

Influencia de las condiciones de cultivo y del momento óptimo de cosecha en *Artemisia annua* L.

Influence of growing conditions and of the optimal harvesting time on *Artemisia annua* L.

Lérida Acosta de la Luz,^I Isabel Hechevarría Sosa,^{II} Carlos Rodríguez Ferradá^{II}

^I Doctora en Ciencias Agrícolas. Investigadora Titular. Laboratorio Central de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende", Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II} Técnico Medio Agrícola. Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig", Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: *Artemisia annua* L. es una planta medicinal de gran interés y es importante precisar los aspectos agrícolas que garanticen su adecuado cultivo.

Objetivos: determinar la influencia del cultivo a pleno sol y a la sombra y de la cosecha a diferentes horas y edades de la planta en la producción de biomasa y de los principios activos.

Métodos: se utilizaron canteros a plena exposición solar y con determinada disminución de la luz para estudiar las condiciones de cultivo y en las investigaciones del momento de cosecha, en la recolección a diferentes horas del día: 9:00 am, 26 °C; 11:00 a.m., 30 °C; 1:00 p.m., 32 °C; 3:00 p.m. 33 °C se seleccionaron plantas cultivadas a pleno sol, de 6 meses de edad; en el otro experimento se evaluó en plantas procedentes de semilleros establecidos en 2 fechas: 5 de noviembre y 8 diciembre, la recolección de la parte aérea a diferentes edades: 5, 6 y 7 meses. Se valoró la producción de biomasa, el contenido de artemisinina y adicionalmente el de aceite esencial y el de alcanfor. La extracción del aceite esencial se realizó por hidrodestilación y la de artemisinina y alcanfor por cromatografía gaseosa, la determinación de la presencia de estos dos componentes se realizó por cromatografía en capa delgada y además se valoraron los parámetros farmacognósticos: sustancias solubles en agua y en alcohol.

Resultados: se encontraron pocas diferencias en cuanto al rendimiento de la parte aérea en las dos formas de cultivo, pero sí se obtuvo mayor contenido de artemisinina, aceite esencial y alcanfor en el cultivo a pleno sol. La mejor hora para realizar la cosecha es la mañana, donde se presentan mayores valores de aceite esencial y en cuanto a la edad de cosecha, la de 6 meses resultó la más adecuada,

cuando hubo mayor proporción de ramas y hojas y menor de tallos viejos, con pocas diferencias entre las fechas en que se hicieron las siembras y se presentaron los mayores porcentajes de aceite esencial y de las sustancias solubles.

Conclusiones: los resultados obtenidos permiten recomendar que la planta se siembre a inicios de noviembre-diciembre, a pleno sol y la recolección se lleve a cabo después de las 9:00 a.m. hasta 1:00 p.m., a los 6 meses de edad.

Palabras clave: *Artemisia annua*, cultivo al sol y con disminución de la luz, hora de cosecha, edad de cosecha, producción de biomasa, contenido de aceite esencial, artemisinina, alcanfor.

ABSTRACT

Introduction: *Artemisia annua* L. is medicinal plant of great interest, and therefore it is important to specify exactly the agricultural elements supporting its proper growing.

Objectives: to determine the influence of growing this plant in the sun and in the shade and of harvesting at different hours and plant ages in the production of biomass and active principles.

Methods: flowerbeds were placed in the sun and in dimmed light conditions in order to study the growing conditions. In the research conducted at the time of harvest, plants grown in the sun, of 6 months of age and at various day hours: 9:00 a.m. at 26 °C; 11:00 a.m. at 30 °C; 1:00 p.m. at 32 °C, and 3:00 p.m. at 33 °C were harvested. In the other experiment, the harvest of the aerial parts of the plants coming from seedbeds created on November 5th and on December 8th and aged 5, 6 and 7 months was evaluated. The production of biomass, the content of artemisinin and additionally that of the essential oil and camphor were assessed. The extraction of the essential oil using hydrodistillation and that of artemisinin and the camphor by gas chromatography, the detection of the these two components was made by thin-layer chromatography and also the pharmacognostic parameters such as water- and alcohol-soluble substances were evaluated.

