

Compuestos Fenólicos y Triterpénicos aislados de *Phyllanthus sellowianus**

Oksana HNATYSZYN, Graciela E. FERRARO y Jorge D. COUSSIO

IQUIMEFA (Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco) UBA-CONICET.

Cátedra de Farmacognosia, Departamento de Farmacología,

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

Junín 956, (1113) Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN. *Phyllanthus sellowianus* Müller Arg. (*Euphorbiaceae*) es una especie vegetal ampliamente usada en medicina popular como hipoglucemiante y diurética. Del extracto hexánico de la corteza de las partes aéreas de esta planta se aisló un triterpeno pentacíclico: el phyllanthol (13-27-cicloursan-3- β -ol). Del extracto acetónico se aislaron los ácidos clorogénico y cafeico y un biflavonoide: la 4',4''di-O-metil cupressuflavona. Del extracto metanólico se aisló una flavanona: la 7-hidroxi flavanona. Del extracto acuoso, fraccionado con cloruro de metileno, se aislaron dos cumarinas: la isofraxidina (7-hidroxi-6,8-di-metoxi cumarina) y escopoletina (7-hidroxi-6-metoxi cumarina) y del remanente acuoso los azúcares: levulosa, sacarosa, glucosa y galactosa. Estos compuestos se identificaron mediante su análisis espectroscópico y en algunos casos a través de una comparación cromatográfica con muestras auténticas.

SUMMARY. "Phenolic and triterpenic Compounds from *Phyllanthus sellowianus*". *Phyllanthus sellowianus* Müller Arg. (*Euphorbiaceae*) is a species widely used in folk medicine as a hypoglycemic and diuretic agent. Using the stem bark of the aerial parts of this plant phyllanthol (13-27-cicloursan-3- β -ol) was isolated from the hexane extract. Chlorogenic and caffeic acids and 4',4''di-O-methyl cupressuflavone were isolated from the acetonic extract. From the methanolic extract 7-hydroxyflavanone was isolated. Two coumarins, isofraxidin (7-hydroxy-6,8-di-methoxy coumarin) and scopoletin (7-hydroxy-6-methoxy coumarin) were isolated from the dichloromethane extract. From the aqueous extract, levulose, sucrose, glucose, and galactose were isolated. These compounds were identified on the basis of spectroscopic analysis and some of them by chromatographic comparison with authentic samples.

PALABRAS CLAVE: *Phyllanthus sellowianus*, *Euphorbiaceae*, Ácidos cafeoil quínicos, Azúcares, Cumarinas, Flavonoides, Triterpenos.

KEY WORDS: *Phyllanthus sellowianus*, *Euphorbiaceae*, Caffeoilquinic acids, Coumarins, Flavonoids, Sugars, Triterpenoids.

* Tesis Doctoral en Farmacia, 1993.

** Autor a quien dirigir la correspondencia.

INTRODUCCION

La familia de las *Euforbiáceas* se compone de unos 300 géneros y alrededor de 6.000 especies. Los diferentes géneros están ampliamente distribuidos en el mundo y, si bien se encuentran principalmente en las regiones tropicales, su distribución por el territorio de nuestro país también es muy amplia. De los diversos géneros estudiados se han aislado diferentes metabolitos secundarios: polifenoles, flavonoides, biflavonoides, taninos, cumarinas, heterósidos cianogénéticos, antraquinonas, diterpenos, triterpenos, lignanos y alcaloides de núcleo aporfínico, piridínico, indólico, quinolínicico y tropánico ¹. Entre las mencionadas sustancias se encuentran algunas con diversas actividades biológicas: amebicida, antiespasmódica, antihipertensiva, anti-neoplásica, diurética, hipoglucemiante y antiinflamatoria ²⁻⁶.

