Acta Farm. Bonaerense **25** (2): 225-30 (2006)
Recibido el 22 de octubre de 2005
Aceptado el 18 de diciembre de 2005

Diseño de Comprimidos de Extracto de *Aloysia polystachya* por Compresión Directa

María I. AGUADO [1]*, María B. NUÑEZ [1], Hugo N. DUDIK [1]; Alberto BELA [1], Jorge S. RAISMAN [1] & Pedro SANSBERRO [2]

[1] *Facultad de Agroindustrias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Cdte. Fernández 755, (3700) R. Sáenz Peña, Pcia. del Chaco, Argentina.*
[2] *Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE) , Universidad Nacional del Nordeste UNNE-CONICET Sargento Cabral 2131. (3400) Corrientes, Argentina.*

RESUMEN. La presente publicación refleja fundamentalmente los aspectos farmacotécnicos de la elaboración de comprimidos por compresión directa, conteniendo extracto pilular de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold. (20% en peso). Se partió de material vegetal estandarizado, obtenido de ejemplares logrados por micropropagación vegetativa y cultivados bajo cubierta en condiciones controladas. Se prepararó extracto fluido y luego, por desecación, el correspondiente extracto pilular. A efectos de llevar el extracto pilular de *A. polystachya* a un polvo adecuado para la compresión directa, se propusieron cuatro formulaciones alternativas. Los ensayos practicados a los comprimidos (peso promedio, dureza, friabilidad y desintegración) permitieron determinar que una de las formulaciones propuestas presenta mejores parámetros reológicos y biofarmacéuticos.

SUMMARY. "Design of Aloysia Polystachya Tablets by Direct Compression". This paper basically reflects pharmaceutical technology aspects of the attainment of tablets by direct compression, containing *Aloysia polystachya*'s pilular extract (20% in weight). The starting point involved standardized plant material obtained from plants developed by vegetative micropropagation and cultivated under cover in controlled conditions. Fluid extract was prepared and then, by dessecation, the respective pilular extract. Four powder formulations were proposed with the aim of converting *A. polystachya*'s pilular extract in a suitable powder for direct compression. The assays performed to tablets (media weight, hardness, friability and disintegration) allowed to find that one of the proposed formulations presents better reological and biopharmaceutical parameters than the others.

INTRODUCCION

El consumo de preparados a partir de plantas medicinales (infusiones, decocciones, tinturas, extractos, etc.) es una práctica arraigada en nuestra sociedad en general y en nuestra región en particular. Sin embargo, en los últimos años ha aumentado debido a diferentes razones. Entre las más importantes pueden mencionarse: la tendencia a la automedicación, inducida en algunos casos por propagandas engañosas, prácticas de medicinas alternativas y el empleo popular o folclórico de especies no solo autóctonas, sino también de otras introducidas comercialmente [1].

El uso de preparados de drogas vegetales (oficiales y no oficiales) con fines medicinales, pero que se elaboran y comercializan en un circuito ajeno al de los medicamentos, generó diversos problemas tanto a las autoridades sanitarias como a los consumidores de estos productos. En algunos casos se trataba de drogas, especialmente las de uso tradicional, de las que se desconocen los principios activos, y en otros, si bien éstos son conocidos, por su forma particular de elaboración no se registra la valoración de los mismos [1]. Se considera necesario, entonces, el desarrollo de formas farmacéuticas que contemplen la composición química de la droga vegetal, así como pautas de elaboración que satisfagan requerimientos farmacéuticos básicos de calidad y reproducibilidad en la preparación del producto de uso medicinal.

Aloysia polystachya (Griseb.) Mold. Verbenaceae, planta conocida comúnmente como "burro", "té de burro", "poleo real", "poleo riojano" o "poleo de Castilla", es un arbusto de hojas

PALABRAS CLAVE: *Aloysia polystachya,* Compresión directa, Comprimidos.
KEY WORDS: Aloysia polystachya, Direct compression, Tablets.

* Autor a quien dirigir la correspondencia. *E-mail:* marynes@fai.unne.edu.ar

aromáticas, originario de Argentina, que crece en las provincias de Salta, Tucumán, San Juan, La Rioja, Catamarca, San Luis, Chaco y Corrientes. Sus hojas contienen derivados terpénicos [2,3], por lo que las infusiones tienen propiedades tónicas, carminativas y digestivas, muy indicadas para dolores de estómago y digestiones lentas [4]. De acuerdo con la bibliografía existente se conocen dos variedades de A. polystachya: una proveniente del noroeste argentino, rica en tuyonas, y otra del nordeste, rica en carvona [3,5].