Results: there were little differences in aerial parts yielding in the two growing methods but there was high content of artemisinin, essential oil and camphor in plants grown in the sun. The better time interval for harvest is the morning, when there are higher values of essential oil; regarding harvesting age the 6 month was the most convenient since there was higher proportion of branches and leaves and less old stems, with little differences among the dates of growing and the highest percentages of essential oil and soluble substances.

Conclusions: the results obtained allow recommending that the plant be grown in the sun at the beginning of the November-December period and be harvested after 9:00 a.m. till 1:00 p.m. and at 6 months of age.

Key words: *Artemisia annua*, growing in the sun and in dimmed light, harvesting hours, harvesting age, biomass production, essential oil content, artemisinin, camphor.

INTRODUCCIÓN

Artemisia annua L., usada en China durante más de 2 000 años como tratamiento antipalúdico, contiene como principio activo fundamental la artemisinina, la cual elimina de la sangre los parásitos que originan la malaria, esencialmente *Plasmodium falciparum*, más rápido que los medicamentos antipalúdicos conocidos que han ido incrementando su ineficiencia; sin embargo, la medicina tradicional parece estar proporcionando nuevas esperanzas en plantas como *A. annua*.^{1,2} La artemisinina ejerce no solo actividad antimalárica, sino también se ha demostrado actividad citotóxica en células cancerígenas.³

Aunque la atención se ha centrado en los compuestos sesquiterpénicos, la planta es además una fuente potencial de aceite esencial de interés comercial por su empleo en perfumería y aromaterapia,⁴ también por su utilización terapéutica como antimicrobiano y antiinflamatorio, efectivo contra catarro y asma y por contener un aceite rico en alcanfor y su gran demanda, por los usos diferentes⁵ que pudiera tener como fuente alternativa.

Hoy está bien establecido que tanto la concentración de la artemisinina como la del aceite esencial tienen amplia variabilidad, la de artemisinina puede variar desde 0,02 hasta 1,38 %, ⁶ en tanto que la del aceite esencial desde 0,02 hasta 0,49 % sobre la base de peso fresco y de 0,04-1,9 % sobre la base de peso seco,⁴ variación que tiene diversas causas: puede cambiar durante la época de siembra y de cosecha, con la recolección en diferentes etapas del crecimiento, en diferentes fechas y horas⁶ y, además, por la influencia que ejercen los factores ambientales, sobre todo la temperatura, que puede ocasionar pérdidas por calentamiento;^{6,7} se ha dicho que en la biosíntesis de la artemisinina, del aceite esencial y sus constituyentes en *A. annua* la temperatura desempeña un papel importante.⁴

Para la producción de drogas antimaláricas y en la obtención de aceites esenciales a partir de esta especie, se requiere de altos rendimientos de biomasa acoplados a alta producción de estos principios activos, por lo que para lograr que se proporcionen mayores rendimientos de material vegetal del que se extraen estos compuestos químicos, la mejor estrategia a seguir, es evaluar los factores agronómicos que tienen relación con ello, como son las condiciones de cultivo y el momento óptimo de cosecha.

La cantidad de metabolito secundario en una planta es el resultado de un proceso que comprende la biosíntesis de la molécula y su acumulación en la planta, a menudo en una estructura especializada. Eso ocurre con esta especie, que están localizados en los tricomas glandulares, en la superficie de las hojas de la planta;^{8,9} por ello, en relación con su cultivo exitoso, la evaluación de parámetros agronómicos como son los estudios efectuados en el país sobre fecha y distancia de plantación¹⁰ y, en el presente, los relacionados con las mejores condiciones de cultivo y el adecuado momento para realizar la cosecha, son aspectos que contribuyen a garantizar la producción en cantidad y con la calidad requerida y consecuentemente a la elaboración de la agrotecnología de esta planta en Cuba y la obtención de productos naturales que puedan ser utilizados como fitofármacos.