Phyllanthus sellowianus Müller Arg. (*Euphorbiaceae*) conocido con el nombre vulgar de "sarandí blanco" o "sarandí leño", es un arbusto que mide aproximadamente 4 m de altura con ramas leñosas y ramitas superiores muy delgadas ⁷⁻⁹. El origen del nombre proviene del griego, donde *phyllos* significa hoja y *anthos*, flor. Esta característica, que las flores nacen de las hojas, se observa en algunas especies (Figura 1). Encontramos esta especie distribuida al Noreste de la República Argentina, Sur del Brasil, Paraguay y Uruguay, donde comúnmente crece a orillas de los ríos y arroyos, especialmente en el Delta del Río Paraná ^{10, 11}.

Las infusiones preparadas con los tallos y las hojas se usan en medicina popular como hipoglucemiantes y diuréticas ^{12, 13}. Su uso se encuentra tan ampliamente difundido que esta especie ha sido incorporada en la Farmacopea Nacional Argentina, Ed. VI, como monografía titulada "Sarandí blanco" ^{14,15}. Entre los primeros trabajos al respecto podemos citar a Rey ¹⁶, donde dice en su "Contribución al estudio del *Phyllanthus sellowianus*, sarandí blanco" que el cocimiento y la infusión de los tallos y de las hojas preparados al 3% P/V son utilizados en el tratamiento de la diabetes. Pero, además se conocen otros usos, como purgante, anti-séptico y antiespasmódico ^{17, 18}.

En el año 1928, Domínguez ¹⁹ determinó la presencia de oxidasas y la ausencia de glucósidos cianogénéticos, saponinas, alcaloides y peroxidasas. En el año 1972 Cristiani y Amorín ¹³ llevaron a cabo un estudio anátomo-morfológico de esta especie con el propósito de facilitar su reconocimiento. Más recientemente, Lurantos *et al.* ²⁰ realizaron un rápido análisis fitoquímico de la corteza y las partes aéreas.

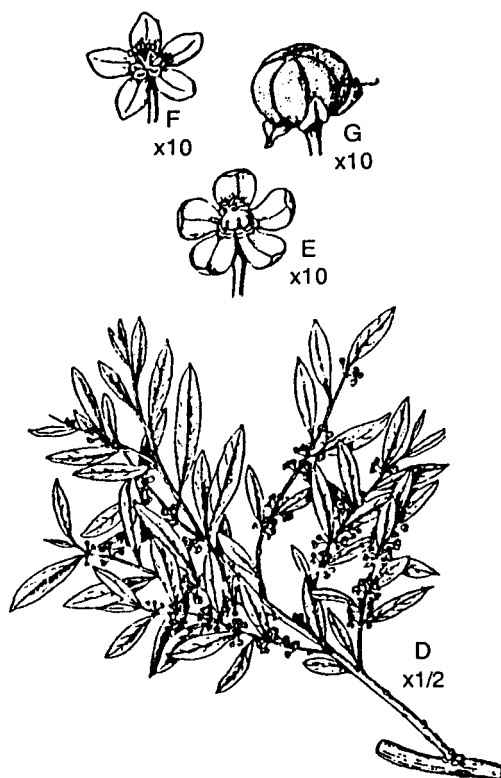


Figura 1. *Phyllanthus sellowianus* Müll. Arg.; D: rama en flor, E: flor femenina, F: flor masculina, G: fruto.

MATERIALES Y METODOS

El material vegetal estudiado fue recolectado en Concepción del Uruguay, Provincia de Entre Ríos, en el año 1988. La determinación taxonómica de *P. sellowianus* fue realizada por el Ing. G. Giberti. Un ejemplar de herbario se halla depositado en la Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Los puntos de fusión (pf) se determinaron en un aparato de punto de fusión Mettler FP/2. Los poderes rotatorios $[\alpha]_D^{25}$ se midieron en un polar metro digital Perkin-Elmer, modelo 141. Los espectros UV se obtuvieron en un espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV-240, con microprocesador y registrador PR-1. Los espectros IR se realizaron en un equipo Beckman Microspec en fase sólida utilizando pastillas de bromuro de potasio. Los espectros ^1H -RMN se registraron en un equipo Perkin Elmer R-12 (80 MHz) y los de ^{13}C -RMN fueron registrados en un equipo Varian FT-80 A (60 MHz). Los espectros de EM se realizaron a 70 eV en un espectrómetro de masas Varian Mat CH-7A con inserción directa.

