

Disminución de tránsito intestinal y ausencia de toxicología aguda preclínicas de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb

Reduction of the intestinal transit and lack of preclinical acute toxicology of decoction from *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb fresh aerial parts

MSc. Ana Ibis García Hernández, MSc. María del Carmen Victoria Amador, Dr. C. Francisco Morón Rodríguez, Lic. Marisol López Barreiro, Lic. Elisa Boucourt Rodríguez, Lic. María J. Martínez Guerra, Lic. Zulema Morejón Rodríguez

Laboratorio Central de Farmacología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb (manzanilla), se emplea tradicionalmente en Cuba para afecciones digestivas como malas digestiones y diarrea aguda simple; no se encontraron estudios de validación preclínica del efecto antidiarreico y su seguridad.

Objetivos: evaluar la acción sobre el tránsito intestinal y la toxicología aguda oral y tópica en modelos preclínicos de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*.

Métodos: se colectaron las partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* y se realizó decocción (30 y 50 %). Se aplicó el modelo experimental: tránsito intestinal en ratones con una sola administración de la decocción al 30 % en dosis de 1,0, 5,0 y 10,0 g de material vegetal/kg de peso corporal por 1 día; y en dosis de 1,0 y 5,0 g de material vegetal/kg de peso corporal por 4 días. El estudio toxicológico oral y tópico (decocción 50 %) se efectuó en los modelos: clases tóxicas agudas y toxicidad dérmica aguda en ratas con dosis de 2 000 mg/kg de peso corporal e irritabilidad dérmica primaria en conejos.

Resultados: la decocción administrada por 1 día no modificó de forma significativa el tránsito intestinal, la administración por 4 días disminuyó de forma significativa y dosis dependiente el tránsito intestinal (5,0 g/kg). en el estudio toxicológico no se produjo ninguna muerte, no se evidenciaron signos de toxicidad ni lesiones macroscópicas en los órganos de las ratas, el aumento de peso fue el esperado. El índice de irritación primaria reflejó 0.

Conclusiones: los resultados permiten validar el efecto antidiarreico de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* para afecciones digestivas y no clasifica como tóxico.

Palabras clave: *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb, manzanilla, diarrea toxicología, antidiarreico.

ABSTRACT

Introduction: *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb (chamomile) fresh aerial part decoction is traditionally used in Cuba to treat digestive disorders as upset stomach and simple acute diarrheas. However, there were no previous preclinical validation studies on the antidiarrheal effect and safety of this species.

Objectives: to evaluate the action of decoction from *Phania matricarioides* fresh aerial parts on the intestinal transit and the oral and topical acute toxicology in preclinical models.

Methods: the fresh aerial parts of this plant were harvested and decoction was obtained (30 and 50 %). The experimental model of intestinal transit in mice, with 30 % decoction being administrated once at doses of 1.0, 5.0 and 10.0 g of vegetal material/kg of bodyweight for one day, and at doses of 1.0 and 5.0 g/kg for 4 days, was applied. The oral and topical toxicological study (50 % decoction) was conducted in the models acute-toxic and acute dermal toxic classes in rats at a dose of 2000 mg/kg of bodyweight and primary dermal irritability in rabbits.

Results: the decoction administered for one day did not significantly change the intestinal transit, but the administration for 4 days did significantly change, depending on dose, the intestinal transit (5.0 g/kg). There was no death in the study, there were neither signs of toxicity nor macroscopic lesions in the rats' organs, whereas the weight gain behaved as expected. The index of primary irritation was null.

Conclusions: the results allow validating the antidiarrheal effect of *Phania matricarioides* fresh aerial parts decoction on digestive disorders and it is not toxic.

Key words: *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb, chamomile, diarrhea, toxicology, antidiarrheal.