MÉTODOS

Para investigar el comportamiento de la planta cultivada al sol y a la sombra se establecieron canteros distribuidos en parcelas al azar, con 3 repeticiones, a pleno sol y con determinada disminución de la luz. Las plantas procedían del semillero hecho en diciembre y fueron trasplantadas en enero, se colocaron 2 hileras de plantas/canteros y 60 cm entre ellas, o sea, la distancia de plantación fue de 90 x

60 cm y el área de cada parcela de 5,4 m². La cosecha se efectuó a los 4 meses y medio después del trasplante (17 mayo), la altura de corte fue de alrededor de los 30 cm de la superficie porque las plantas estaban muy lignificadas. Los rendimientos se expresaron en kg/área y se infirieron a t/ha.

En cuanto al estudio sobre la cosecha a diferentes horas del día, se seleccionaron plantas establecidas a pleno sol, en surcos a 90 x 60 cm, de 6 meses de edad; la fecha de cosecha fue el 22 de mayo, las temperaturas en el momento de la cosecha determinadas en varios puntos y alturas fueron: 9:00 a.m., 26 °C; 11:00 a.m., 30 °C; 1:00 p.m., 32 °C; 3:00 p.m., 33 °C.

Para el otro experimento relacionado con el momento de cosecha, se investigó entre noviembre de 2008 y julio de 2009 en plantas obtenidas de semilleros que se hicieron en dos fechas: 5 de noviembre y 8 diciembre de 2008, que fueron trasplantadas el 8 y 28 de enero de 2009, respectivamente; su recolección con diferentes edades: 5, 6 y 7 meses. Las parcelas se distribuyeron en bloques al azar, con 3 repeticiones, se colocaron 3 hileras de plantas/canteros y distancia de 60 cm entre ellas, equivalentes aproximadamente a 9 plantas/m². Se determinó la longitud de las posturas que se trasplantaron y el porcentaje de las que se adaptaron a las condiciones de cultivo a pleno sol. Durante la cosecha se midieron en 10 plantas por parcelas, seleccionadas al azar, la altura alcanzada y el rendimiento total de follaje, que fueron expresados en kilogramos. Para conocer la proporción de la parte útil y de la desechable se calcularon en el material cosechado en las diferentes edades los porcentajes de ramas, tallos finos y gruesos tomando el promedio de 3 plantas/parcelas.

Se cuantificó la producción de biomasa, el contenido de artemisinina y adicionalmente el de aceite esencial en las plantas y el de uno de sus principales componentes, el alcanfor. La extracción del aceite esencial se realizó por hidrodestilación, durante 2 h en aparato Clevenger y para determinar la artemisinina y el alcanfor se utilizó la cromatografía en capa gaseosa; cuando se evaluó solo la presencia de estos componentes se empleó la cromatografía en capa delgada. Los compuestos fueron identificados por comparación de sus espectros de masas con los reportados en bases de datos comerciales. Además fueron valorados algunos parámetros farmacognósticos de interés para garantizar la calidad de la droga vegetal: sustancias solubles en agua y en alcohol.

Los resultados se evaluaron mediante análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan, cuando fue necesario se aplicó un modelo factorial.

Una muestra de la planta se encuentra en el herbario de la Estación Experimental de Plantas Medicinales y corresponde a ROIG 4782.

RESULTADOS

Las plantas cultivadas al sol y a la sombra presentaron en el momento de la cosecha estado vegetativo tardío, pues algunas mostraban inicio de botonación. En la tabla 1 se presenta el análisis de los resultados del experimento.