El material vegetal (900 g, corteza de las ramas) seco y molido fue extraído en un extractor continuo tipo Soxhlet marca Quickfit con hexano. Al residuo obtenido luego de evaporar el solvente se lo denominó *Extracto hexánico* (8,50 g; 0,95%, los porcentajes se expresan con respecto a la planta seca).

Seguidamente se secó el material vegetal y se reextrajo con cloruro de metileno y al residuo obtenido por concentración del solvente se lo denominó *Extracto cloruro de metileno* (14,85 g; 1,65%).

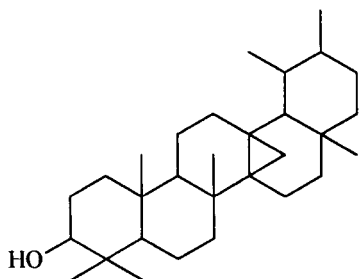
De la extracción con acetona se obtuvo, luego de evaporar el solvente, el *Extracto acetónico* (16,70 g; 1,85%).

Finalmente, se obtuvo de la extracción con metanol, luego de evaporar el solvente, el *Extracto metanólico* (44,20 g; 4,91%).

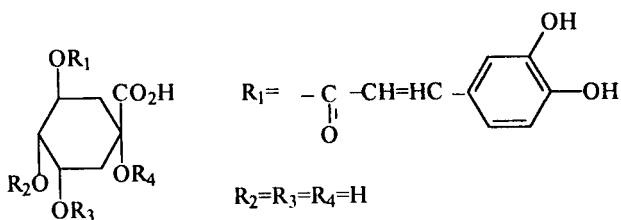
El extracto hexánico se fraccionó por cromatografía en columna de Silicagel H60 (desactivada con 10% de agua) eluída con benceno y benceno-acetato de etilo 1%, 5%, 10%, 20% y 50%. De esta manera se obtuvieron cinco fracciones que fueron purificadas por cromatografía en columna (Silicagel H60, con mezclas de hexano-acetato de etilo), obteniéndose una subfracción que por cromatografía en capa delgada presentaba una única mancha. La recristalización de esta subfracción en cloroformo-éter de petróleo (1:1) dio lugar al compuesto (I) (50 mg) identificado como:

Phyllanthol (13-27-cicloursan-3 β -ol)²¹: pf: 231-233 °C (cloroformo-éter de petróleo) (lit. 231-233 °C)²²; $[\alpha]_D^{25}$: + 43 °C (Cl₃CH) (lit.: $[\alpha]_D^{25}$: + 43°)²²; cromatografía en capa delgada (Silicagel 60 F₂₅₄; Cl₃CH-MeOH, 9:1; Revelador: H₂SO₄-EtOH, 1:1) Rf = 0,80 mancha violeta, (Silicagel HF₂₅₄; Bz-EtOAc, 7:3; Revelador H₂SO₄-EtOH, 1:1) Rf = 0,75 mancha violeta; UV λ máx MeOH (nm): 208 (lit.: UV λ máx MeOH (nm): por debajo de 210)²²; IR (cm⁻¹): 3390, 3050, 2950, 2870, 1460, 1380, 1015, 885. ^1H -RMN (80 MHz, Cl₃CD) ppm: 0,85 (6H, d, gem di-CH₃); 1,05 (3H, s, CH₃); 1,10 (3H, s, CH₃); 1,27 (3H, s, CH₃); 1,45 (3H, s, CH₃); 2,20 (2H, sistema AB, H-6); 3,00 (4H, dd, H-21-22); 3,87 (2H, sistema AB, H-27); 4,60 (1H, s, OH-3); EM m/e (%): 426 (M)⁺ (8); 342 (3); 205 (45); 187 (50); 176 (40); 134 (7); 114 (100); 84 (34).

