

Estabilidad de dos tinturas de *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. (ítamo real)

Stability of two *Pedilanthus tithymaloides* (L) Poit (ítamo real) tinctures

Yurisnel Ortiz Sánchez^I; Tania López González^{II}; Lourdes Padró Rodríguez^{II}; Yunior Velásquez Almenares^{III}

I Máster en Medicina Natural y Bioenergética en la Atención Primaria. Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Asistente. Filial de Ciencias Médicas Bayamo. Universidad Médica de Granma. Carretera a Santiago de Cuba.

II Máster en Medicina Natural y Bioenergética. Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Oriente. Departamento de Farmacia. Santiago de Cuba.

III Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Oriente. Departamento de Farmacia. Santiago de Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. (ítamo real) se emplea tradicionalmente y en estomatología por la acción antiinflamatoria.

OBJETIVOS: evaluar la estabilidad de 2 tinturas de ítamo real almacenadas en condiciones de refrigeración y temperatura ambiente durante 1 año.

MÉTODOS: se estudió la estabilidad de 2 tinturas de *P. tithymaloides* elaboradas a partir de hojas secas de la planta con soluciones hidroalcohólicas a 30 y 50 %, que fueron preparadas por el método de maceración. Se realizaron estudios de calidad, microbiológico y determinación de los componentes activos presentes en las tinturas.

RESULTADOS: en todos los lotes los índices de calidad se mantuvieron durante el período y las condiciones que duró el estudio, sin diferencias estadísticas significativas. El conteo microbiano se mantuvo por debajo de los niveles permisibles, con ausencia de microorganismos patógenos durante todo el experimento. Se constató la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, fenoles y taninos, aminoácidos, coumarinas y quinolonas.

CONCLUSIONES: los resultados demostraron que las tinturas pueden ser

conservadas a temperatura ambiente y en refrigeración por 1 año, en frascos de vidrio de color ámbar sin que se afecte su calidad.

Palabras clave: *Pedilanthus tithymaloides*, ítamo real, estudio de estabilidad, plantas medicinales.

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Pedilanthus tithymaloides* (L) Point (*ítamo real*) is traditionally used in dentistry due to its antiinflammatory effect.

OBJECTIVES: to evaluate the stability of two *ítamo real* tinctures stored under refrigeration conditions and at room temperature for one year.

METHODS: the stability of two *P. tithymaloides* tinctures made from the plant's dry leaves, using 30% and 50% hydroalcohol solutions, which were prepared through maceration. Some quality and microbiologic studies were conducted and the active components of tinctures were determined.

RESULTS: the quality indexes were kept in all the batches during the period, without any significant differences. The microbial count was kept below the allowable levels and no pathogenic microorganisms were observed in the course of the experiment. It was confirmed that secondary metabolites like flavonoids, phenols, tannins, aminoacids, coumarins and quinolones were present.

CONCLUSIONS: these results showed that the studied tinctures can be preserved in amber bottles at room temperature and under refrigeration for one year, with no quality deterioration.

Key words: *Pedilanthus tithymaloides*, ítamo real, stability study, herbs.

INTRODUCCIÓN

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica clínica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso de que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar su experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen.¹

El uso de plantas medicinales y medicamentos herbarios ha tenido un auge marcado y ascendente en el ámbito mundial, a partir de que la Organización Mundial de la Salud llamó a introducir recursos medicinales tradicionales en los sistemas de salud en 1977. Cuba, por ejemplo, ha ido dando pasos en esa dirección, sobre todo desde 1991, cuando se constituyó un programa prioritario de gobierno, en el cual el Ministerio de Salud Pública tiene la responsabilidad de su coordinación y ejecución. El descubrimiento de un alto porcentaje de fármacos de origen vegetal es resultado del estudio científico de plantas bien conocidas y empleadas en la medicina tradicional.²

La especie *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit., conocida popularmente como ítamo real, aprobada por el Ministerio de Salud Pública (MINSAP),³ reportada en la *Guía Terapéutica Dispensarial de Fitofármacos y Apifármacos*⁴ y además aparece reportada en diferentes bibliografías con propiedades antisépticas, cicatrizantes, antibacterianas, antiinflamatorias, etc.,^{5,6} ha sido utilizada por la población cubana en diferentes enfermedades por causa de las distintas acciones farmacológicas atribuidas,^{7,8} entre las que se destaca la antiinflamatoria, por el amplio uso que tiene en la práctica estomatológica.