Tabla 1. Altura, rendimiento de follaje fresco, contenido de artemisinina, aceite esencial y alcanfor en *Artemisia annua* cultivada al sol y a la sombra

Forma de cultivo	Altura (cm)	Rendimiento (kg/5,4 m ²)	Follaje (t/ha)	Artemisinina (%)	Aceite esencial (%)	Alcanfor (%)
Sol	159	6,6	12,2	0,6 0	0,51	7,0
Sombra	141	6,3	11,7	0,3 0	0,35	5,0

En relación con la hora de cosecha los contenidos de aceite esencial fueron: 9:00 a.m.; 0,44 %, 11:00 a.m.; 0,55 %, 1:00 p.m.; 0,54 %; 3:00 p.m.; 0,44 %.

En cuanto a la investigación relacionada con la edad adecuada para realizar la cosecha, en las dos fechas en que se hicieron los semilleros, las semillas emitieron los brotes a los 3 d, las posturas alcanzaron 19 cm en las procedentes del semillero de noviembre y 12 cm en las de diciembre y la adaptación en el sitio definitivo fue de 95 % en ambas.

Se observó que las plantas a la edad de 5 meses presentaban estado vegetativo, a los 6 meses estado vegetativo tardío, pues en algunas mostraban botonación, en tanto que a los 7 meses de edad su estado era de floración.

En la tabla 2 se indican los resultados relacionados con la altura y el rendimiento total y el de ramas expresados en kg/10 plantas; en la figura los resultados de la interacción fecha de siembra/edad de cosecha del rendimiento de ramas frescas inferidos a t/ha y en la tabla 3 se presentan los valores de los parámetros farmacognósticos evaluados en cada caso.

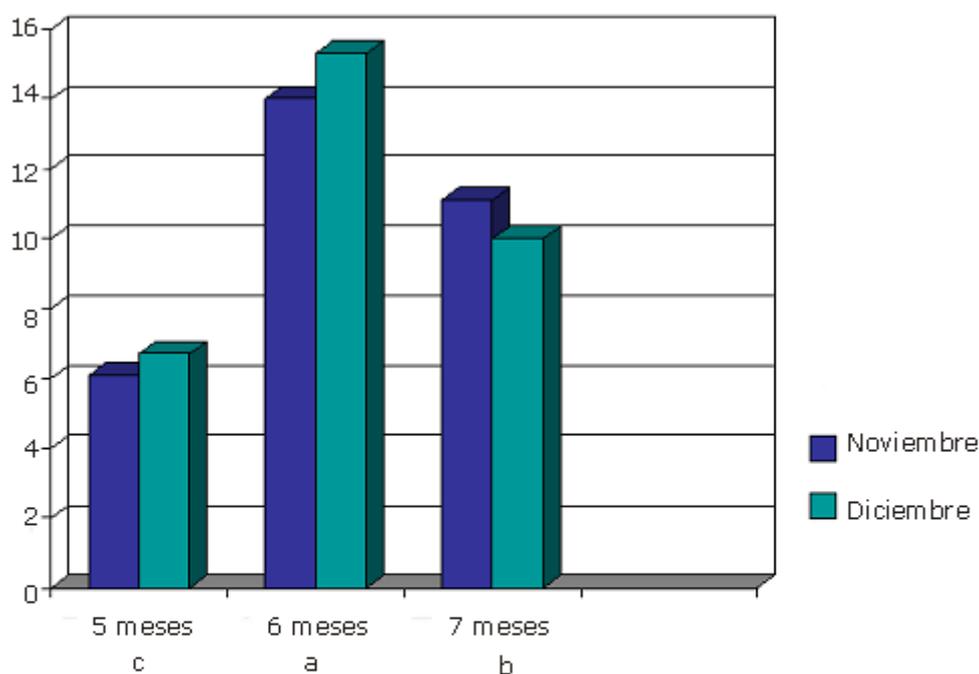
Tabla 2. Altura y rendimiento fresco de *Artemisia annua* cosechada a diferentes edades en dos fechas de siembra