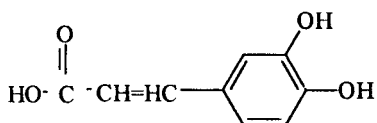
El extracto acetónico se sometió a una cromatografía en columna de Polyclar ATNE 60466, utilizando como solventes de elución Cl₂CH₂, Cl₂CH₂-MeOH 1%, 5%, 10%, 20%, 50% y MeOH. Se obtuvieron cuatro fracciones que fueron purificadas



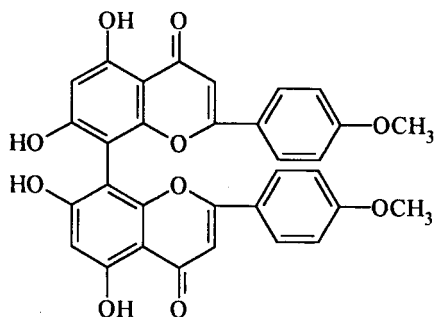
(I) *Phyllanthol*



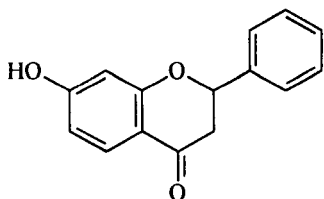
(II) *Acido clorogénico*



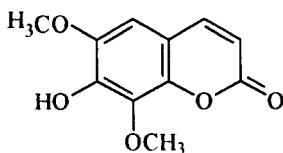
(III) *Acido cafeico*



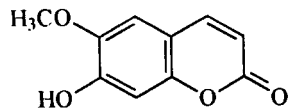
(IV) *4',4'''-di-O-metil cupressuflavona*



(V) *7-hidroxi flavanona*



(VI) *Isofraxidina*



(VII) *Escopoletina*

por cromatografía en columna. Para la segunda fracción se utilizó Sephadex LH20 y como solvente de elución, EtOH 50% ajustado a pH = 4. Se obtuvieron 12 mg de un compuesto puro (II) y 10 mg de un compuesto puro (III) que fueron identificados, por comparación con sustancias patrones, como ácido clorogénico y ácido cafeico, respectivamente. La tercera fracción fue purificada por cromatografía en columna de Sephadex LH₂₀ eluída con MeOH. Se obtuvieron 20 mg de un compuesto puro (IV) que fue identificado como:

*4', 4''' di-O-metil cupressuflavona*²³: pf: por encima de 300 °C (piridina-MeOH) (lit. 301-304 °C)²⁴; $[\alpha]_{25}^{D}$: + 65 (piridina-EtOH) (lit. $[\alpha]_{25}^{D}$: +65°)²⁴; cromatografía en capa delgada (Silicagel HF₂₅₄; Tolueno-Formiato de etilo-Acido fórmico, 3:4:3) R_f = 0,58 UV: naranja; UV/NH₃: naranja, (Silicagel HF₂₅₄; AcOEt-Butanona-AcH-H₂O), 5:3:1:1; Revelador: H₂SO₄-EtOH, 1:1) R_f = 0,60 UV: naranja; UV/NH₃: naranja; mancha amarilla; cromatografía sobre papel Whatman N° 1, ascendente; AcH 15%; Revelador: Cl₃Fe 5% en EtOH, R_f = 0,30 UV: amarillo; UV/NH₃: amarillo intenso; mancha verde pálido; UV λ máx MeOH (nm): 268, 290 (h), 300 (h), 332; NaMeO: 280, 298 (h), 374 (no descompone); AlCl₃: 236 (h), 260