P. tithymaloides cuenta con diversos estudios realizados que van desde los etnobotánicos,⁶⁻⁸ farmacognósticos,⁹⁻¹¹ químicos inorgánicos,¹⁰ fitoquímicos,^{12,13} hasta preclínicos.¹³

Como parte de las investigaciones que se desarrollan en el Departamento de Farmacia de la Universidad de Oriente, para validar el uso terapéutico de las plantas medicinales de uso tradicional, se realizó este estudio con el objetivo de evaluar la estabilidad de 2 tinturas de ítamo real almacenadas en condiciones de refrigeración y temperatura ambiente por un período de 1 año.

MÉTODOS

Recolección y procesamiento del material vegetal

La especie *P. tithymaloides*, previa identificación taxonómica en el museo Tomás Romay de la ciudad de Santiago de Cuba (Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad) por especialistas de la rama, se colectó en el Módulo Municipal de Cultivos de Plantas Medicinales pertenecientes al Ministerio de la Agricultura, en la zona del II Frente Oriental "Frank País García". La recolección se hizo en horas tempranas de la mañana, a la sombra y alejada de la carretera, siempre teniendo en cuenta su estado vegetativo, el cual debe ser adulto. Se emplearon las hojas y los tallos.

Procesamiento del material vegetal

El material vegetal, que correspondió a hojas de la planta, fue secado con el empleo del método al aire, específicamente el de sol, para evitar posibles fuentes de contaminación,¹⁴ y por ser este el establecido para la especie según estudios previos.^{9,10,13} Esto se hizo durante un período de 15 d, y luego mediante un molino de acero inoxidable, se procedió a la trituración y reducción de tamaño de la droga vegetal. Seguidamente se determinó el porcentaje de humedad residual de la droga seca, a través del método gravimétrico infrarrojo en el Laboratorio Farmacéutico Oriente, con una balanza técnica marca NAGEMA, de procedencia alemana, con lámpara infrarroja.

Preparación y envase de las tinturas

Se procedió a la preparación de 6 lotes de tinturas de la especie a 20 %, mediante el método de maceración, según el procedimiento descrito en NRSP 311,¹⁵ que establece el proceso tecnológico para extractos fluidos y tinturas, con la utilización como menstruo o solvente soluciones hidroalcohólicas preparadas a 30 % (3 lotes) y a 50 % (3 lotes).

Una vez elaborada se procede a su envase en frascos de color ámbar con tapas de bakelita, con capacidad de 120 mL previamente esterilizados; que fueron sometidos a un estudio de vida útil durante 1 año almacenados a temperatura ambiente (lugar fresco y seco) y en refrigeración. Se evaluaron los indicadores de calidad establecidos al inicio, 3 meses, 6 meses y al año.

Determinación de los parámetros de calidad de las tinturas

Para conocer la calidad de las tinturas obtenidas, se procedió a determinar algunos de los parámetros de calidad físico, físico-químicos y químicos cualitativos, a través del procedimiento descrito en NRSP 312¹⁶ mediante 5 réplicas para cada ensayo: características organolépticas, pH, índice de refracción, densidad relativa y sólidos totales.

