

Actividad citotóxica, antioxidante y antihemolítica del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

Ramiro Quintanilla-Licea¹, Nancy Edith Rodríguez-Garza¹, Ángel David Torres-Hernández, María Julia Verde-Star¹, Joel Horacio Elizondo-Luévano^{1,*}

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N.L., Monterrey 66455, México; * Correspondencia: joel.elizondolv@uanl.edu.mx

RESUMEN

Cymbopogon citratus es una planta aromática de amplio uso como infusión a nivel mundial que destaca por sus efectos farmacológicos y biológicos. El objetivo de este artículo es investigar la actividad citotóxica, antioxidante y antihemolítica del extracto metanólico de *C. citratus*. El extracto se obtuvo por extracción con metanol absoluto utilizando un equipo Soxhlet durante 48 h y al cual se le realizaron pruebas fitoquímicas convencionales; la actividad citotóxica se evaluó mediante la técnica colorimétrica del MTT a una absorbancia (Abs) de 570 nm. Además, se evaluó el porcentaje de actividad antioxidante mediante el ensayo de radicales libres DPPH (Abs = 517 nm) y la capacidad de proteger eritrocitos expuestos frente al radical oxidante azo (AAPH, Abs = 540 nm) que provoca la oxidación de las membranas eritrocitarias. El análisis fitoquímico reveló la presencia en el extracto de *C. citratus* de cumarinas, esteroides y flavonoides. El extracto posee actividad citotóxica considerable frente a la línea de linfoma L5178Y-R (IC₅₀ = 209.2 µg/ml), no es tóxico en eritrocitos humanos (IC₅₀ = 607.0 µg/ml), además presenta una alta capacidad protectora de los eritrocitos frente al AAPH (IC₅₀ = 7.0 µg/ml). Estos resultados demuestran los potenciales efectos biológicos de *C. citratus* en ensayos in-vitro. En lo sucesivo, nuestro equipo de laboratorio seguirá trabajando para aislar e identificar los compuestos presentes en el extracto de *C. citratus* responsables de los efectos citotóxicos observados, con el fin de encontrar más alternativas para el tratamiento del cáncer.

Palabras clave: Citotoxicidad, Plantas medicinales mexicanas, *Cymbopogon citratus*, Zacate limón.

ABSTRACT

Cymbopogon citratus is an aromatic plant widely used as an infusion worldwide that stands out for its pharmacological and biological effects. The aim of this paper is to investigate the cytotoxic, antioxidant, and antihemolytic activity of the methanolic extract of *C. citratus*. The extract was obtained by extraction with absolute methanol in Soxhlet equipment for 48 h; conventional phytochemical tests were performed; the cytotoxic activity was evaluated by MTT colorimetric technique at 570 nm. In addition, the percentage of antioxidant activity was evaluated by the DPPH (Abs = 517 nm) free radical assay and the ability to protect exposed erythrocytes against the azo radical oxidant (AAPH, Abs = 540 nm), which causes oxidation of erythrocyte membranes. The main natural products found in *C. citratus* extract were coumarins, sterols, and flavonoids. The extract possesses considerable cytotoxic activity against lymphoma line L5178Y-R (IC₅₀ = 209.2 µg/ml), is not toxic in human erythrocytes (IC₅₀ = 607.0 µg/ml), and shows a high erythrocyte protective capacity against AAPH (IC₅₀ = 7.0 µg/ml). These results demonstrate the potential biological effects of *C. citratus* in in-vitro assays. Henceforth, our laboratory

957

team will continue to work to isolate and identify the bioactive compounds from *C. citratus* extract with cytotoxic effects to find more alternatives for cancer treatment.

Key words: Cytotoxicity, Mexican medicinal plants, *Cymbopogon citratus*, Lemongrass.