(h), 279, 307, 336, 338; AlCl₃/HCl: 236 (h), 260 (h), 279, 307, 336, 388; NaAcO: 268, 280 (h), 300 (h), 330 (no descomponer); Na AcO/ H₃BO₃: 268, 280 (h), 300 (h), 330; IR (cm⁻¹): 3370, 1625; ¹H-RMN (80 MHz, DMSO-d₆) ppm: 13,87 (2H,s,OH-5,5"); 12,82 (2H,s,OH-7,7"); 8,15 (4H,d,H-2',6', 2""6"""); 7,20 (4H,d,H-3',5',3""5"""); 6,97 (2H,s,H-3,3"); 6,60 (2H,s,H-6,6"); 3,97 (6H,s,OCH₃-4'4"""); ¹³C-RMN (60 MHz, DMSO-d₆) ppm: 161,2 (C-2,2"); 105,0 (C-3,3"); 185,4 (C-4,4"); 158,7 (C-5,5"); 86,5 (C-6-6"); 160,0 (C-7,7"); 100,0 (C-8,8"); 157,5 (C-9,9"); 107,5 (C-10, 10"); 121,2 (C- 1',1"""); 131,2 (C-2',2""6', 6"""); 112,5 (C-3',3""5',5"""); 162,0 (C-4',4"""), 55,0 (C-4',4""-OCH₃); EM m/e (%): 566 (M)⁺ (4,5); 551 (M-CH₃) (1,2); 536 (1,2); 432 (A₁)⁺ (2,7); 283 (2,5); 149 (2,3); 135 (B₂)⁺ (8,9); 132 (B₁)⁺ (7,6); 57 (100).

El extracto metanólico se fraccionó por cromatografía en columna de Polyclar ATNE 60466, utilizando como solventes de elución Cl₂CH₂, Cl₂CH₂-MeOH 10%, 20%, 30% y finalmente MeOH. De las últimas fracciones eluidas de esta columna se obtuvo una flavanona (V) (15 mg), identificada como:

*7-hidroxi flavanona*²⁵; pf: 190-191 °C (Cl₃CH) (lit.: 190-191 °C)²⁶; cromatografía en capa delgada (Silicagel HF₂₅₄; AcOEt-Butanona-AcH-H₂O), 5:3:1:1; Revelador: H₂SO₄-EtOH, 1:1, R_f = 0,43 UV: celeste; cromatografía sobre papel Whatman N° 1; AcH 15%, R_f = 0,34 UV: celeste; UV/NH₃: celeste. UV λ máx MeOH (nm): 275, 340 (h); AlCl₃: 275, 360 (h); AlCl₃/HCl: 275, 360 (h); NaMeO: 280 (h) (descomponer), 346 (h); NaAcO: 279 (no descomponer), 350 (h); NaAcO/H₃BO₃: 279, 350 (h). (lit.: UV λ máx EtOH (nm): 275, 350 (h))²⁶; EM m/e (%): 240 (M)⁺ (100); 239 (M-1)⁺ (0,4); 163 (M-B)⁺ (92,0); 136 (A₁)⁺ (1,7); 103 (B₃)⁺ (65,5).

Por otro lado, sobre 70 g de material vegetal en polvo se realizó una extracción con agua recientemente hervida. El extracto así obtenido fue particionado con cloruro de metileno, obteniéndose luego de evaporado el solvente 0,1260 g de *Extracto cloruro de metileno*.

El extracto cloruro de metileno se sometió a una cromatografía sobre papel Whatman 3MM usando agua como solvente de corrida. Se obtuvieron tres bandas principales. La primera banda, de color celeste al UV 366 nm y amarillo brillante después de expuesta a vapores de NH₃, estaba impurificada. La segunda banda, de color celeste brillante al UV 366 nm y celeste brillante después de expuesta a vapores de NH₃, también estaba impurificada. Una purificación posterior de estas bandas por Sephadex LH-20 utilizando hexano, hexano-CH₂Cl₂ 20%, 40%, 50% y CH₂Cl₂ dio lugar a la obtención de un compuesto (VI) (15 mg) identificado como:

*Isofraxidina: 7-hidroxi-6,8-dimetoxi cumarina*²⁷; pf: 146-148 °C (lit.: 146-148 °C)²⁸; cromatografía en capa delgada (Silicagel 60 F₂₅₄; C₆H₆-Me₂CO, 3:1) R_f = 0,51 UV: celeste brillante; UV/NH₃: amarillo brillante²⁸; cromatografía sobre papel Whatman N° 1, ascendente; Isopropanol-AcH-H₂O, 5:0, 1:95; R_f = 0,54 UV: celeste brillante; UV/NH₃: amarillo brillante²⁹. UV λ máx MeOH (nm): 214, 224, 342; NaMeO: 214, 244, 400; IR (cm⁻¹): 3350, 1720, 1625, 1540, 1250, 1035, 825; ¹H-RMN (80 MHz, Cl₃CD) ppm: 3,94 (3H,s,6-OCH₃); 4,09 (3H,s,8-OCH₃); 6,25 (1H,dJ = 9,3 Hz, 3-H); 7,57 (1H,dJ = 9,3 Hz,4-H); 6,65 (1H,s,5-H); 6,76 (1H,s,ancho, 7-OH); EM m/e (%): 222 (M)⁺ (100); 207 (15,1); 194 (12,2); 179 (5,5); 151 (5,2); 123 (5,1)

y un compuesto (VIII) (75 mg) identificado como:

*Escopoletina: 7-hidroxi-6-metoxi cumarina*²⁷; pf: 204-208 °C (Cl₃CH-N hexano) (lit.: 204 °C)³⁰; cromatografía en capa delgada (Silicagel 60 F₂₅₄; C₆H₆-Me₂CO, 7:3) R_f = 0,32 UV: celeste brillante; UV/NH₃: celeste brillante³¹; (Silicagel 60 F₂₅₄; Cl₃CH-MeOH), 95:5) R_f = 0,50 UV: celeste brillante; UV/NH₃: celeste brillante; UV λ máx MeOH (nm): 228, 252 (h), 260 (h), 295, 344; NaMeO: 238, 276 (h), 298 (h), 390; IR (cm⁻¹): 3505, 1720, 1615, 1578,

1465, 870; ¹H-RMN (80 MHz, Cl₃CD) ppm: 3,96 (3H,s,6-OCH₃); 6,28 (1H,d,J= 9,3Hz, 3-H); 7,61 (1H,d,J= 9,3Hz,4-H); 6,85 (1H,s,5-H); 6,93 (1H,s,8-H); 6,15 (1H,s ancho, 7-OH); EM m/e (%): 192 (M)⁺ (77,4); 177 (64,8); 164 (36,1); 149 (100); 121 (41); 93 (11,4).

Para la identificación y determinación del contenido de azúcares se preparó un extracto con 100 g de material vegetal en polvo, sometiendo al mismo a reflujo durante 14 horas, usando como solvente de extracción etanol al 70%. El extractivo hidroalcohólico se filtró. El filtrado se concentró, se diluyó luego con agua y se lavó con tres porciones de 15 ml de éter etílico para purificarlo. La solución acuosa se llevó a sequedad, obteniéndose un rendimiento de extracto seco del 24,58 % P/P. La determinación cuantitativa de los azúcares se realizó por cromatografía gas-líquido (GLC) utilizando una alícuota del extracto, arabinosa como estándar interno y Trisil Z como agente silicante. Las condiciones de operación para la cromatografía gaseosa fueron las siguientes: Cromatógrafo gaseoso: Shimadzu GC-R1A; Columna: OV 17 metal 1% ss Chromosorb WAW 8-100 mesh; Temperatura de la columna: inicial 150 °C, final 335 °C, relación 10 °C /min; Temperatura del inyector: 345 °C; Temperatura del detector: 345 °C; Flujo gas carrier N₂: 30 ml/min. Se identificaron los siguientes azúcares: Levulosa (7,50%), Sacarosa (7,50%), Glucosa (1,77%) y Galactosa (0,72%)²⁵.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El phyllanthol fue identificado a través de sus espectros ultravioleta, infrarrojo, resonancia magnética nuclear y de masas²¹. Este triterpeno pentacíclico natural que había sido aislado previamente de *Phyllanthus engleri*²² y de *Phyllanthus acidus*³² es el único miembro de la clase de los triterpenos pentacíclicos que contiene un anillo ciclo propano en su estructura molecular. Por otro lado, cabe señalar que el análisis estructural de este compuesto no había sido descrito en la literatura con anterioridad a nuestro trabajo citado²¹.