INTRODUCCIÓN

En Cuba, la atención médica tiene una amplia cobertura, hay una rica flora como parte de la biodiversidad, con plantas medicinales o que potencialmente lo son; y una tradición popular en su empleo para dar solución sobre todo a problemas primarios de salud. Debido a ello se realizan notables esfuerzos para difundir el

conocimiento de las especies útiles y demostrar científicamente sus efectos beneficiosos.¹

Phania matricarioides (Spreng.) Griseb es una de las especies medicinales empleadas por la población cubana, tiene diversos usos tradicionales, pero uno de los más referidos en las encuestas TRAMIL^{2,3} (más de 20 % de los encuestados) que se considera significativo (Morón F. y otros, Encuesta TRAMIL sobre usos de plantas medicinales en Ciudad de La Habana, 2007) es para afecciones digestivas,⁴ como dolor de estómago, mala digestión y diarrea aguda simple. Esta planta se encuentra en todo el país y es cultivada en jardines, existe además en otros países de América continental y el Caribe.^{2,5}

Es popularmente nombrada: manzanilla, manzanilla de jardín o manzanilla de la tierra. *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb aparece clasificada por primera vez en el *Catalogus plantarum cubensium*, página 145 de 1866.⁶ Como nombre sinónimo tiene *Hymenopappus matricarioides* Spreng. pertenece a la familia Asteraceae Bercht. & J. Presl, y al género *Phania* DC.⁶

Otras especies del mismo género presentes en Cuba son: *Phania cajalbanica* Borhidi, *Phania domingensis* Griseb., *Ageratum domingense* Spreng.⁷

P. matricarioides (manzanilla de la tierra.) es una planta sufruticosa, ramosa, tomentosa; con hojas de contorno aovado a oblongo, dentadas o lobuladas, más redondeadas en el ápice y truncadas a subacorazonadas en la base, capítulos en cimas laxas, mayormente glandulíferas.^{5,8}

Las partes aéreas frescas son usadas por la población en forma de decocción o infusión para solucionar estos problemas de salud relacionados con su posible acción sobre la motilidad intestinal (Morón F. y otros, Encuesta TRAMIL sobre usos de plantas medicinales en Ciudad de La Habana, 2007).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda tratar la diarrea simple en todas las edades empleando medidas higiénico-dietéticas y sales de rehidratación oral, así como abstenerse de administrar cualquier otro medicamento por la dudosa o no demostrada eficacia y por el importante número y gravedad de efectos indeseables que pueden con frecuencia producir una relación riesgo/beneficio desfavorable.

Sin embargo, tanto los médicos como los pacientes demandan disponer de algún recurso terapéutico para aliviar los cólicos, así como reducir los restantes síntomas y el tiempo de evolución de la enfermedad. Además, para todos es conocido que hay una elevada tendencia a que los pacientes recurran al empleo de decocciones de alguna de las diversas plantas, popularmente reconocidas para esa finalidad.

En estudios recientes que forman parte de un proyecto de validación preclínica de los usos tradicionales de la decocción de partes aéreas frescas de *P. matricarioides*, se obtuvo que los principales componentes son: compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, compuestos lactónicos, triterpenos o esteroides, terpenos y ácidos orgánicos.⁹ Además se reportó actividad analgésica periférica y antiinflamatoria por vía oral y tópica, que permite su validación para afecciones dermatológicas y digestivas.¹⁰ Debido a la ausencia de información en la literatura científica nacional e internacional (no se encontró ningún estudio publicado sobre la especie o el género *Phania* en las bases PubMed, LILACS, NAPRALERT y CUMED), y el uso medicinal para afecciones digestivas que de manera tradicional hace la población cubana, nos planteamos realizar este trabajo cuyo objetivo fue evaluar la

acción sobre el tránsito intestinal y la toxicología aguda oral y tópica en modelos preclínicos de la decocción de partes aéreas frescas de *P. matricarioides*.

MÉTODOS

Material vegetal y extracto

Se colectaron las partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb (manzanilla de la tierra) y se realizó la identificación botánica por el Dr. C. Víctor Fuentes Fiallo con número de *voucher* ROIG 4752 en la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig". Se guardó una copia para el herbario de nuestro laboratorio.