INTRODUCCIÓN

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf., comúnmente llamado zacate limón o té zacate limón, es una planta aromática perenne de la familia de las gramíneas y presente en países tropicales y subtropicales (Ekpenyong, Akpan and Nyoh, 2015). El consumo de infusiones del zacate limón es común en varios países desde que se descubrió el valor medicinal de la planta a lo largo de la historia (De Oliveira-E Silva *et al.*, 2022). Diversos estudios han demostrado que algunos componentes de *C. citratus* presentan efectos farmacológicos y biológicos relevantes (Vázquez-Briones and Guerrero-Beltrán, 2017). Entre las actividades biológicas de esta planta se encuentran la actividad antioxidante, neuroprotectora, antimicrobiana, antitumoral y anticancerígena (Ekpenyong, Akpan and Nyoh, 2015). En el grupo de trabajo del Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas (FCB) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) se cuenta con amplia experiencia en la extracción y evaluación de sustancias bioactivas aisladas a partir de las plantas con actividad biológica, lo cual está respaldado por una amplia cantidad de trabajos publicados (Gomez-Flores *et al.*, 2009; Molina-Garza *et al.*, 2014; Bazaldúa-Rodríguez *et al.*, 2021). El objetivo principal de esta investigación está enfocado en presentar los efectos citotóxicos en ensayos *in-vitro* que posee el zacate limón frente a células tumorales, así como su acción antioxidante y antihemolítica en eritrocitos humanos, lo cual brindara una mejor perspectiva sobre su uso seguro, así como los posibles efectos benéficos del mismo.

METODOLOGÍA

Reactivos: Todos los solventes y reactivos utilizados en esta investigación fueron de grado analítico. 2,2'-azo-bis(2-amidino-propano) dihidrocloruro (AAPH), Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT), antibióticos (Penicilina/Estreptomicina/Anfotericina B), sulfóxido de dimetilo (DMSO), medios de cultivo (DMEM y RPMI-1640), metanol absoluto (MeOH), vitamina C (Vit. C) fueron adquiridos en Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

Extracción y pruebas fitoquímicas: La planta utilizada en esta investigación fue previamente identificada por el curador del Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL a la cual se le asignó un vócher de identificación correspondiente (FCB-UNL-30644). La extracción se realizó con MeOH. Para ello, 50 g de material vegetal seco fueron sometidos a extracción con 500 ml de MeOH, utilizando un equipo Soxhlet durante 48 h para su extracción continua (Quintanilla-Licea *et al.*, 2014). Finalmente, los extractos fueron filtrados, rotaevaporados y almacenados (4 °C) en frascos ámbar hasta su posterior uso (Cárdenas-Garza *et al.*, 2021). Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento de extracción (1): $\text{Rendimiento} = (\text{Peso final} / \text{Peso Inicial}) \times 100$. Se realizaron las siguientes pruebas fitoquímicas para determinar la presencia o ausencia de grupos funcionales: KMnO_4 (insaturaciones), Antrona (hidratos de carbono), Lieberman-Buchard (esteroles), Shinoda (flavonoides), NaOH (cumarinas), Baljet (sesquiterpenlactonas), saponinas, ácido sulfúrico (quinonas), cloruro férrico (taninos) y Dragendorff (alcaloides) (Rodríguez-Garza *et al.*, 2023).

Actividad citotóxica: Se evaluaron dos líneas celulares con capacidad adherente las cuales fueron carcinoma hepatocelular humano (HEP-G2) y células de riñón del mono verde africano (VERO) y dos líneas celulares no adherentes las cuales corresponden a células de linfoma murino (L5178Y-R) y células mononucleares de sangre