Se incluyó en este análisis de calidad el tamizaje fitoquímico con el objetivo de conocer y corroborar la presencia de metabolitos activos (composición química cualitativa), para lo que se tuvo en cuenta el procedimiento detallado en *Guías Metodológicas de Investigación con Plantas Medicinales*,³ y la metodología en la literatura.¹⁷ Además, se realizó un control microbiológico al comienzo del experimento y después cada 6 meses, que consistió en el conteo total de hongos y bacterias, evaluación cuantitativa de enterobacterias y de *Echerichia coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* con los medios y métodos descritos en la USP XXII (Determinaciones de límites microbianos de medicamentos no estériles), y por la norma cubana basada en esta farmacopea¹⁸ que fue realizado en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General Santiago, de la provincia de Santiago de Cuba.

El análisis de varianza de una vía (ANOVA) fue aplicado como prueba estadística para determinar posibles diferencias entre los momentos de medición, con un nivel de significación de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Procesamiento del material vegetal

El material vegetal brindado por el Ministerio de la Agricultura cumple con las condiciones óptimas para su uso. Se determinó que el tiempo de secado de la droga cruda fue de 15 d.

Determinación de los parámetros de calidad de las tinturas

Las características organolépticas de las tinturas obtenidas corresponden a una solución transparente, homogénea, de color ámbar (un poco más acentuado en la tintura con mensturo hidroalcohólico a 50 %), con olor característico alcohólico y sabor amargo picante, caracteres que se mantienen durante el período de tiempo que duró la investigación.

Si se analiza el comportamiento del pH mostrado en la [tabla 1](#) se nota que oscila desde 7,806 hasta 7,59 cuando se emplea mensturo a 30 % y de 8,413 a 8,04 cuando se emplea la solución hidroalcohólica a 50 %.

Tabla 1. Determinaciones del pH en el período de estudio

Ensayo pH	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 30 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	7,81	7,77	7,69	7,73	7,64	7,70	7,61
Lote 2	7,80	7,75	7,69	7,71	7,62	7,71	7,58
Lote 3	7,81	7,77	7,68	7,72	7,65	7,69	7,58
Promedio	7,806	7,763	7,686	7,72	7,636	7,7	7,59
p = 0,01							
Ensayo pH	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 50 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	8,41	8,37	8,35	8,29	8,23	8,16	8,02
Lote 2	8,41	8,36	8,34	8,28	8,23	8,14	8,06
Lote 3	8,42	8,37	8,33	8,28	8,20	8,13	8,04
Promedio	8,413	8,366	8,34	8,283	8,22	8,143	8,04
p = 0,01							

TA= temperatura ambiente, TF= en refrigeración.

Los valores de densidad relativa obtenidos se reflejan en la [tabla 2](#), los cuales oscilan entre 0,982 a 0,980 g/L y de 0,939 a 0,936 para las tinturas con menstruo hidroalcohólico a 30 y 50 %, respectivamente.

Tabla 2. Determinaciones de la densidad relativa en el período de estudio

Ensayo D ₂₅ ²⁵	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 30 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	0,982	0,982	0,981	0,982	0,980	0,980	0,980
Lote 2	0,983	0,983	0,983	0,982	0,983	0,981	0,982
Lote 3	0,982	0,982	0,982	0,982	0,980	0,982	0,982
Promedio	0,982	0,982	0,982	0,982	0,981	0,981	0,981
p= 0,01							
Ensayo D ₂₅ ²⁵	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 50 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	0,937	0,937	0,938	0,937	0,939	0,937	0,939
Lote 2	0,936	0,936	0,938	0,936	0,938	0,936	0,938
Lote 3	0,936	0,936	0,939	0,937	0,939	0,937	0,939
Promedio	0,936	0,936	0,938	0,936	0,938	0,936	0,938
p= 0,01							

TA= temperatura ambiente, TF= en refrigeración, D₂₅²⁵= densidad a 25 °C.

Al analizar el parámetro sólidos totales, en la [tabla 3](#), donde se obtienen valores de 2,971 a 2,973 con el empleo de menstruo hidroalcohólico 30 % y entre 2,376 a 2,373 para la que emplea el solvente a 50 %.