La identificación de los ácidos clorogénico y cafeico se hizo por comparación cromatográfica con muestras patrones y mediante el estudio de los espectros ultravioleta e infrarrojo. Para confirmar la presencia de estos compuestos se propuso un método por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) utilizando muestras patrones de ácido clorogénico y cafeico. Estos compuestos han sido aislados reiteradamente de diversas fuentes naturales, entre ellos el café, el té y la yerba mate^{33,34}.

En cuanto a la 4',4'' di-O-metil cupressuflavona, ésta ha sido aislada de *Araucaria cunninghamii* y *Araucaria cookii* pertenecientes a la familia *Araucariaceae*²⁴ y es la primera vez que aparece en la familia *Euphorbiaceae*. Su estructura determinó mediante el estudio de sus espectros ultravioleta, infrarrojo, de resonancia nuclear magnética y de masas²³. Cabe destacar que la discusión del análisis estructural de este compuesto no había sido descrita anteriormente en la literatura.

La 7-hidroxiflavanona fue identificada a través de sus espectros ultravioleta y de masas²⁵. Este compuesto había sido aislado en la naturaleza a partir de *Platymiscium praecox*, especie perteneciente a la familia *Leguminosae*²⁶ y es la primera vez que aparece en la familia *Euphorbiaceae*.

En cuanto a las cumarinas, isofraxidina y escopoletina, su identificación se hizo a través del estudio de sus espectros ultravioleta, resonancia magnética nuclear y de masas ²⁷. La isofraxidina habéa sido aislada en 1980 de *Micrandra elata* (*Euphorbiaceae*) ²⁸, siendo esta cumarina aparentemente común en la familia *Euphorbiaceae*. La escopoletina ha sido aislada de diferentes fuentes naturales, especialmente del tabaco y de la papa, pertenecientes a la familia *Solanaceae*.

A pesar de los extensos trabajos anatómo-morfológicos, sorprende la escasa información sobre las estructuras químicas presentes en esta especie. Por lo tanto, se realizó este trabajo de investigación con el propósito de encarar un profundo estudio fitoquímico del *Phyllanthus sellowianus* para contribuir al conocimiento de nuestra flora medicinal autóctona.

Con estos datos fitoquímicos, se prosigue actualmente con el estudio de esta especie a través de ensayos biológicos realizados con diferentes extractos con el propósito de validar el uso popular de esta planta medicinal.