periférica humana (PBMC). Las células adherentes se incubaron en el medio de cultivo DMEM, y las no adherentes se mantuvieron en medio de cultivo RPMI-1640. En ambos casos los medios fueron suplementados con 10 % (v/v) de suero fetal bovino suplementado con 1% (v/v) de antibiótico/antimicótico (Elizondo-Luévano *et al.*, 2022). Las células se cultivaron a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO₂ y 95% de aire. Antes de evaluar los extractos, las células se incubaron durante 24 h para su adaptación, luego se evaluaron los extractos en concentraciones de 50, 100, 250 y 500 µg/ml en un volumen final de 200 µl en una microplaca transparente de 96 pozos con fondo cóncavo y las células se incubaron durante 48 h. El control positivo (C+) consistió en el fármaco antineoplásico sulfato de vincristina (0.05 µg/ml) y como negativo (C-) se utilizó medio de cultivo sin tratar. La viabilidad de las células se determinó mediante un ensayo de reducción colorimétrica añadiendo 15 µl de MTT (concentración final de 500 µg/ml) e incubando durante 3.5 h (Ramírez-Villalobos *et al.*, 2021). Posteriormente, se disolvieron los cristales de formazán con 80 µl de DMSO y se midieron las absorbancias (Abs) a 570 nm en un lector de microplacas (MULTISKAN GO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). La viabilidad celular se determinó mediante la siguiente fórmula (2): % de viabilidad celular = (Abs Tratamiento / Abs C-) × 100. Los valores de IC₅₀ se utilizaron para determinar el índice de Selectividad (IS) del extracto (Romero-Arguelles *et al.*, 2022). El IS se calculó con la siguiente fórmula (3) IS = IC₅₀ en células normales / IC₅₀ en células tumorales.

Actividad antioxidante: La actividad antioxidante se determinó mediante el método de reducción del radical DPPH (150 µM en MeOH) para lo cual, los tratamientos fueron evaluados a concentraciones de 100 a 1,000 µg/ml, e incubados a 37°C (30 min en ausencia de luz) y se realizó la medición de la Abs de cada tratamiento a 517 nm (Rodríguez-Magaña *et al.*, 2019). Como control positivo (C+), se utilizó una solución de Vit. C y como blanco (Bco) MeOH; el porcentaje de reducción del DPPH se calculó con la siguiente fórmula (4): % Reducción = (Abs Tratamiento / Abs Bco) × 100.

Actividad hemolítica y antihemolítica: Para este ensayo se utilizó la metodología reportada por Elizondo *et al.*, en 2020 (Elizondo-Luévano *et al.*, 2020), en eritrocitos. Para la evaluación de la hemólisis de los eritrocitos, la suspensión preparada previamente se incubó (30 min / 37 °C, en ausencia de luz) con diferentes concentraciones de los extractos, así como de soluciones testigo (50 a 1,000 µg/ml). Como C- se utilizó eritrocitos sin tratamiento y como C+ eritrocitos con agua destilada estéril (para producir la hemólisis osmótica). Para la evaluación del efecto antihemolítico, a los tratamientos se les añadió el reactivo AAPH (150 mM en PBS) más la suspensión de eritrocitos y se incubaron a 5 h a 200 rpm utilizando (37 °C) una incubadora de y en ausencia de luz. El control negativo (C-), consistió en PBS con la suspensión de eritrocitos sin añadir AAPH y como control positivo (C+), la suspensión de eritrocitos con AAPH. En ambos casos después del tiempo de incubación, los tratamientos se centrifugaron (13,000 rpm / 5 min / 4 °C), se tomaron 200 µl del sobrenadante y se pusieron en una microplaca transparente de 96 pozos con fondo plano la cual fue leída en un lector de microplacas 540 nm de Abs. El porcentaje de hemólisis y actividad antihemolítica se determinaron con las siguientes formulas (5, 6): % hemólisis = [(Abs Tratamiento – Abs C-) / (Abs C+ – Abs C-)] × 100, % de actividad antihemolítica = 100 - [(Abs Tratamiento – Abs C-) / (Abs C+ – Abs C-)] × 100].