Tabla 3. Determinaciones de los sólidos totales en el período de estudio

Ensayo S_T	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 30 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	2,971	2,972	2,970	2,972	2,970	2,972	2,971
Lote 2	2,969	2,970	2,971	2,971	2,972	2,970	2,972
Lote 3	2,970	2,970	2,971	2,970	2,971	2,970	2,973
Promedio	2,97	2,97	2,970	2,971	2,971	2,970	2,972
p= 0,02							
Ensayo S_T	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 50 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	2,376	2,376	2,376	2,376	2,375	2,375	2,375
Lote 2	2,375	2,375	2,374	2,375	2,373	2,375	2,374
Lote 3	2,374	2,374	2,375	2,374	2,373	2,374	2,373
Promedio	2,375	2,375	2,375	2,374	2,374	2,374	2,374
p= 0,02							

TA= temperatura ambiente, TF= en refrigeración, S_T = sólidos totales.

El índice de refracción es otro de los parámetros de calidad analizados, como puede observarse en la [tabla 4](#) los valores oscilan entre 1,363 a 1,359, cuando se emplea el menstruo hidroalcohólico a 30 % y de 1,366 a 1,364 para la tintura con solvente a 50 %; esto indica la presencia de sustancias en el extracto (tintura) al compararlo con el índice de refracción del agua ($n = 1,333$).

Tabla 4. Determinaciones del índice de refracción en el período de estudio

Ensayo I_R	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 30 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	1,363	1,363	1,362	1,363	1,362	1,362	1,362
Lote 2	1,362	1,361	1,361	1,361	1,361	1,360	1,359
Lote 3	1,363	1,362	1,363	1,362	1,363	1,362	1,362
Promedio	1,362	1,362	1,362	1,362	1,362	1,361	1,361
p= 0,00							
Ensayo I_R	Tiempo cero	Tintura 20 % (menstruo hidroalcohólico 50 %)					
		Tiempo: 3 meses		Tiempo: 6 meses		Tiempo: 1 año	
		TA	TF	TA	TF	TA	TF
Lote 1	1,365	1,365	1,364	1,365	1,364	1,365	1,363
Lote 2	1,365	1,364	1,364	1,364	1,364	1,363	1,364
Lote 3	1,366	1,366	1,366	1,366	1,365	1,366	1,365
Promedio	1,365	1,365	1,365	1,364	1,364	1,365	1,364
p= 0,00							

TA= temperatura ambiente, TF= en refrigeración, I_R = índice de refracción.

Del análisis microbiológico realizado a los tiempos 0, 6 meses y al año, no existió en ninguno crecimiento de microorganismos.

Los resultados del tamizaje fitoquímico (tabla 5) realizados a las tinturas, revelaron la presencia de metabolitos como los flavonoides, que teniendo en cuenta las coloraciones obtenidas por los ensayos de ácido sulfúrico concentrado y *Shinoda*, puede suponerse la presencia de flavonas y flavonoles como tipos de estos metabolitos. Resultados positivos fueron obtenidos de igual manera para metabolitos como aminoácidos, coumarinas, fenoles, taninos, quinonas y azúcares reductores; en estas últimas las coloraciones obtenidas para la tintura con menstuo hidroalcohólico 30 % fueron de mayor intensidad que empleando el mismo menstuo a 50 %, lo que puede estar relacionado con las propiedades físicoquímicas.