Fecha de siembra	5 meses Altura (m)	Rendimiento total	Rendimiento de ramas y tallos	6 meses Altura (m)	Rendimiento total	Rendimiento de ramas y tallos	7 meses Altura (8m)	Rendimiento total	Rendimiento de ramas y tallos
Noviembre	1,11	1,3	87 % (R) 1,13 13 % (T)	1,74	3,5	67 % (R) 2,35 33 % (T)	1,86	3,4	54,6 % (R) 1,86 45,4 % (T)
Diciembre	1,40	1,2	85 % (R) 1,02 15 % (T)	1,81	4,0	64,2 % (R) 2,57 35,8 (T)	1,95	3,2	52,7 % (R) 1,69 47,3 % (T)

(R): ramas, (T): tallos.

Tabla 3. Porcentajes de inflamación e inhibición de la tintura de *Conyza bonariensis*

Grupo	% de inflamación	% de inhibición
I. Control (aceite de <i>Croton</i>)	92,7	-
II. Control (bencidamida)	10,4	90,95
III. Tintura de <i>Conyza bonariensis</i>	29,6	68,06



Fecha de siembra	5 meses ^c	6 meses ^a	7 meses ^b
noviembre	6,7	14,0	11,1
diciembre	6,1	15,3	10,0

Letras distintas difieren significativamente para $p \leq 0,05$

Fig. Resultados de la interacción fecha de siembra/edad de cosecha del rendimiento de ramas frescas en ambas fechas de siembra.

El perfil cromatográfico para el aceite esencial presentó 7 bandas de color azul que cuando se reveló con ácido fosfomolibdico arrojó lo siguiente: banda No. 1, intervalo de Rf (0,37-0,38), rango que se encuentra próximo a la sustancia de referencia á pineno; banda No. 2, intervalo de Rf (0,45-0,46) próximo a la sustancia de referencia á terpineol; banda No. 3, intervalo de Rf (0,49-0,50), próximo a la sustancia de referencia linalol; banda No. 4, intervalo de Rf (0,57-0,58), próximo a la sustancia de referencia mirceno; banda No. 5, intervalo de Rf (0,56-0,67); banda No. 6, intervalo de Rf (0,74-0,76); banda No. 7, intervalo de Rf (0,86-0,88).

En el cromatograma para la detección de artemisinina a partir del extracto obtenido en acetonitrilo se observó una banda de color amarillo claro en el intervalo de Rf (0,52-0,53) a la luz visible; que cuando se revela con vainillina-sulfúrico y calor tomó coloración violácea observada a la luz UV de 365 nm, que coincide en todas las evaluaciones con la sustancia de referencia utilizada.

DISCUSIÓN

Con el cultivo de *A. annua* bajo nuestras condiciones, se comprobó que los porcentajes de artemisinina, aceite esencial y alcanfor, fueron mayores en el cultivo a pleno sol en comparación con el cultivo a la sombra; se ha dicho que en *A. annua* resulta importante conocer que esta planta prefiere suficiente iluminación,⁷ por lo que la selección del lugar de cultivo es importante.

En el cultivo de las plantas medicinales es importante conocer sus necesidades de luz, porque no todas las especies tienen igual demanda; la formación y acumulación de algunos principios activos están muy influenciadas por este factor, muchas de ellas, fundamentalmente las que producen aceite esencial, requieren de la luz para sintetizar sus principios activos, por lo que se plantea que su cultivo se debe realizar bajo condiciones de luz intensa, se añade además que por acción de este factor las respuestas son muy variadas, que pueden ocurrir variaciones tanto en los porcentajes del aceite como en sus componentes. Se cita el caso de *Mentha piperita*, donde las altas temperaturas afectaron tanto los porcentajes del aceite porque se aumenta su volatilización, como su calidad, al presentar menor contenido de mentol y mayor de mentona.¹¹