En el trabajo interdisciplinario realizado entre mayo 2001 y diciembre 2004 se ha buscado aprovechar las propiedades medicinales de *A. polystachya*, incorporando sus principios activos en comprimidos. La presente publicación refleja fundamentalmente los aspectos farmacotécnicos de la elaboración de comprimidos a partir del extracto vegetal de plantas elites obtenidas por multiplicación vegetativa y cultivadas bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Multiplicación del material vegetal y cultivo del mismo

Se trabajó con ejemplares obtenidos por micropropagación del cultivo *in vitro*. Para la micropropagación de esta especie, se ha utilizado una técnica [6] que permite la regeneración *in vitro* de plantas, mediante el cultivo de segmentos nodales conteniendo 1 a 3 yemas axilares. Los explantes fueron desinfectados en una solución de hipoclorito de sodio, enjuagados varias veces con agua destilada estéril y luego cultivados en el medio basal desarrollado para *A. polystachya*. Los plantines logrados fueron transferidos a macetas conteniendo un sustrato compuesto de tierra de monte, perlita y turba (2:1:1 v/v). Posteriormente fueron introducidos a invernadero, en macetas, en un sustrato compuesto por tierra de monte y arena (3:1 v/v).

Obtención de la materia prima

El material vegetal se recolectó manualmente, a partir de los seis meses de desarrollo de las especies. Las ramas de *A. polystachya* fueron lavadas en corriente de agua potable, desinfectadas en solución de hipoclorito de sodio al 1,2% y luego convenientemente enjuagadas y escurridas. Se desecaron a la sombra, a temperatura ambiente durante 4 días, en un ambiente higiénico, cerrado y aireado. Las hojas se procesaron con un molinillo de cuchillas Dalvo MC/I hasta obtener, por posterior tamización, la granulometría de polvo moderadamente grueso, según Farmacopea Nacional Argentina VI Edición [7]. Se calculó la pérdida de peso por desecación y luego dicho polvo se conservó en frasco de vidrio color caramelo y de cierre hermético hasta el momento de su empleo en el proceso de extracción.

Obtención de los extractos

El extracto fluido se obtuvo según el procedimiento de lixiviación *tipo A* propuesto por Farmacopea Nacional Argentina VI Edición [7], a partir del polvo moderadamente grueso y de etanol de 75°, en una proporción de material vegetal-menstruo de 1:1. En ensayos previos se estableció que el etanol de 75° era el solvente hidroalcohólico más adecuado.

El extracto fluido se concentró en un rotavapor Büchi R.114 con equipo de vacío, a temperatura de baño de 40 °C y durante 4 horas, obteniéndose el correspondiente extracto pilular. Para la determinación cualitativa de principios activos en el extracto fluido se realizó cromatografía de capa fina, empleándose el método reportado por Wagner [8]. Para la identificación de los mismos se contrastó el cromatograma obtenido contra cromatogramas de frutos de *Carum carvi* L. y de hojas de *Mentha spicata* L. [8]. Además, el extracto fluido fue analizado por cromatografía de gases (inyección directa). El cromatograma obtenido fue comparado contra el de una esencia patrón de *Artemisia vulgaris* L. (Armoise).

Posteriormente se procedió a calcular tanto el rendimiento de la obtención de extracto pilular partiendo de extracto fluido- como así también el rendimiento del proceso completo -obtención de extracto pilular a partir de materia prima fresca-.

Preparación del polvo para compresión directa. Ensayos de caracterización

A los efectos de llevar el extracto pilular de *A. polystachya* al estado de polvo adecuado para la compresión directa, se propusieron cuatro formulaciones; mediante el agregado de diversos excipientes se buscó disponer de un material pulverulento de fluidez y cohesividad apropiadas.

En dichas formulaciones las variaciones consistieron en la alternancia de excipientes para compresión directa: lactosa DT, manitol granular, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa, fosfato dicálcico, carbonato de magnesio, almidón, estearato de calcio y dióxido de silicio coloidal. Los excipientes propuestos se incorpo-

raron en pequeñas alícuotas, comenzando por los de propiedades absorbente y diluyente, desecando el producto en estufa convencional a 40 °C y así hasta completar con el agregado de fluidizante y desintegrante. El polvo se pulverizó luego de cada adición y al final se homogeneizó el tamaño a 250 µm.