Se preparó una decocción al 30 o 50 % (30 o 50 g de partes aéreas frescas lavadas y cortadas en pequeños pedazos en 100 mL de agua destilada), en recipiente de cristal tapado, con ebullición a fuego bajo durante 5 min; se retiró del calor, se dejó refrescar, filtró y se enrasó para lograr el porcentaje deseado de 30 o 50 %.

Estudios farmacológicos

Modelo de tránsito intestinal en ratones

Se utilizó como modelo *in vivo* para determinar el efecto de la decocción sobre la motilidad intestinal.^{11,12}

Se emplearon ratones machos de la línea Swiss (OF-1) procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), con un peso corporal comprendido entre 18 y 20 g. Se privaron de alimento y agua durante las 6 h previas al experimento. Se distribuyeron al azar en grupos de 10 ratones para cada dosis en los respectivos tratamientos.

Se realizó con 2 esquemas de tratamiento:

Primero, con una sola administración de la decocción al 30 % en dosis de 1,0; 5,0 y 10,0 g de material vegetal/kg de peso corporal (pc). Segundo, con una sola administración de la decocción al 30 % en dosis de 1,0 y 5,0 g de material vegetal/kg de peso corporal (pc) por 4 días de tratamiento.

Los animales de los grupos controles recibieron agua destilada con el volumen de la mayor dosis empleada de extracto.

Los tratamientos se hicieron por vía oral mediante sonda orogástrica.

Tanto en el esquema de administración de la decocción por un día como en el de 4 días, en su último día de tratamiento, transcurridos 60 min, se administró una suspensión de carbón activado al 10 % (0,1 mL/10 g de peso) por vía oral a cada animal.

Pasados 30 min, se sacrificaron los ratones en una atmósfera de cloroformo y se les extrajo el tubo digestivo desde el cardias hasta la válvula ileocecal.

Se midió la distancia recorrida por el carbón activado desde el píloro hasta el lugar más distal donde llegó esta sustancia como marcadora. Se tomó como 100 % el largo total del intestino desde el píloro hasta la válvula ileocecal de cada ratón, calculando el porcentaje del avance del carbón en cada animal que da la variable tránsito intestinal.

Estudios toxicológicos

*Modelo de clases tóxicas agudas*¹³

Se emplearon ratas machos y hembras no isogénicas, convencionales, de la línea *Wistar* (200 ± 20 g). Se preparó una decocción de partes aéreas frescas al 50 % que tuvo como rendimiento 1,64 % de sólidos totales

La decocción se administró por vía oral con sonda orogástrica en dosis de volumen máximo (2 mL/100 g) para cada animal. El grupo control recibió agua destilada de manera isovolumétrica con la mayor dosis empleada.

Se emplearon 6 animales por dosis (3 de cada sexo), los grupos se conformaron de manera aleatoria. Los animales se observaron constantemente durante las primeras 4 h, la evaluación continuó de forma diaria durante 14 días. Se registraron las muertes en las primeras 24 h y cualquier signo clínico durante los 14 días de observación; la variable peso se controló al inicio, a los 7 días y a los 14 días previo al sacrificio de los animales, y se realizó un estudio macroscópico de los órganos.

*Toxicidad dérmica aguda*¹³

Se emplearon ratas machos y hembras no isogénicas, convencionales, de la línea *Wistar* (200 ± 20 g). Se preparó una decocción de partes aéreas frescas al 50 % que tuvo como rendimiento 1,89 % de sólidos totales

La decocción se administró por vía tópica en dosis de 2 g/kg pc/100 mL.

Se emplearon 10 animales por dosis (5 de cada sexo), los grupos se conformaron de manera aleatoria; 24 h antes del ensayo se afeitó la piel sobre el dorso, equivalente aproximadamente a 10 % del área superficial total del cuerpo. Posteriormente, se aplicó la decocción al 50 % en dosis de 2 g/kg pc/100 mL a cada animal, mediante el sistema de parches; se registraron los signos y síntomas farmacotóxicos durante las primeras 4 h después de la aplicación.