Análisis estadístico: Todos los ensayos se realizaron por triplicado en al menos tres repeticiones. Se usó la prueba Anova de una vía para determinar si existía diferencia significativa entre los tratamientos y la prueba Tukey para determinar la diferencia entre las medias de los tratamientos. La concentración inhibitoria media (IC₅₀) se determinó mediante la prueba de Probit. Los análisis se realizaron con el software SPSS, versión 23.0 (SPSS, Inc. USA). Las diferencias se consideraron significativas a $P < 0.05$, con un intervalo de confianza del 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas fitoquímicas

La extracción de compuestos específicos de las plantas es una estrategia utilizada, con el fin de encontrar más alternativas menos tóxicas para el tratamiento de distintas enfermedades o agentes patógenos (Quintanilla-Licea *et al.*, 2020). La tabla 1 muestra los resultados de las pruebas fitoquímicas y el rendimiento de extracción obtenido. El rendimiento de extracción fue del 23.0 %, el extracto metanólico dio negativo para las pruebas de sesquiterpenlactonas, alcaloides, quinonas, saponinas y taninos. Una técnica de extracción adecuada ayuda a aumentar el rendimiento de la extracción y a evitar la degradación de los metabolitos extraídos, lo que permite extraer fitocomponentes de mayor calidad y en mayor volumen, por lo cual normalmente, la extracción Soxhlet es la elección adecuada (Ngamwonglumlert, Devahastin and Chiewchan, 2017).

Tabla 1. Análisis fitoquímico del extracto metanólico de *C. citratus*

Prueba fitoquímica	
Insaturaciones	+
Carbohidratos	+
Sesquiterpenlactonas	-
Cumarinas	+
Alcaloides	-
Esteroles	+
Quinonas	-
Saponinas	-
Flavonoides	+
Taninos	-
% de rendimiento	23.0
+ Reacción positiva., - Reacción negativa.	

Actividad citotóxica

La actividad citotóxica se determinó en 2 líneas celulares tumorales y en 2 líneas celulares normales. En la figura 1 se aprecia la viabilidad celular la cual fue dependiente a la dosis, conforme aumenta la dosis del extracto disminuye la viabilidad de las células no tumorales en ambos casos y dentro de la misma línea celular, no hay diferencia ($P > 0.05$) entre las concentraciones de 250 y 500 $\mu\text{g/ml}$. En la figura 2 se observa que el extracto no presentó actividad citotóxica frente a las células HEP-G2, pues entre las concentraciones de 100 a 500 $\mu\text{g/ml}$ no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$), sin embargo, frente a las células de linfoma L5178Y-R sí hubo diferencia significativa entre las concentraciones ($P < 0.05$), lo que indica un efecto antineoplásico, además se observó una toxicidad selectiva en células tumorales humanas (Guillén-Meléndez *et al.*, 2021).