A cada una de las cuatro formulaciones propuestas se las caracterizó en base a los siguientes parámetros: a) *características organolépticas*, b) *tamaño y forma de las partículas* y c) *ensayos de flujo*. Las características organolépticas incluyeron información sobre color, olor y sabor. La determinación del *tamaño de partículas* se realizó mediante un análisis granulométrico por tamización analítica en cascada, para lo cual se utilizó un equipo de tamización vibratorio Macotest -Cosacov con tamices ASTM (Nº 20, 30, 60, 100 y 200) y la muestra se tamizó durante 5 min. También se realizó un análisis cualitativo de la *forma de las partículas* del polvo obtenido, empleando una lupa estereomicroscópica A. Cruz Optronic con ocular 20x y objetivo 3x. Las *propiedades de flujo* se evaluaron mediante determinaciones tales como ángulo de reposo, volumen a granel, volumen vibrado y compresibilidad. El ángulo de reposo se estableció por el método estático de altura fija [9], a partir de la tangente determinada por la altura y el radio formado por el cono del polvo, empleando un embudo de polvos estandarizado. El volumen a granel y el volumen vibrado se determinaron según la técnica convencional [9]. La compresibilidad se estableció de acuerdo con la relación de volumen de polvo a granel (V_0) y de volumen de polvo vibrado *(V)*, según la expresión *Compresibilidad (%)* = $[(V_0 - V) / V_0] \times 100$ [9]. Los ensayos de flujo fueron realizados por triplicado. Para el tratamiento estadístico se utilizó el programa Statgraphics Plus versión 4.0.

Obtención de comprimidos. Ensayos

Las fórmulas propuestas fueron comprimidas utilizando una tableteadora de mesa mono-punzón Mini-press, con un juego de punzones de 8,9 mm de diámetro (tableteadora de funcionamiento automático y continuo, producción 70 comprimidos por minuto, motor monofásico de 3/4 de HP, fuerza máxima de compresión 1,8 Tn).

Se realizaron ensayos de uniformidad de peso, dureza, disgregación y friabilidad, según las técnicas que se reproducen en bibliografía española, resultantes de recopilación de diversas farmacopeas [10]. A tal fin se emplearon una balanza analítica electrónica Denver, el durómetro Strong Coob y el friabilómetro Roche. El ensayo de disgregación se realizó con un dispositivo manual alternativo al propuesto por la bibliografía citada, de adaptación propia. En este caso, la disgregación de los comprimidos se consideró como un parámetro biofarmacéutico indicativo de la liberación de principios activos [10,11]. Los ensayos practicados a los comprimidos de las cuatro formulaciones fueron realizados por triplicado. Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los valores obtenidos se realizaron pruebas de hipótesis con un nivel de significación del 5%. Dadas las características de las muestras ensayadas se calcularon valores de t de Student. Para el tratamiento estadístico se utilizó el programa Statgraphics Plus versión 4.0.

El contenido de carvona en los comprimidos de la fórmula 4 fue analizado tanto por TLC como mediante GC-MS. Para la determinación semicuantitativa de carvona, se utilizó esencia patrón de *Mentha spicata* L.

RESULTADOS Y DISCUSION

Material vegetal y extractos obtenidos

Tanto la multiplicación del material vegetal como el crecimiento del mismo en condiciones controladas han arrojado resultados promisorios, dado que el porcentaje de supervivencia de los ejemplares transplantados fue de 90%. Las plantas demostraron un notorio desarrollo tanto en follaje como en altura, por ejemplo, con un crecimiento promedio (en altura) de 70 cm en los primeros tres meses. En el proceso de desecación de la materia prima vegetal fresca se registró una pérdida de peso promedio de 80% (s.d.: 0,57).

En cuanto a las propiedades organolépticas del extracto fluido, éste se caracteriza por poseer color verde oscuro, olor aromático propio de la especie y sabor agradable aunque con un fuerte dejo alcohólico. El extracto pilular obtenido resultó una masa pastosa de color verde oscuro, con olor característico.

En lo que respecta a determinación de tuyona y/o carvona por TLC y GC en los extractos fluidos, se confirmaron tanto la ausencia de tuyona como la presencia de alto contenido de carvona.