La decocción en estudio se dejó en contacto con la piel durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se removió la cubierta y se eliminó el agente residual por lavado con agua destilada, con ayuda de una almohadilla de gasa estéril.

Los animales se observaron constantemente durante las primeras 4 h, la evaluación continuó de forma diaria durante 14 días. Se registraron las muertes en las primeras 24 h y cualquier signo clínico durante los 14 días de observación; la variable peso se controló al inicio, a los 7 días y a los 14 días previo al sacrificio de los animales, y se realizó un estudio macroscópico de los órganos.

La observación clínica los animales incluyó la apreciación del comportamiento y del estado físico general de la mucosa nasal y ocular en busca de secreciones de la piel y el pelaje, del sistema respiratorio, circulatorio, nervioso central y autónomo, en

busca de cambios. Se prestó especial atención a la posible ocurrencia de signos como temblores, convulsiones, diarrea, letargo, salivación, sueño y coma.

Estudio anatomopatológico

El estudio anatomopatológico se realizó a todos los animales al finalizar el tratamiento. La eutanasia se hizo con una sobredosis de éter, llevando a cabo las correspondientes observaciones macroscópicas de los órganos siguientes: corazón, pulmones, riñones, bazo, hígado, estómago e intestino.

Irritabilidad dérmica primaria¹⁴

Se utilizaron 3 conejos albinos de la línea New Zelanda con un peso de 2,0 kg (hembras o machos).

Se removió el pelo del tronco de los animales 24 h antes del ensayo, teniendo cuidado de no erosionar la piel. Se utilizaron 0,6 mL del extracto, que se aplicó en un área aproximada de 6 cm² de la piel y se cubrió con un parche de gasa sostenido a esta mediante un esparadrapo no irritante; se utilizaron 3 sitios en igual número de animales y se separaron en cajas de retención, para evitar que estuvieran en contacto con el parche.

Al final del período de exposición (4 h), se removió la sustancia remanente con agua destilada para evitar el daño a la epidermis.

Las lecturas para eritema y edema se hicieron a 1 h, 24, 48 y 72 h posteriores a la remoción del parche.

Las lesiones se evaluaron de acuerdo con las escalas establecidas (tablas 1 y 2).

Se obtuvo el índice de irritación primaria (IIP):

$$IIP = \frac{\text{Eritema} + \text{edema}}{nt}$$

donde: n= animales, t= tiempo

Tabla 1. Escala de las lesiones

Eritema y escaras	Formación de edemas	
Eritema muy ligero	Muy ligero edema(escasamente perceptible)	1
Eritema bien definido	Ligero edema (bordes del área bien definido)	2
Moderado a severo eritema	Moderado edema (elevación aproximada de 1 mm)	3
Severo eritema o formación de escaras	Severo edema (elevación > 1 mm) fuera de sitio de exposición	4

El eritema se estableció por visualización y el edema por palpación ligera.¹⁴

Tabla 2. Escala evaluación de irritabilidad de Draize

No irritante	$0,0 < X < 0,4$	Se aprueba el producto
Ligeramente irritante	$0,4 < X < 2,0$	
Moderadamente irritante	$2,0 < X < 5,0$	Se rechaza
Irritante severo	$5,0 < X < 8,0$	

Si se necesita clarificar alguna duda, es posible hacer histopatología.

Procedencia y atención a los animales

Todos los animales empleados en este estudio fueron suministrados por el CENPALAB y mantenidos en cajas de poliuretano-T4 en el bioterio del Laboratorio Central de Farmacología, a temperatura de 23 °C, humedad relativa de 50 a 60 %, un período de luz-oscuridad de 12 h cada uno, con libre acceso a pienso para ratones y ratas ALYCO® CMO 1000 y al agua. Se mantuvieron sin alimento, pero con libre acceso al agua, durante las 12 h antes del estudio; el cual se hizo cumpliendo las guías de buenas prácticas¹⁵ para el cuidado y uso de animales de laboratorio.¹⁶

Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a prueba de hipótesis de distribución normal de las variables estudiadas, utilizando el estadígrafo W y se encontró que se distribuyen normalmente; se aplicó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre las medias de los grupos. La comparación de medias entre 2 grupos se hizo mediante la t de *Student*. El nivel de significación fue de 5 % ($p < 0,05$).