Figura 1. Viabilidad de las células no tumorales

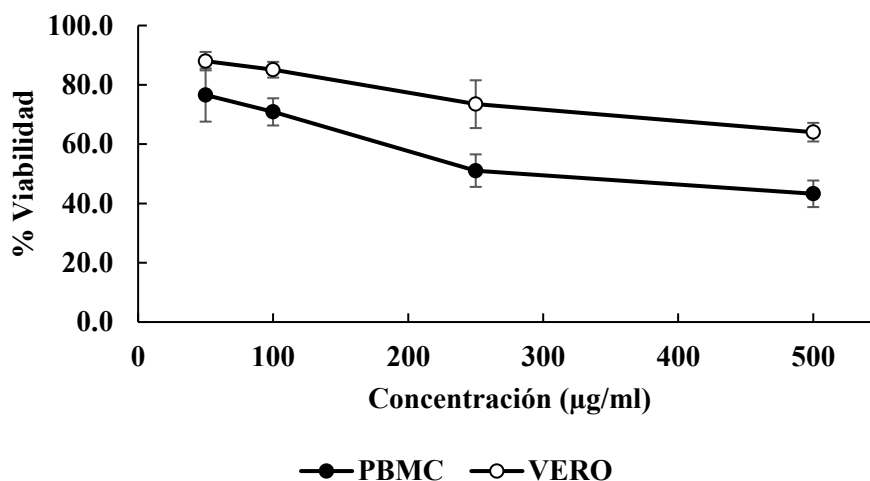


Figura 2. Viabilidad de las células tumorales

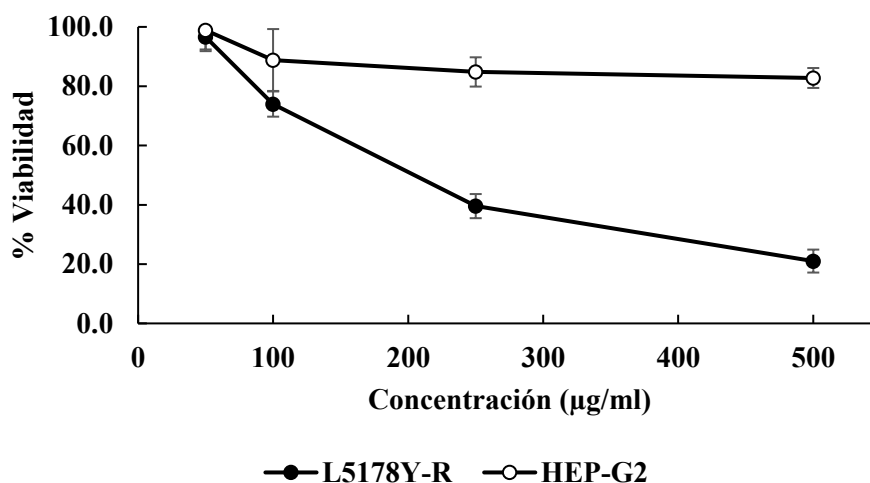


Figura 1 y 2. Porcentaje de viabilidad celular causado por el extracto metanólico de *C. citratus*, sobre las células no tumorales PBMC y VERO (Figura 1) y sobre las células tumorales HEP-G2 y L5178Y-R (Figura 2). Los datos se muestran como las medias \pm DE del porcentaje de viabilidad celular a distintas concentraciones ($\mu\text{g/mL}$) del extracto evaluado.

En la tabla 1 se muestran las IC_{50} correspondientes a las 4 líneas celulares evaluadas así como los IS correspondientes; se observa que el extracto de *C. citratus* presentó actividad citotóxica considerable frente a la célula tumoral L5178Y-R (no adherente), sin embargo, no presentó actividad citotóxica significativa frente a las células HEP-G2 (adherentes). Para el caso de las células normales VERO el extracto presentó IC_{50} alto de 24.5 $\mu\text{g/ml}$ por lo que se consideró tóxico frente a esta línea celular. En cuanto a las células normales PBMC se obtuvo una IC_{50} de 312.4 $\mu\text{g/ml}$, por lo que se consideró con una toxicidad media. En cuanto a la toxicidad, la concentración letal media (IC_{50}) para que un extracto se considere no tóxico es de $\geq 1,000$ $\mu\text{g/ml}$, las comprendidas entre 1,000 y 500 $\mu\text{g/mL}$ se consideran ligeramente tóxicas, entre 500 y 100 $\mu\text{g/ml}$ moderadamente tóxicas y las altamente tóxicas de < 100 $\mu\text{g/ml}$ (De La Cruz-Jiménez *et al.*, 2022; López Villarreal *et al.*, 2022).

Tabla 2. Actividad citotóxica media e índice de selectividad.

Tipo de células	Línea celular	IC ₅₀ (µg/ml)	SI
No adherentes	L5178Y-R	209.2 ± 6.2	1.5
	PBMC	312.4 ± 2.9	
Adherentes	HEP-G2	1,560.0 ± 23.2	0.02
	VERO	24.5 ± 3.8	

Los datos se muestran como las medias ± DS de la IC₅₀.

IS: Índice de selectividad.