En el proceso de obtención de extracto pilular a partir de extracto fluido se registró un rendimiento promedio de 27% en peso (s.d.: 2,77), en tanto que el rendimiento promedio del proceso completo (obtención de extracto pilular a

partir de materia prima fresca) fue de 4,70% en peso (s.d.: 0,19).

Formulaciones propuestas para compresión directa

En la Tabla 1 se consignan los componentes de las cuatro fórmulas correspondientes al trabajo de preformulación realizado. Todas ellas contenían un 20% en peso de extracto pilular de *A. polystachya*. Como ya se adelantó, las variaciones en las formulaciones ensayadas consistieron en la alternancia de los excipientes. Algunos de ellos se emplearon dado que presentan óptimas propiedades de flujo, como lactosa, manitol y fosfato dicálcico, mientras que otros presentan perfiles más adecuados de presión-dureza y mayor capacidad de incorporar fármacos, tales como celulosa microscristalina y almidones [9]. Por otra parte, los excipientes como el fosfato dicálcico y el carbonato de magnesio son absorbentes que permitieron llevar a polvo al extracto pilular de *A. polystachya*.

Las características organolépticas de los polvos resultantes aparecen tabuladas en la Tabla 2.

En la Figura 1 se presentan los resultados del análisis granulométrico, expresados como el porcentaje acumulado de la masa pulverulenta que se retuvo en los tamices en relación al tamiz correspondiente, es decir la representación gráfica del rechazo versus el número de tamiz.

En la mayoría de las fórmulas se verifica una distribución normal con tendencia hacia la derecha. Al comparar las representaciones gráficas

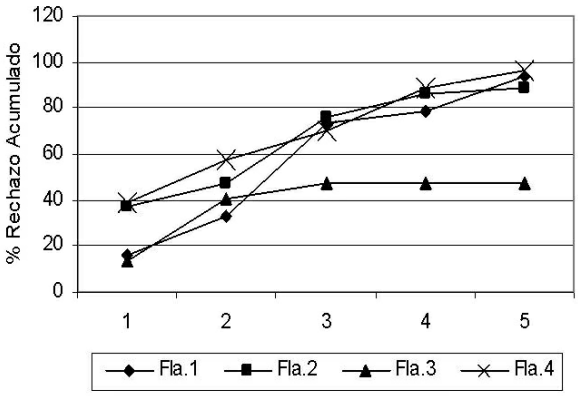

Figura 1. Porcentaje de Rechazos versus Luz de Malla. Luz de Malla Nº 1: 75 µ, Nº 2: 150 µ, Nº 3: 250 µ, Nº 4: 600 µ, Nº 5: 850 µ.

de cada fórmula, se observa la menor dispersión de tamaño de partículas en la fórmula 3 y la mayor dispersión en la fórmula 1. En las fórmulas 2 y 4 hay una distribución más uniforme de las partículas; en particular en la fórmula 4 hay partículas con un tamaño entre 150 y 600 µ. Analizando los porcentajes de rechazo de cada fórmula según la luz de malla, las mismas tienen un contenido importante de partículas con tamaño inferior a 250 µ. Al respecto, puede señalarse que como cada fórmula se obtuvo del mezclado del extracto pilular con excipientes seleccionados para cada caso, tales componentes pueden influenciar el tamaño final de las partículas.

En la Tabla 3 se presenta un detalle de la

Componentes	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
Extracto pilular de *A. polystachya*	50 mg	50 mg	50 mg	50 mg
Lactosa DT	160 mg	160 mg	152 mg	–
Manitol granular	–	–	–	152 mg
Celulosa microcristalina	28 mg	28 mg	–	28 mg
Carboximetilcelulosa	–	–	28 mg	–
Fosfato dicálcico	–	–	10 mg	10 mg
Carbonato de magnesio	7 mg	–	–	–
Almidón	–	7 mg	–	–
Estearato de calcio	3 mg	3 mg	5 mg	5 mg
Aerosil [R] coloidal	2 mg	2 mg	5 mg	5 mg

Tabla 1. Formulaciones de polvos para compresión directa.

