron tres animales tratados con el extracto y tres animales con el disolvente. Cuando se lo creyó justificado se repitió el ensayo. Pese a que los resultados podrían ser poco significativos se prefirió utilizar un número bajo de animales por no ser la evaluación definitiva de su actividad el objetivo principal del trabajo.

La hipótesis de trabajo en cuanto a dosis a ensayar se basó en el supuesto uso por el hombre de dos litros diarios de una infusión de la droga desecada al 5 p. 100, lo que implica una dosis diaria de 1,43 g de

material vegetal por kg. de peso humano. El ensayo en ratón consistió en la administración en una *única dosis* por vía parenteral de unas diez veces la dosis diaria humana y por vía oral unas veinte veces la misma. Los resultados se consignan en las tablas 2 y 3 por considerarse de interés ilustrativo.

a) *Administración I.P.* La administración del disolvente por esta vía provocó en todos los animales el fenómeno de "streetching" (estiramiento, retorcijón), enmascarando cualquier efecto agudo en el comportamiento de los animales. Se contó el número de estiramientos por animal durante los 30 minutos posteriores a la administración. Este valor se usó como una estimación del posible efecto analgésico y/o anestésico local del producto en ensayo. Se anotaron también los trastornos groseros evidentes en ellos. Estos se dejaron en observación durante 14 días para anotar las posibles muertes y/o alteraciones.

b) *Administración P.O.* Se administró una dosis doble de la usada por vía i.p., equivalente a unos 30 g de droga vegetal desecada por kg de peso. Se tuvieron en cuenta las posibilidades de un efecto "first pass" en el hígado, como también la absorción probablemente *parcial* de los principios activos para decidir usar una dosis mayor por esta vía. En la evaluación de los efectos producidos por los extractos en los ratones no se quiso hacer una exhaustiva caracterización farmacológica de éstos. Sólo se pretendió indicar la aparición de diferencias con los testigos que puedan señalar la posible existencia de principios activos y sugerir ulteriores investigaciones.

La observación de los animales tratados y testigos se sistematizó usando un procedimiento similar al descrito por Irwin <sup>4</sup>, pero con un número menor de ítems que en el método original. Este consiste en una

Género - Especie Familia	Parte	Dosis (g/kg)	Muertes	Observaciones	Dolor testig/tratad.
<i>Aloysia triphilla</i> (L'Herit.) Britt. Verbenáceas	px	13	0/3	Los tratados están inactivos. A los 20' siguen quietos.	19 / 2,33
<i>Alternanthera pungens</i> H.B.K. Amarantáceas	px	14	0/3	Piloerección-excitación, respuesta disminuída al dolor, ptosis parpebral.	
<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Persoon Compuestas	st lf	14	1/3	Muerte a las 24 horas. Inactividad.	15 / 7,33
<i>Bauhinia candicans</i> Benth. Leguminosas	lf	14	0/3	Pérdida del equilibrio e inactividad.	24 / 15,3
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medikus Crucíferas	px	14	0/3	No se observan diferencias con los controles.	40,3 / 8
<i>Cecropia adenopus</i> Martius Moráceas	lf	14	0/3	Quedan inactivos, con piloerección. Luego se recuperan.	7 / 8,33
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist Compuestas	lf st	14	0/3	10' y 15' hay disminución de actividad en los tratados (act. higiénica), inmovilidad con rigidez, lomo arqueado.	2 / 14,6
<i>Equisetum giganteum</i> L. Equisetáceas	st lf	14	0/3	No se observan diferencias con los controles.	5 / 11,3
<i>Euphorbia serpens</i> H.B.K. var <i>montevicensis</i> (Bois.) Cabr. Euphorbiáceas	px	14	5/6	Tratados les cuesta caminar, inactivos, temblor corporal, ojos semicerrados.	13,6 / 28
<i>Hedeoma multiflorum</i> Benth. Labiadas	px	14	0/3	Piloerección, cierre parpebral parcial, temblores, inactividad.	13 / 7,66

(cont.)

Género - Especie Familia	Parte	Dosis (g/kg)	Muertes	Observaciones	Dolor testig./tratad.
<i>Heliotropium curassavicum</i> L. var. <i>argentinum</i> Johnston Borragináceas	px	14	0/3	Inactividad leve al inyectar.	
<i>Lippia integrifolia</i> (Griseb.) Hieron. Verbenáceas	lf fl	14	0/3	No se observan diferencias con los controles.	12,66 / 4,66
<i>Lippia turbinata</i> Griseb. Verbenáceas	lf fl	13	0/3	Inactividad. Pérdida de la estabilidad.	41,6 / 18,3
<i>Mintostachis mollis</i> (H.B.K.) Griseb. Labiadas	px	14	0/3	Inactividad, respiración agitada.	9,66 / 10,33
<i>Passiflora coerulea</i> L. Passifloráceas	px	14	0/3	No hay modificaciones visibles.	5 / 5,33
<i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) H. Compuestas	lf fl	14	4/6	Las muertes ocurrieron a las 24 horas.	8,66 / 5,66
<i>Tilia sp.</i> Tiliáceas	lf fl	14	0/3	Inhibición de la actividad motora	10,66 / 19

Referencias: fl: flores; st: tallos; lf: hojas; r: raíces; px: parte aérea sin raíz; /: no realizado.