Aspectos éticos

La investigación preclínica se realizó principalmente en animales. Estos procedieron del CENPALAB y se cumplieron las normas éticas establecidas.^{15,16} Se empleó el menor número de animales posible en cada modelo experimental, tomando cuidado para evitar sufrimiento innecesario y se mantuvieron en el bioterio con condiciones adecuadas de climatización, alimentación y acceso a agua.

RESULTADOS

Modelo de tránsito intestinal en ratones

La decocción al 30 % de partes aéreas frescas con las dosis 1,0; 5,0 y 10,0 g/kg pc, administradas en dosis única, no modificó de manera significativa el tránsito intestinal en ratones ($F = 0,571$; $p = 0,6371$) (Fig. 1).

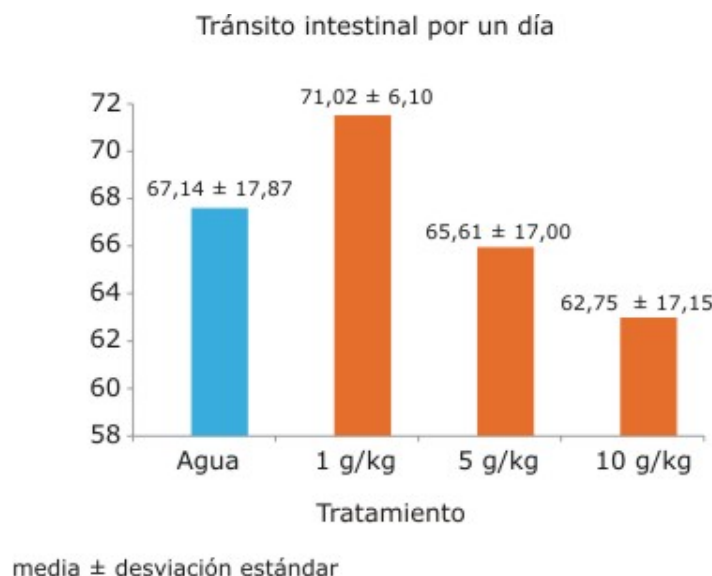
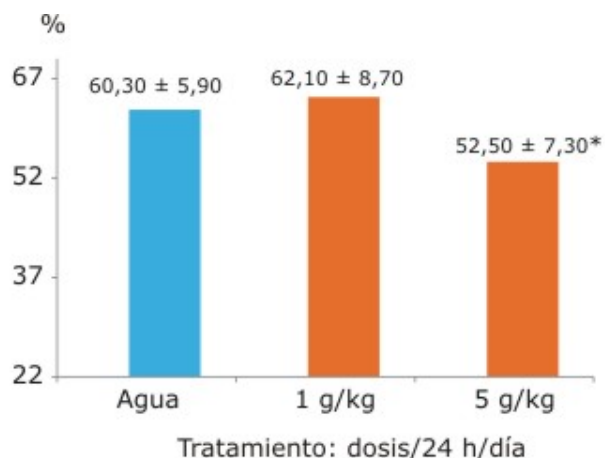


Fig. 1. Efecto de la decocción de partes aéreas frescas (30 %) de *Phania matricarioides* en dosis única sobre el tránsito intestinal en ratones.

La decocción al 30 % de partes aéreas frescas con las dosis 1,0 y 5,0 g/kg pc, administradas en dosis repetidas por 4 días disminuyó significativamente ($F = 5,723$; $p = 7,206e^{-03}$) y de manera dosis dependiente el tránsito intestinal. Las medias de los animales tratados con la decocción, con dosis de 5,0 g/kg ($t = 2,1603$; $p = 0,0199$) resultaron significativas con relación al grupo control que recibió agua destilada por la misma vía (Fig. 2).



media ± desviación estándar

Fig. 2. Efecto de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (30 %) en dosis repetidas (4 días) sobre el tránsito intestinal en ratones.