Agradecimientos. Al Ing. G. Giberti por la recolección y determinación taxonómica del material vegetal; al Prof. Dr. B. Frydman por la realización de los espectros de resonancia magnética nuclear y al Prof. Dr. A.L. Bandoni por la realización de los cromatogramas gas-líquido. Este trabajo fue financiado en parte por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Trease, G.E. & W.C. Evans (1986) "*Tratado de Farmacognosia*", 12a. Ed., Editorial Interamericana, EMALSA S.A., Madrid, págs. 205-6
2. Kokwaro, J.O. (1976) "*Medicinal plants of East Africa*", East African Literature Bureau, Kampala, Nairobi
3. Calixto, J.B., R.A. Yunes, O.G. Miguel & G.A. Rae (1986) *Planta Medica* **6**: 444-5
4. Hukeri, V.I., G.A. Kalyani & H.K. Kakrani (1988) *Fitoterapia* **59**: 68-70
5. Tanaka, R. & S. Matsunaga (1988) *Phytochemistry* **27**: 2273-7
6. Ueno, H., S. Horie, Y. Nishi, H. Shogawa, M. Kawasaki, S. Suzuki, T. Hayashi, M. Arisawa, M. Shimizu, M. Yoshizaki, N. Morita, L.H. Berganza, E. Ferro & I. Basualdo (1988) *J. Nat. Prod.* **51**: 357-9
7. Hieronymus, J. (1882) "*Plantae Diaphoricae, Florae Argentinae*", Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Córdoba, Tomo IV, Buenos Aires, pág. 446
8. Ratera, E.L. & M.O. Ratera (1980) "*Plantas de la Flora Argentina empleadas en medicina popular*", Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, págs. 143-4
9. Cabrera, A.L. (1965) "*Flora de la Provincia de Buenos Aires*", Colección Científica, INTA, Buenos Aires, págs. 72-4
10. Lorentz, P.G. (1947) "*La Vegetación del Nordeste de la Provincia de Entre Ríos*", 2a. Ed., Paraná, pág. 55
11. Sorarú, S.B. y A.L. Bandoni (1978) "*Plantas de la Medicina Popular*", Ed. Albatros S.R.L., Buenos Aires, págs. 53-5
12. Bandoni, A.J., S.A. Celsi y F. Cignoli (1951) *Rev. Farm.* **93**: 64
13. Cristiani, L.Q. y J.L. Amorín (1972) *Rev. Farm.* **114**: 3
14. *Farmacopea Nacional Argentina* (1978), 6a. Ed., pág.810
15. Amorín, J.L. (1980) "*Guía Taxonómica con plantas de interés Farmacéutico*". Parte II, *Rev. INFYB* **3(7)**: 101

16. Rey, F.P. (1943) "*Libro de Oro*" de Juan A. Sánchez, pág. 203-9
17. Parker, J. (1949) "*Mil Plantas Medicinales*", Colección de Obras Científicas, Buenos Aires, pág. 208
18. Tempesta, M.S., D.G. Corley, J.A. Bentler, C.J. Metral, R.A. Yunes, C.A. Giacomozzi & J.B. Calixto (1988) *J. Nat. Prod.* **51**: 617-8
19. Domínguez, J.A. (1928) "*Contribuciones a la Materia Médica Argentina*", Buenos Aires, págs. 103 y 158-9
20. Lurantos, M.H.A., J.E. Medina, R.V.D. Rondina & J.D. Coussio (1982) *Rev. de Investigaciones Agropecuarias*, XVII, INTA, págs. 1-12
21. Hnatyszyn, O. & G. Ferraro (1985) *Planta Medica* **5**: 467
22. Alberman, K.B. & F.B. Kipping (1951) *J. Chem. Soc.*, 2296-9
23. Hnatyszyn, O., G. Ferraro & J.D. Coussio (1987) *J. Nat. Prod.* **50**: 1156-7
24. Ilyas, M., J.N. Usmani, S.P. Bhatnagar, W. Rahman & A. Pelter (1968) *Tetrahedron Lett.* **53**: 5515
25. Hnatyszyn, O., G. Ferraro & J.D. Coussio (1995) *Fitoterapia* **66**: 543
26. Braga de Oliveira, A., L.G. Fonseca e Silva & O.R. Gottlieb (1972) *Phytochemistry* **11**: 3515-9
27. Hnatyszyn, O., G. Ferraro & J.D. Coussio (1993) *Fitoterapia* **64**: 556
28. Borris, R.P., G.A. Cordell & N.R. Farnsworth (1980) *J. Nat. Prod.* **43**: 641-3
29. Nieschulz, O. & P. Schmersahl (1966) *Planta Medica* **14**: 179-82
30. Head, F.S.H. & A. Robertson (1931) *J. Chem. Soc.* 2296-9
31. Wagner, H. & S. Blatt (1975) *Phytochemistry* **14**: 2061-4
32. Sengupta, P. & J. Mukhopadhyay (1966) *Phytochemistry* **5**: 531-4
33. Barnes, H.M., J.R. Feldman & W.V. White (1950) *J. Am. Chem. Soc.* **72**: 4178-9
34. Scarpati, M.L. & P. Esposito (1963) *Tetrahedron Letters* **18**: 1147-51