N.B.: Dosis expresadas como el equivalente en g de droga vegetal desecada por kg de peso animal.

Dolor: Se expresa por los estiramientos por animal determinados durante 30 minutos después de la administración. A mayor número se supone mayor dolor.

Tabla 3. Ensayos por vía parenteral.

Género - Especie Familia	Parte	Dosis (g/kg)	Muertes	Observaciones
<i>Aloysia triphilla</i> (L'Herit.) Britt. Verbenáceas	px	26	0/3	Aumento de la actividad motora. Mayor reactividad al tacto. Exoftalmia. Disminución de la fuerza prensil.
<i>Alternanthera pungens</i> H.B.K. Amarantáceas	px	27	0/3	No se observan cambios. Respuesta disminuída al dolor.
<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Persoon Compuestas	st lf	28	0/3	Movilidad y reactividad aumentada. Incoordinación en el trapecio.
<i>Bauhinia candicans</i> Benth. Leguminosas	lf	28	0/3	Actividad motora aumentada. Movimientos circulares. Reflejo auricular aumentado. Reflejo corneal disminuído. Mordedura forzada disminuída. Fuerza prensil disminuída. Respuesta al dolor disminuída en 2 animales.
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medikus Crucíferas	px	29	0/3	Piloerección. Respuesta al dolor disminuída.
<i>Cecropia adenopus</i> Martius Moráceas	lf	18	0/3	Disminución a la respuesta al dolor en 2/3. Diarrea más intensa que en los testigos 2/3.
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist Compuestas	lf st	29	0/3	No se observan diferencias entre tratados y testigos.
<i>Equisetum giganteum</i> L. Equisetáceas	st lf	29	0/3	Respuesta al dolor disminuída. Reflejo corneal disminuído. No presentan diarrea.
<i>Euphorbia serpens</i> H.B.K. var. <i>montevicensis</i> (Bois.) Cabr. Euphorbiáceas	px	29	0/3	Andar vacilante. Tono muscular aumentado. Aumento de la mordedura forzada. Animales más reactivos a los estímulos. No presentan diarrea.

(cont.)

Género - Especie Familia	Parte	Dosis (g/kg)	Muertes	Observaciones
<i>Hedeoma multiflorum</i> Benth. Labiadas	px	29	0/3	Ligera piloerección. Inhibición de la diarrea inducida por el kollidon.
<i>Heliotropium curvassavicum</i> L. var. <i>argentinum</i> Johnston Borragináceas	px	29	0/3	No se observan diferencias entre tratados y testigos.
<i>Lippia integrifolia</i> (Griseb.) Hieron. Verbenáceas	lf fl	28	0/3	Los animales tratados presentaron disminución al estímulo doloroso. Diarrea: Testigos: 2/3 - Tratados: 1/3
<i>Lippia turbinata</i> Griseb. Verbenáceas	lf fl	26	0/3	No se observan diferencias entre tratados y testigos.
<i>Mintostachis mollis</i> (H.B.K.) Griseb. Labiadas	px	29	0/3	Presentan piloerección ligera. Respuesta disminuída al dolor. Reflejo parpebral disminuído. No presentan diarrea.
<i>Passiflora coerulea</i> L. Passifloráceas	px	29	0/3	En un ratón sobre 3 posible efecto sedante a la 1/2 hora.
<i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) H. Compuestas	lf fl	29	0/6	En 2 ratones disminuye la intensidad de la mordedura forzada.
<i>Tilia sp.</i> Tiliáceas	lf	29	0/3	Inhibición en la diarrea 2/3.

Referencias: fl: flores; st: tallos; lf: hojas; r: raíces; px: parte aérea sin raíz

N.B.: Dosis expresadas como el equivalente en g de droga vegetal desecada por kg de peso animal.

Tabla 4. Ensayos por vía oral.

---

**TOXICIDAD AGUDA EN RATON DE PLANTAS MEDICINALES ARGENTINAS**

Instituto de la Química y Metabolismo del Fármaco (UBA CONICET)

Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología

Roux-Ocefa S.A. (Departamento de Investigación y Desarrollo)

---

**MUESTRA SUMINISTRADA**

Nº archivo INFYB

Nombre científico

género y especie

familia

Sinonimia

Nombres vulgares

---

Parte(s) anatómica(s)

---

Cantidad suministrada: ..... g

fecha:

---

Procedencia

lugar de recolección: .....

marca: .....