De igual modo se pudo demostrar que el cultivo de *Piper auritum*, otra especie productora de aceite esencial, se debe realizar al sol, pues aun cuando la planta prefiere lugares sombreados y húmedos para su desarrollo, se comprobó que para lograr mayor contenido de aceite esencial es mejor cultivarla a plena exposición solar.¹²

Respecto a la hora de cosecha se obtuvo mayor concentración a las 11:00 a.m. y los más bajos valores a las 9:00 a.m. y 3:00 p.m. En cualquiera de los casos estuvo presente el alcanfor y la artemisinina, se aconseja que la mejor hora es cuando las temperaturas no son tan altas para evitar pérdidas de artemisinina y la volatilización de los aceites por calentamiento.⁷

En cuanto al momento de cosecha y su relación con la edad de la planta, se observó que las que provienen del semillero de diciembre alcanzaron mayor altura, lo cual motivó que el porcentaje de tallos gruesos fuera superior en cualquiera de las edades, así como que se va incrementando de 13 a 15 % cuando se hizo la cosecha a los 5 meses de edad de 45 a 47 % cuando se realiza a los 7 meses, donde la porción de tallos que hay que desechar fue superior al 45 %; se plantea la comprobación de que en los tallos viejos solo existen trazas de los principios activos,^{13,14} que los contenidos de artemisinina y de aceites esenciales en esta planta se encuentran debajo de la película externa de la epidermis de las hojas que la recubre por completo,^{8,9} que esta es la razón por la cual se señalan las partes aéreas desprovistas de tallos viejos como droga oficial de esta planta.¹⁵

También se pone de manifiesto que a la edad de 5 meses las plantas presentaban el rendimiento más bajo, luego a los 6 meses se produjo un incremento de alrededor del doble en relación con la anterior edad y con posterioridad vuelve a disminuir, pero nunca al nivel de los rendimientos de la edad de 5 meses. Algunos

autores han expresado que el mejor momento para realizar la cosecha en esta especie es cuando presenta estado vegetativo tardío.^{14,16}

En nuestro caso se encontró también que del follaje total cosechado, cuando se obtuvo el mayor volumen de biomasa, a la edad de 6 meses, 65 % correspondía a ramas y de ellos 25 % era de hojas y el resto tallos finos de las ramas. Algunos investigadores exponen que en plantas cosechadas en estado vegetativo tardío la contribución de hojas frescas y de tallo dentro de la masa cosechada fue de 27 a 29 % y más de 70 % eran tallos,¹⁴ entonces por el gran volumen de tallo principal y ramas laterales que debe ser manipulado y el bajo contenido de artemisinina y aceite que ellos contienen, es necesario encontrar la técnica apropiada de cosecha mediante alguna forma de separación mecánica de estos componentes de la planta.¹⁶

En la figura donde se muestran los resultados de las interacciones, resaltan los rendimientos notables obtenidos en las plantas de 6 meses de edad, con pocas diferencias en las dos fechas de siembra en las que se hizo el estudio y los bajos rendimientos cuando se cosechan a la edad de 5 meses.

En cuanto a los parámetros farmacognósticos se ratificó que los mayores porcentajes se logran en la cosecha a los 6 meses de edad cuando los semilleros se hacen a inicios de noviembre, aunque cuando se realizan a inicios de diciembre los porcentajes de aceite y de sustancias solubles fueron algo mayores a la edad de 5 meses.