Clases tóxicas agudas

La decocción al 50 % de partes aéreas frescas (volumen máximo de 2 mL/100 g), no causó muerte, ni signos clínicos o daños macroscópicos en los estudios de Clases tóxicas agudas en los animales

En las ratas de los 2 sexos (machos y hembras) hubo ganancia de peso en los 14 días de observación tanto para el grupo tratado como para el grupo control, que resultó significativa ($F= 25,372$; $p= 5,442 e^{-06}$) y ($F= 26,891$; $p= 3,978e^{-06}$) (Fig. 3).

Toxicidad aguda dérmica

La administración tópica a través de parches de la decocción al 50 % de partes aéreas frescas a una dosis de 2,0 g/kg pc/100 mL, no causó muerte ni signos clínicos o daños macroscópicos.

En las ratas de los 2 sexos (machos y hembras) hubo ganancia de peso en los 14 días de observación; la comparación de medias de día 0 en relación con el día 14; arrojó diferencia significativa en la ganancia de peso ($t= 2,9309$; $p= 0,0131$) y ($t= 1,9684$; $p= 0,0483$), respectivamente; el aumento de peso es el esperado en este estudio de toxicidad aguda dérmica (Fig. 4).

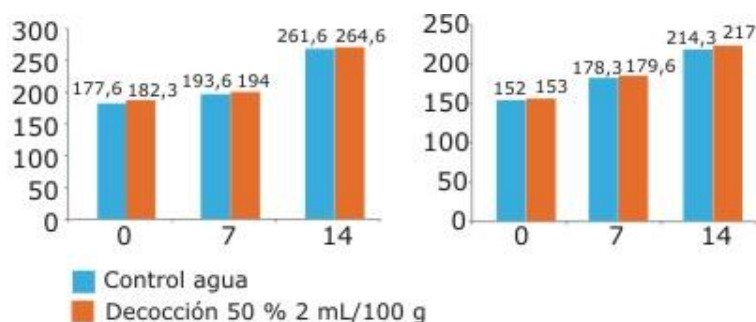


Fig. 3. Variación de peso en clases tóxicas agudas de la decocción 50 % de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* en ratas machos y hembras.

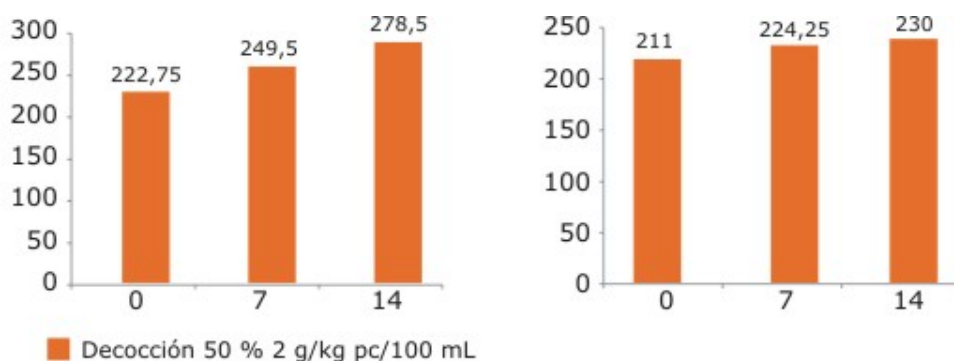


Fig. 4. Variación de peso en toxicidad aguda dérmica de la decocción 50 % de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* en ratas machos y hembras.