Tabla 5. Tamizaje fitoquímico

Metabolitos	Ensayos	Tinturas					
		Tiempo: cero		Tiempo: 1 año			
		30 %	50 %	30 %		50 %	
				TA	TF	TA	TF
Alcaloides	<i>Dragendorff</i>	++	++	++	++	++	++
	<i>Mayer</i>	+	+	+	+	+	+
	<i>Wagner</i>	+	+	+	+	+	+
Triterpenos y esteroides	<i>Solkowxki</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Lieberman-Burchard</i>	+	+	+	+	+	+
	<i>Rosemhein</i>	-	-	-	-	-	-
Quinodas	<i>Borntrager</i>	++	++	++	++	++	++
Cumarinas	<i>Baljet</i>	++	++	++	++	++	++
	<i>Legal</i>	+	+	+	+	+	+
Saponinas	Espuma	+	+	-	-	-	-
Azúcares reductores	<i>Fehling</i>	+	+	+	+	+	+
	<i>Benedict</i>	+	+	+	+	+	+
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	+	+	+	+	+	+
Flavonides	Acido sulfúrico concentrado	+	+	+	+	+	+
	<i>Shinoda</i>	+	+	+	+	+	+
	<i>Rosemhein</i>	+	+	+	+	+	+
Aminoácidos	Ninhidrina	+	+	+	+	+	+

TA= temperatura ambiente, TF= en refrigeración.

El contenido de alcaloides en las tinturas puede considerarse bajo, producto de las coloraciones obtenidas para los ensayos de *Dragendorff* y *Mayer*.

Es notorio destacar que durante el período de estudio se mantuvieron los resultados de las diferentes determinaciones cualitativas de metabolitos secundarios sin alteración.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos durante el estudio de estabilidad demostró que de forma general no existieron diferencias significativas entre las evaluaciones, es decir, resultaron iguales respectivamente, por lo que se puede afirmar que las tinturas conservaron todas sus características de forma óptima durante un año bajo las condiciones ensayadas.

DISCUSIÓN

El tiempo de secado de la droga cruda fue de 15 d, lo cual coincide con lo reportado en estudios precedentes.^{9,10,12,19}

Las características organolépticas de las tinturas obtenidas, corresponden a los resultados en estudios precedentes.^{10,12,13}

Es notorio destacar que el sabor amargo picante puede ser producto de la presencia de los principios amargos y astringentes.^{5,10}

El comportamiento del pH es el reflejo de una solución con características ácidas débiles, lo cual es atribuible al hecho de que en la solución existen compuestos que aportan estas características al medio, como los flavonoides, fenoles y taninos, saponinas, esteroides y triterpenos, que está en correspondencia con lo reportado en trabajos precedentes.^{10,11}

El mayor valor numérico en las determinaciones para la tintura que presenta un contenido alcohólico a 50 % puede ser por causa de la mayor solubilidad en esta de principios activos con características básicas como los alcaloides, también presentes aunque en bajas concentraciones en las tinturas.

Los mayores valores de densidad relativa de la solución hidroalcohólica a 30 %, indica que en la solución existen compuestos que le dan densidad.

Al analizar el parámetro sólidos totales, en la tintura que empleó solución hidroalcohólica 30 %, la cantidad de sólidos (cantidad total) disueltos en el extracto es mayor y puede estar en correspondencia con la mayor concentración de metabolitos polares en la tintura.

Los resultados del análisis microbiológico coinciden con estudios realizados por T. López,¹³ esto permite inferir que los porcentajes de alcohol de las soluciones hidroalcohólicas (30 y 50 %) empleadas como solventes o menstruos para la preparación de las tinturas resultaron ideales, puesto que no permite el crecimiento de microorganismos en el medio. Los autores del presente trabajo sugieren el empleo de la tintura con menstruo hidroalcohólico 30 %, por ser menor su contenido en alcohol y, por tanto, tendrá menos efecto irritante sobre la mucosa bucal, que es donde se emplea con más frecuencia.