Fórmula Nº	Color	Olor	Sabor
1	verde oliva	característico, tenue	dulzaino y levemente picante
2	verde parduzco	indefinido	dulzaino y levemente picante
3	verde pálido	característico, tenue	dulzaino y astringente
4	verde amarillento	característico, pronunciado	dulzaino primero, luego ligeramente amargo

Tabla 2. Características organolépticas de los polvos.

Redondeadas	Forma de las partículas						
	Poliédricas regulares		Redondeadas	Escamosas		Prismáticas	Aciculares
	Cúbica	Granular		Regulares	Irregulares		
1	+++	+++	-	-	++	+	-
2	+++	+++	+	-	++	-	-
3	++	++	+++	-	+	-	-
4	+++	+++	++	+	-	+	+

Tabla 3. Forma de las partículas del polvo de las cuatro formulaciones estudiadas. (+++) muchas partículas de la forma indicada, (++) pocas partículas, (+) escasas partículas, (-) no aparece esta forma de partículas.

Fórmula Nº	Angulo de reposo (α= º) Promedio	Desv. Est.	Volumen a granel (V_0 = ml) Promedio	Desv. Est.	Volumen vibrado (V = ml) Promedio	Desv. Est.	Compresibilidad (%) Promedio	Desv. Est.
1	26,90	2,06	49	1	39	1	20,41	0,41
2	22,00	2,16	100	1	81	1	19,00	0,19
3	16,32	2,58	74	1	68	1	8,11	0,11
4	10,92	2,28	87	1	75	1	13,80	0,16

Tabla 4. Resultados de los ensayos de flujo en las formulaciones estudiadas.

forma de las partículas de las formulaciones de polvo, empleándose una codificación de acuerdo a la frecuencia de partículas de distintas formas geométricas presentes en la muestra.

Los resultados del estudio de flujo de las formulaciones propuestas se muestran en la Tabla 4. Los polvos de las formulaciones 2, 3 y 4 fluyen bien, dado que los respectivos ángulos de reposo son menores de 25º [9] y es en las formulaciones 1 y 4 en donde se verifican los valores extremos. En las fórmulas 1, 2 y 4 se observan perfiles de reducción volumétrica que se relacionan con un grado de empaquetamiento abierto de partículas, lo que se traduce en una elevada compresibilidad. En cambio, la fórmula 3 presenta un volumen a granel más cercano al volumen vibrado, por lo que el empaquetamiento de partículas es más cerrado, lo que se reflejaría en una baja compresibilidad. Aún así, según sus valores de compresibilidad [9], los polvos de las fórmulas 3 y 4 fluyen libremente, con muy buenas propiedades de flujo, en tanto que los de las fórmulas 1 y 2 poseen aceptables propiedades de flujo.

Fórmula Nº	Rendimiento de la compresión (%)
1	84,62
2	95,97
3	97,92
4	98,20

Tabla 5. Rendimiento del proceso de compresión.

Comprimidos obtenidos

Tal como se consigna en la Tabla 5, con el proceso de compresión realizado se logró buen rendimiento, dado que no solamente las formulaciones de partida poseían características aceptables de fluidez, sino que también se consiguió un apropiado ajuste de la presión en la tableteadora mono-punzón.

En la Tabla 6 se consignan los valores resultantes de los ensayos efectuados a los comprimidos de las cuatro formulaciones empleadas.

Los lotes de comprimidos producidos para cada formulación propuesta son aceptables, dado que su variación en peso es menor a 7,5%, tal como establece la Farmacopea Europea [9]. Esto permite un análisis apropiado de los ensayos galénicos practicados a los comprimidos, que se relacionan con su integridad hasta que llegan al paciente y su buena desintegración para la liberación del principio activo.

Los ensayos de dureza y de friabilidad dan idea de la resistencia mecánica de los comprimidos, relacionada con el posible deterioro durante el transporte, acondicionamiento, embalado y manipulación. En las cuatro fórmulas se determinó que los comprimidos tienen una dureza satisfactoria, siendo mayor a 4 Kg/m^2. En cuanto a la friabilidad, sólo la fórmula 1 tuvo una pérdida de peso mayor a 0,8%, lo cual determinaría una menor resistencia a la abrasión.