Irritabilidad dérmica primaria

En la evaluación de la irritabilidad dérmica primaria con la decocción al 30 % de partes aéreas frescas de *P. matricarioides*, los animales en estudio no presentaron eritema ni edema en la piel. Se obtuvo un índice de irritación primaria de cero.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, la acción sobre la motilidad intestinal de la decocción con una sola administración de las diferentes dosis en 1 día, no modificó de manera significativa el tránsito intestinal, sin embargo, cuando se administró por 4 días

disminuyó de forma significativa y a dosis dependiente (5,0 g/kg) el tránsito intestinal. Esto pudo estar dado porque con una sola administración no se logró alcanzar la concentración mínima eficaz (CME), pero al administrar la decocción por varios días, la nueva dosis se suma a lo que queda de la anterior, se produce una acumulación que eleva la concentración plasmática con la que se alcanza la CME, por lo que disminuye el tránsito intestinal. Este efecto sugiere que la acción sobre la motilidad puede estar mediada por la inhibición de la síntesis de eicosanoides o una acción similar a los fármacos anticolinérgicos, resultado en este modelo farmacológico preclínico,¹⁷ que permite sustentar la hipótesis del uso tradicional de las partes aéreas frescas de *P. matricarioides* para tratar la diarrea simple. Así se ha demostrado en estudios efectuados con similar objetivo en plantas como el *Psidium guajava* L. (guayaba)¹² y el *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo).¹⁸

La no aparición de alteraciones en los signos clínicos con la administración de una sustancia para la evaluación de su efecto agudo es un factor importante a tener en cuenta, porque las alteraciones del cuadro clínico pueden resultar una clara exposición de posibles alteraciones anatomofisiológicas producidas por la acción tóxica de una sustancia. Esto sería dependiente de varios factores como la duración de la exposición, el grado y la generalización de la lesión, los órganos diana afectados, la cantidad total de la sustancia en sangre, edad y salud general del animal.¹⁹

El peso de los animales en un estudio de toxicidad posee una importancia vital como posible indicador de daño provocado por la sustancia evaluada, por tal motivo, una variación significativa en este indicador sugiere un posible daño orgánico.

En nuestra investigación el estudio de toxicidad aguda, en la decocción al 50 % de partes aéreas frescas de *P. matricarioides* por vía oral y tópica, no se produjo ninguna muerte, no se evidenciaron signos de toxicidad, ni lesiones macroscópicas en los órganos de las ratas tratadas. Además, el aumento de peso fue el esperado para las ratas y no hubo diferencia significativa entre los tratados con la decocción con relación a los controles.

Se debe destacar que no existen guías establecidas para evaluar la toxicidad aguda de plantas medicinales y de medicamentos herbarios, la empleada por nosotros establece que la dosis máxima debe ser 2 g/kg para los principios activos y se dice que no clasifica como tóxico (ATC0) cuando no causa muertes.²⁰

Una persona adulta que consume una planta medicinal de manera tradicional en decocción o infusión, lo hace aproximadamente en una dosis equivalente a 8 g de material vegetal seco/24 h; como ocurre con las bolsas filtrantes que se venden comercialmente y que suelen contener 2 g/bolsa, de esa manera un adulto de 70 kg de peso consume alrededor de 0,11 g de material vegetal seco/kg/día.

En nuestro estudio, las dosis para evaluar la toxicidad aguda de la decocción al 50 % resultaron 90,90 veces superiores, a las consumidas habitualmente de manera tradicional. Lo anterior demuestra que las dosis empleadas resultaron muy superiores a las utilizadas en adultos humanos.