Actividad antioxidante, hemolítica y antihemolítica

En la tabla 3 proporcionamos los datos de tres actividades biológicas distintas en el cual reportamos las IC₅₀ correspondientes a cada una, se aprecia la capacidad antioxidante media por parte del extracto y este presenta una capacidad antioxidante de media a baja en comparación con el control, esto se puede deber al tipo de extracción utilizado y/o a los solventes utilizados en la extracción (Ngamwonglumlert, Devahastin and Chiewchan, 2017), pues se sabe que el aceite esencial de *C. citratus* posee alta actividad antioxidante en comparación con la Vit. C., además de esto se tiene reportado que dicho aceite esencial posee actividad antihemolítica en eritrocitos (De Oliveira-E Silva *et al.*, 2022), por lo que nuestros datos con el extracto metanólico, confirman su capacidad protectora frente a la oxidación de la membrana eritrocitaria. En cuanto a la capacidad hemolítica, el extracto no presentó actividad hemolítica aparente pues la concentración para inhibir el 50 por ciento de los eritrocitos fue relativamente alta en comparación con la concentración necesaria para protegerlos frente al radical AAPH, por lo que se considera que el extracto metanólico de *C. citratus* posee actividad protectora frente al radical del tipo azo AAPH.

Tabla 3. Actividad antioxidante, hemolítica y antihemolítica del extracto metanólico de *C. citratus*.

Actividad	IC ₅₀ (µg/ml)
Antioxidante (DPPH)	691.0 ± 21.4
Hemolítica (Hemolisis)	607.0 ± 19.1
Antihemolítica (AAPH)	7.0 ± 1.5

Los datos se muestran como las medias ± DS de la IC₅₀.

Entre paréntesis se indica la prueba realizada para cada actividad biológica reportada.

El C⁺ de la prueba de DPPH (Vit.C.) presentó una IC₅₀ menor a 10 µg/ml.

CONCLUSIONES

El extracto metanólico de *C. citratus* actúa como agente protector contra la lipoperoxidación eritrocitaria *in-vitro* cuando se evaluó en contra del agente oxidante AAPH; sin embargo, posee baja actividad antioxidante en comparación con el antioxidante estándar vitamina C. En cuanto a la actividad citotóxica *in-vitro* el extracto no presentó actividad significativa frente a las células HEP-G2, pero presentó actividad citotóxica considerable frente a las células L5178Y-R. Las perspectivas de este trabajo están orientadas a realizar un fraccionamiento bio-guiado para obtener una fracción con el compuesto bioactivo y así aislarlo y purificarlo.

AGRADECIMIENTOS: Un agradecimiento al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica PAICYT por apoyar esta investigación (Reg. 307-CN-2022).

CONFLICTO DE INTERESES: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

DECLARACIÓN DE DISPONIBILIDAD DE DATOS: Los conjuntos de datos generados o analizados durante el presente estudio están disponibles a través de los autores correspondientes.

REFERENCIAS

Bazaldúa-Rodríguez, A. F. *et al.* (2021) 'Furanocoumarins from *Ruta chalepensis* with Amebicide Activity', *Molecules*, 26(12), p. 3684. doi: 10.3390/molecules26123684.

Cárdenas Garza, G. R. *et al.* (2021) 'Benefits of Cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) and Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts for Their Applications as Natural Anti-Inflammatory Adjuvants', *Plants*, 10(9), p. 1908. doi: 10.3390/plants10091908.

De La Cruz-Jiménez, L. *et al.* (2022) 'Biological Activities of Seven Medicinal Plants Used in Chiapas, Mexico', *Plants*, 11(14), p. 1790. doi: 10.3390/plants11141790.

De Oliveira E Silva, F. *et al.* (2022) 'Cymbopogon citratus Protects Erythrocytes from Lipid Peroxidation in vitro', *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry*. Netherlands, 20(2), pp. 166–169. doi: 10.2174/1871525719666210906122948.

Ekpenyong, C. E., Akpan, E. and Nyoh, A. (2015) 'Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts', *Chinese Journal of Natural Medicines*. China Pharmaceutical University, 13(5), pp. 321–337. doi: 10.1016/S1875-5364(15)30023-6.