En lo que respecta a la desintegración, la fórmula 3 supera el tiempo máximo establecido

Fórmula Nº	Uniformidad Peso (mg)		Dureza (kg/m^2)		Friabilidad (%)		Desintegración (min.)	
	Promedio	Desv. Estándar	Promedio	Desv. Estándar	Promedio	Desv. Estándar	Promedio	Desv. Estándar
1	246,0	3,1	5,22	0,26	2,78	0,16	12	0,23
2	260,3	0,5	16,34	0,4	0,46	0,045	6	0,18
3	249,3	4,2	17,03	0,6	0,05	0,006	33	3,3
4	253,2	1,1	7,51	0,84	0,08	0.01	15	2,19

Tabla 6. Resultados de los ensayos a comprimidos.

(15 min) para comprimidos ordinarios, lo cual puede relacionarse con que esta formulación tuvo mayor dureza y menor friabilidad. La fórmula 2 es la que presenta más rápida desintegración. Los resultados obtenidos se compararon mediante un análisis de test de hipótesis que permitió decidir si las formulaciones mejoran los parámetros farmacotécnicos de los comprimidos elaborados. Con respecto a la dureza, se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre los valores de las cuatro formulaciones. De acuerdo a los valores obtenidos en el test de hipótesis, las fórmulas 2, 3 y 4 mejoran los resultados. También se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) en cuanto a la friabilidad y se mejora este parámetro especialmente en las fórmulas 3 y 4. En cuanto al ensayo de desintegración, también se registra diferencia significativa ($p<0,05$) entre los resultados obtenidos.

En resumen, del análisis conjunto de los resultados de los últimos tres ensayos puede inferirse que la fórmula 4 reúne, comparativamente, los parámetros más apropiados de dureza, friabilidad y desintegración. Por todas las razones hasta aquí mencionadas, las determinaciones cromatográficas (TLC y GC-MS) se practicaron sólo en los comprimidos obtenidos a partir de dicha formulación. No se detectó la presencia de tuyonas en el extractivo de los comprimidos de la fórmula 4. El único compuesto detectado fue la carvona.

CONCLUSIONES

El material vegetal de partida fue logrado mediante el cultivo de plantas obtenidas de explantes, por biotecnología, buscando contar con un producto uniforme, es decir, con ejemplares que presenten idéntica composición química, cuestión de crucial importancia en especies destinadas a uso farmacológico.

Se obtuvieron extractos fluidos representativos, partiendo de material vegetal estandarizado. Los mismos estuvieron exentos de un componente químico potencialmente tóxico como la tuyona y poseían alta concentración de carvona.

Empleando los correspondientes extractos pilulares se ha logrado una alternativa de formulación de polvo para compresión directa, que demostró aceptables propiedades para tal fin.

Se han obtenido comprimidos que poseen un contenido controlado de principio activo y que reúnen no sólo adecuadas características farmacotécnicas, sino que, además, poseen un aceptable perfil de liberación del principio activo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agnese, M., S. Núñez Montoya, G. Ortega, M. Casado & J.L. Cabrera (2001) "Aspectos reglamentarios sobre medicamentos fitoterápicos". Centro de Información de Medicamentos (CIME). Boletín Informativo Nº 10. Universidad Nacional de Córdoba.
2. Martínez Crovetto, R. (1981). *"Las plantas utilizadas en la medicina popular en el NO de Corrientes (República Argentina)"*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Misc. **69**: 89.
3. Gatto, Z.H. & J.A. Retamar (1988) *Ess. Deriv. Agrum* **58**: 16-33.
4. Ratera, E.L. & M.O. Ratera (1980) *"Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular"*. Editorial Hemisferio Sur, S.A. Argentina, pág. 150.
5. Huergo, H.H.B & J.A. Retamar (1973) *Arch. Biol. Quím. Farm. UNT* **18**:15-18.
6. Sansberro, P.A. & L.A. Mroginski (1995) *AgriScientia* **12**: 83-6.
7. Farmacopea Nacional Argentina, VI Edición (1978) páginas 758, 484.
8. Wagner, H., S. Bladt & J. Zgainski (1984) *"Plant Drug Análisis"*. Editorial Springer Verlag. Berlín. Alemania.
9. Vila Jato, J.L. (1997) *"Tecnología Farmacéutica"*. Volumen I. Editorial Síntesis. España.
10. Vila Jato, J.L. (1997) *"Tecnología Farmacéutica"*. Volumen II. Editorial Síntesis. España.
11. Palma, S., C. Luján, G. Barboza, R.H. Manzo & D.A. Allemandi (2002) *Int. J. Pharm.* **233**: 191-8