Nuestros resultados permiten concluir que la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* no clasifica como tóxico, así como validar su uso tradicional para el tratamiento de afecciones digestivas, entre ellas, la diarrea aguda simple, por su disminución del tránsito intestinal que explica su efecto antidiarreico; constituye además un aporte al conocimiento científico que acredita su seguridad y actividades biológicas para su empleo por la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morón F, Jardines JB. La medicina tradicional en las universidades médicas. En: Etnomedicina progresos italo-latinoamericanos. Quito: Editorial Abya Yala, 1997;2:249-64.
2. Carballo A. Listado las Encuestas TRAMIL 1990. Topes de Collantes, Trinidad, Cuba. En: TRAMIL. Farmacopea Vegetal Caribeña. 2da ed. [CD-ROM]. León, Nicaragua: Editorial Universitaria UNAN-León; 2005. p. 486. ISBN 99924-56-25-6.
3. Robineau L. Hacia una Farmacopea Caribeña. TRAMIL 7. Santo Domingo, República Dominicana: Editorial BUHO; 1995.
4. Longuefosse JL, Nossin E. Association pour la valorisation des plantes médicinales de la Caraïbe. Enquête TRAMIL 1990-95, Martinique. En: TRAMIL. Farmacopea Vegetal Caribeña. 2da ed. [CD-ROM]. León, Nicaragua: Editorial Universitaria UNAN-León; 2005. p. 486. ISBN 99924-56-25-6.
5. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba. 2da ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1992. p. 619-21.
6. Missouri Botanical Garden-w³TROPICOS. *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb. Nomenclatural Data Base. [en línea] [fecha de acceso 7 Nov 2011]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/namesearch.aspx>
7. Herrera Oliver P. Asteraceae. Centro Nacional de Biodiversidad (CeNBio) IES. [en línea] [fecha de acceso 15 Nov 2011]. Disponible en: <http://www.ecosis.cu/cenbio/publicacionescenbio.htm>
8. Plantas de Viñales. Guía Ilustrada. *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb. Nomenclatural. [en línea] [fecha de acceso 8 Sep 2011]. Disponible en: http://www.cybertruffle.org.uk/vinales/esp/phania_matricarioides.htm
9. Cabrera H, Morón F, Victoria MC, García AI, Acosta de la Luz L. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2012 Sep [citado 2012 Jul 20];17(3):268-78. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000300007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
10. García AI, Victoria MC, Morón F, Cabrera H, Frías AI, López M, et al. Validación preclínica de actividad analgésica y antiinflamatoria de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2012 Junio 17(4).Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000400009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
11. Arbos J, Zegri A, López-Soriano FRJ, Argiles JMA. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Arch Physiol Biochim Biophys. 1993;101:103-15.
12. Morón F, Martínez MC, Morón D. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.) oral. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 1999 Ago [citado 2012 Ene 25];4(2):54-6. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961999000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

13. Organization for Economic Cooperation and Development. Guidelines 423: Acute Toxic Class Method. Paris: OECD; 2001.
14. ISO Biological Evaluation of Medical Devices Part 10. Test for irritation and sensitization. International Organization for Standardization; 1992.
15. Cuba. Para la Protección de la Salud Pública. Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio no Clínico de Seguridad Sanitaria y Medioambiental: Regulación 39/2004. La Habana: El Buró Regulatorio; 2004.
16. EE.UU. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington DC: National Academy Press; 2001. p. 21-79.
17. Gracia AJ, Martínez MC, Morón F. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2001 Abr [citado 2011 Dic 13];6(1):19-22. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
18. Celorio S, de Armas C, Linares F. Acción antiespasmódica *in vitro* de las hojas de *Foenium vulgare* Mill (hinojo). Rev Cubana Farm. 2001;35(suplemento especial):167-9.
19. Pérez L, Alfonso A, Fong O, Betancourt J, Salas H, Puente E, et al. Toxicidad a dosis repetida de la decocción de *Solanum torvum* Sw. (predejera) en ratas. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2010 Jun [citado 2011 Dic 09];15(2): 51-9. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
20. Schlede E, Mischke V, Roll R, Kayser D. A national validation study of the acute-toxic-class method as alternative to the LD 50 test. Arch Toxicol. 1992;66:455-70.

Recibido: 28 de junio de 2012.

Aprobado: 29 de julio de 2012.

Ana Ibis García Hernández. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende". Laboratorio Central de Farmacología. Carvajal s/n entre Agua Dulce y A. Cerro, La Habana 12000, Cuba. Teléf.: (53-7) 8776661 Ext. 1049 Correo electrónico: anaibisgar@infomed.sld.cu