Es notorio destacar que durante el período de estudio se mantuvieron los resultados de las diferentes determinaciones cualitativas de metabolitos secundarios sin alteración, y que su gran variedad es lo que justifica el uso folklórico de la planta. Además, coincide con otros estudios realizados.^{12,13,20}

Los resultados del presente estudio demostraron que las tinturas de *P. tithymaloides* pueden ser conservadas a temperatura ambiente por 1 año y en

refrigeración, en frascos de vidrio de color ámbar de 120 mL, sin que se afecte su calidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Rosario (Argentina): Ed. Corpus; 2004. p. 1350.
2. Blumenthal L. The ABC clinical guide to herbs. Austin: American Botanical Council; 2003. p. 480.
3. Ministerio de Salud Pública. Guías Metodológicas para la Investigación de Plantas Medicinales. La Habana: Dirección de Ciencia y Técnica. Área de Docencia e Investigación; 1997. p. 8-24.
4. Ministerio de Salud Pública. Guía terapéutica dispensarial de Fitofármacos y Apifármacos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1992. p. 121.
5. Ministerio de Salud Pública. Fitomed III. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1994. p. 34-5.
6. Roig JT. Plantas Medicinales Aromáticas o Venenosas de Cuba. 2^{da} ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1974. p. 458-9.
7. Roig JT. Diccionario Botánico de nombres vulgares. La Habana: Editorial del Consejo Nacional de Universidades; 1965. p. 518.
8. López González T, Padró Rodríguez L. Estudio fitoquímico preliminar de las hojas y tallos de la especie *Pedilanthus tithymaloides* (L.). Poit. Rev Cubana Química. 2003;15(3):14-7.
9. Druyet G. Trabajo de Diploma. Estudio fármaco gnóstico preliminar en hojas y tallos de la especie *Pedilanthus tithymaloides* (L.). Poit. Santiago de Cuba. Universidad de Oriente. Departamento de Farmacia.1997. pp: 22-5.
10. Cabrejas Y, Aguilera V. Estudio fármaco gnóstico y determinación de algunos elementos inorgánicos de la especie *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. [Trabajo de Diploma]. Departamento de Farmacia: Universidad de Oriente; 1996.
11. Sánchez Govín E, Pérez Lamas AM, Chávez Figueredo D, Echevarría Sosa D. Caracterización farmacognóstica de *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. Rev Cubana Plant Med. 2005;10(1).
12. López T, Padró L. Elaboración y caracterización de tinturas al 10, 20 y 30 % a partir de hojas y tallos de la especie *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. [Trabajo de Diploma]. Departamento de Farmacia: Universidad de Oriente; 1999.
13. López T. Obtención y evaluación antiinflamatoria de la tintura de *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. Universidad Médica No. 1. Santiago de Cuba: Universidad de Oriente; 2002.

14. Rani A, Kumar A. Environmental factors affecting *Cleistothecium* formation in *Sphacerotheca cuphorbiae* in *Pedilanthus tithymaloides*. India. 1995;25(3):168-71.
15. Ministerio de Salud Pública. Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) # 311. Extractos fluidos y tinturas. Procesos tecnológicos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1991. p. 3.
16. Ministerio de Salud Pública. Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) # 312. Extractos fluidos y tinturas. Métodos de ensayos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1991. p. 1-5.
17. Ochoa A, López T, Colombat M. Folleto Metodológico Investigativo para las actividades prácticas de la asignatura Farmacognosia y Química de los Productos Naturales. Departamento de Farmacia. Santiago de Cuba; Universidad de Oriente; 1999.
18. Ministerio de Salud Pública. Norma Cubana (NC) 26-26-121. Medicamentos no estériles. Determinaciones microbiológicas. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1993.
19. Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y Química de los productos naturales. La Habana: Editorial Félix Varela; 2001. p. 207-22.
20. Márquez Vizcaino R, De la Rosa Torres C, Mercado Pérez A. Actividad antifúngica del extracto total en etanol de las hojas frescas de *Pedilanthus tithymaloides* (L.). Poit. Scientia Et Técnica. 2007; 13(33):155-9.

Recibido: 13 de enero de 2009.

Aprobado: 14 de marzo de 2009.

M. C. *Yurisnel Ortiz*. Filial de Ciencias Médicas Bayamo. Universidad Médica de Granma. Carretera Santiago de Cuba. Km 8½. Correo electrónico: yurisnel.grm@infomed.sld.cu