Elizondo-Luévano, J. H. *et al.* (2020) 'Berberina, curcumina y quercetina como potenciales agentes con capacidad antiparasitaria', *Revista de Biología Tropical*, 68(4), pp. 1241–1249. doi: 10.15517/rbt.v68i4.42094.

Elizondo-Luévano, J. H. *et al.* (2022) 'In Vitro Cytotoxic Activity of Methanol Extracts of Selected Medicinal Plants Traditionally Used in Mexico against Human Hepatocellular Carcinoma', *Plants*, 11(21), p. 2862. doi: 10.3390/plants11212862.

Gomez-Flores, R. *et al.* (2009) 'Antitumor properties of *Gymnosperma glutinosum* leaf extracts.', *Cancer investigation*, 27(2), pp. 149–55. doi: 10.1080/07357900802192190.

Guillén-Meléndez, G. A. *et al.* (2021) 'Cytotoxic Effect In Vitro of *Acalypha monostachya* Extracts over Human Tumor Cell Lines', *Plants*, 10(11), p. 2326. doi: 10.3390/plants10112326.

López Villarreal, S. M. *et al.* (2022) 'Preliminary Study of the Antimicrobial, Anticoagulant, Antioxidant, Cytotoxic, and Anti-Inflammatory Activity of Five Selected Plants with Therapeutic Application in Dentistry.',

- International journal of environmental research and public health*, 19(13), p. 7927. doi: 10.3390/ijerph19137927.
- Molina-Garza, Z. J. *et al.* (2014) ‘Anti-*Trypanosoma cruzi* activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico.’, *Acta tropica*. Elsevier B.V., 136(1), pp. 14–8. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.04.006.
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S. and Chiewchan, N. (2017) ‘Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods.’, *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(15), pp. 3243–3259. doi: 10.1080/10408398.2015.1109498.
- Quintanilla-Licea, R. *et al.* (2014) ‘Antiprotozoal activity against *Entamoeba histolytica* of plants used in northeast mexican traditional medicine. Bioactive compounds from *Lippia graveolens* and *Ruta chalepensis*’, *Molecules*, 19(12), pp. 21044–21065. doi: 10.3390/molecules191221044.
- Quintanilla-Licea, R. *et al.* (2020) ‘Antiprotozoal Activity against *Entamoeba histolytica* of Flavonoids Isolated from *Lippia graveolens* Kunth.’, *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(11), p. 2464. doi: 10.3390/molecules25112464.
- Ramírez-Villalobos, J. M. *et al.* (2021) ‘In Vitro Tumor Cell Growth Inhibition Induced by *Lophocereus marginatus* (DC.) S. Arias and Terrazas Endophytic Fungi Extracts.’, *International journal of environmental research and public health*, 18(18), p. 9917. doi: 10.3390/ijerph18189917.
- Rodríguez-Garza, N. E. *et al.* (2023) ‘In Vitro Biological Activity and Lymphoma Cell Growth Inhibition by Selected Mexican Medicinal Plants’, *Life*, 13(4), p. 958. doi: 10.3390/life13040958.
- Rodríguez-Magaña, M. P. *et al.* (2019) ‘Hypoglycemic Activity of *Tilia americana*, *Borago officinalis*, *Chenopodium nuttalliae*, and *Piper sanctum* on Wistar Rats’, *Journal of Diabetes Research*, 2019, p. 7836820. doi: 10.1155/2019/7836820.
- Romero-Arguelles, R. *et al.* (2022) ‘In Vitro Antitumor Activity of Endophytic and Rhizosphere Gram-Positive Bacteria from *Ibervillea sonorae* (S. Watson) Greene against L5178Y-R Lymphoma Cells.’, *International journal of environmental research and public health*, 19(2), p. 894. doi: 10.3390/ijerph19020894.
- Vázquez-Briones, M. and Guerrero-Beltrán, J. (2017) ‘Effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in the physicochemical properties of chitosan films’, *Scientia Agropecuaria*, 8(4), pp. 401–409. doi: 10.17268/sci.agropecu.2017.04.11.