---

**EXTRACCION Y VEHICULIZACION**

Cantidad tomada (g): ..... Etanol extractante (ml): .....

Tiempo de extracción continua (h): ..... Caudal horario (ml): .....

Extracto seco (g): ..... Rendimiento (%): .....

Kollidon 25 (g): ..... volumen final (ml): .....

---

Concentración final en g de droga desecada por ml de solución a ensayar: .....

---

**ENSAYO TOXICOLOGICO**

Animal: ratón Sexo: ..... Número: ..... Peso: (1) ..... (2) ..... (3) .....  
(4) ..... (5) ..... (6) ..... (7) ..... (8) ..... (9) ..... (10) .....

Vía: .....

Dosis en ml por animal: .....

Dosis en ml/kg peso: .....

---

Dosis en g de material desecado por kg de ratón: .....

---

**Resultado:** Comportamiento: .....

Número de muertes (N/TOTAL):

Tiempos extremos: .....

---

Tabla 5. Formulario de guía utilizado con cada una de las muestras ensayadas.

serie de maniobras que permiten evaluar las alteraciones en el comportamiento y la fisiología del animal. Las mismas se realizan en un orden preestablecido, que se repite en forma similar para todos los ensayos. En la tabla 2 se indican las evaluaciones realizadas. El orden que figura en ella no es el que se siguió en la evaluación. La misma se ordenó en forma tal de agilizar la observación y de reducir el stress en los animales. Las observaciones se hicieron a los 5, 30 y 120 minutos. En las tablas 3 y 4 se consignan, a modo de ejemplo, los resultados obtenidos.

En el curso de la investigación se pudo comprobar que los testigos tratados con el disolvente, que contenía povidona, siempre presentaban diarrea. Por ello se anotaron los casos en que el tratamiento inhibió la diarrea.

En los casos en que no hubo un 100% de supervivencia se repitió el ensayo sobre un número igual de animales. No se operó originalmente sobre un número mayor por cuanto se trataba de un ensayo preliminar en que persistirían dudas no sólo por el número de animales sino por la representatividad o no de cada muestra vegetal en cuanto a sus probables quimiotipos.

## CONCLUSION

De los ensayos se desprende que la metodología de preparación, concentración y administración de altas dosis de extractos vegetales es aceptable. Merece acotarse que, pese a las altas dosis ensayadas, equivalen-

tes hasta a cuarenta veces la dosis *diaria* habitual del humano, se ha detectado muerte en tres casos por vía parenteral (*Baccharis articulata* (1/3), *Euphorbia serpens* (5/6) y *Stevia rebaudiana* (4/6)) y en ninguno por vía oral. En el futuro, y aplicando la misma metodología a un mayor número de animales, deberá confirmarse la aparente baja toxicidad por vía oral de las especies en cuestión, que merecen ser estudiadas exhaustivamente desde el punto de vista de su aprovechamiento en la terapéutica racional. Todas las especies analizadas deberán ser pasibles, utilizando la misma técnica, de un estudio más extenso y cuidadoso para: a) ratificar su probable actividad y b) detectar actividades biológicas útiles que pudieran hallarse a otras dosis. *Aloysia triphylla*, *Baccharis articulata*, *Capsella bursa-pastoris*, *Lippia turbinata* y *Lippia integrifolia* merecerían ser seleccionadas para un estudio de actividad analgésica o anestésica, dados los resultados preliminares hallados (comportamiento).

**AGRADECIMIENTOS.** Se agradece al Dr. Julián A. Roux su desinteresado apoyo a esta investigación. Se agradece a la Dra. Silvia Domínguez y a las Srtas. Emilce Schiantarelli y Marta Senchuk por su colaboración en el ensayo farmacológico y a la Srta. Liliana Mosqueira por su colaboración en el procesador de palabras durante la preparación del manuscrito.

Este trabajo fue financiado en parte por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIDN° 3922801/85) otorgado a uno de nosotros).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bustamante, O., M. del C. Vaccaro y R.V.D. Rondina (1986) *Acta Farm. Bonaerense* 5: 11-4
2. Beggs, M., M. Viggiano, R.V.D. Rondina, J.D. Coussio y F.J.E. Stéfano (1984) *Rev. Invest. Agropecuar.* 19: 265-71
3. Vaccaro, M. del C., R.V.D. Rondina y J.D. Coussio (1984) *Acta Farm. Bonaerense* 3: 147-52
4. Irwin, S. (1968) *Psychopharmacologia (Berl)* 13: 222-57