En la búsqueda del desarrollo de *A. annua* como nuevo cultivo medicinal en Cuba, es una necesidad vital para hacer rentable la producción de drogas antipalúdicas, optimizar factores del rendimiento como son la producción de biomasa, la proporción del órgano a cosechar, en este caso las hojas, así como también incrementar los porcentajes de los principios activos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blanke CH, Naisabha GB, Balema MB, Mbaruku GM, Heide L, Müller MS. Herba *Artemisiae annuae* tea preparation compared to sulfadoxine-pyrimethamine in the treatment of uncomplicated falciparum malaria in adults: a randomized double-blind clinical trial. *Trop Doct.* 2008;38(2):113-6.
2. Kuhn T, Wang Y. Artemisinin - an innovative cornerstone for anti-malaria therapy. *Prog Drug Res.* 2008;66(3):385-422.
3. Efferth T. Antiplasmodial and antitumor activity of artemisinin. *Rev Planta Medica.* 2007;73(2):299-309.
4. Bagchi GD, Haider F, Dwivedi PD, Singh A, Nagvi A. Essential oil constituents of *Artemisia annua* during different growth periods at monsoon conditions of subtropical north Indian plain. *J Essential Oil Res.* 2003;15(2):121-4.
5. Qiu Qin, Zhaojie Cui, Tingli Liu, Shang Tian. Study of chemical constituents of volatile oil from *Artemisia annua* L. by GC/MS. *Chinese Traditional Patent Medicine.* 2001;23(4):278-80.

6. Delabays N, Darbelly Ch, Galland N. The variation and heredability of *Artemisia annua* L. En: Wright CW, editor. *Artemisia*. London: Taylor and Francis; 2002. p. 197-209.
7. Laughlin JC, Heazlewood GN, Beatlie BB. Cultivation of *Artemisia annua* L. En: Wright CW, editor. *Artemisia*. London: Taylor and Francis; 2002. p. 159-96.
8. Tellez MR, Canel C, Rimando AM, Duke SO. Differential accumulations of isoprenoids in glanded and glandless *Artemisia annua* L. *Phytochemistry*. 1999;52(6):1035-44.
9. Van Nieuwerburgh FC, Vande Castele SR, Maes L, Goossens A, Inze D, Van Boexlaer J, et al. Quantitation of artemisinin and its biosynthetic precursors in *Artemisia annua* L. by high performance liquid chromatography-electrospray quadrupole time of flight tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2006;1118(2):180-7.
10. Acosta L, Rodríguez C, Hechevarría I. Determinación de la fecha de siembra y el método de plantación en *Artemisia annua* L. introducida en Cuba. *Rev Cubana Plant Med*. 2010;15(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
11. Vogel H. Efectos ambientales y de manejo sobre la calidad en especies medicinales y aromáticas. En: Seminario Cultivo y Exportación de Plantas Medicinales y Aromáticas. Situación y Perspectivas para Chile. Universidad de Talca, Chile: Ed. Herminie Vogel; 1996. p. 7-20.
12. Lemes M, Rodríguez C, Reyes M, Echevarria I. Efecto de las condiciones de cultivo sobre el rendimiento de follaje y el porcentaje de aceite esencial en hojas de *Piper auritum* Kunth (caisimón de anís). *Rev Cubana Plant Medicinales* 1998,3(1):37-41. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol3_1_98/pla08198.htm
13. Debrunner N, Dvorak V, Malgahaes P, Delabays N. Selection of genotype of *Artemisia annua* L. for the agricultural production of artemisinin. En: Pank F, editor. *Proceeding of International Symposium: Breeding Research in Medicinal and Aromatic Plants*. Germany: Quedlinburg; 1996. p. 222-5.
14. Woerdenbag HJ, Pras N, Chan NG, Bang BT, Bos R, Van Uden W, et al. Artemisinin, related sesquiterpenes and essential oil in *Artemisia annua* during one vegetation period in Vietnam. *Rev Planta Medica*. 1994;60(3):272-5.
15. The Peoples Republic of China Pharmacopoeia. Vol.1. Beijing: Chemical Industry Press; 2000.
16. Laughlin JC. The influence of distribution of antimalarial constituents in *Artemisia annua* L. on time and method of harvest. *Acta Hort*. 1995;390:67-73.

Recibido: 15 de julio de 2010.
Aprobado: 8 de octubre de 2010.

Lérida Acosta de la Luz. Laboratorio Central de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende", Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: lerida@infomed.sld.cu