

Título: Tabletas de Anamú: medicamento inmunoestimulante de origen natural

Autores: MSc. Marta Zoe Lemus Rodríguez (zoe@lfo.quimefa.cu); Mario Hung Arbelo; Alexander Batista Duharte; Amaury Chong Quesada; Marisel Rodríguez Antomarchí

Centro de prodencia: Empresa Laboratorio Farmacéutico "Oriente", Santiago de Cuba

Palabras clave: Anamú, inmunoestimulante, tabletas, *Petiveria alliacea*

PREMIO EN LA INSTANCIA PROVINCIAL DEL CONCURSO PREMIO ANUAL DE LA SALUD 2012

Resumen

La necesidad de beneficiar mediante un medicamento oral a los pacientes inmunodeprimidos a los cuales se les diagnostica algún trastorno inmunológico de tipo celular, y de elevar la respuesta inmune del paciente neoplásico que recibe quimioterapia y/o radioterapia, ya que actualmente para este fin el mercado nacional sólo cuenta con medicamentos inyectables, y el empleado por la vía oral (Levamisol, de origen químico) no es un inmunoestimulador específico sino un antiparasitario, se desarrolló como principal objetivo del presente trabajo un medicamento herbario bajo la forma de tabletas dirigido a reforzar el sistema inmune, a base de la planta medicinal de uso tradicional Anamú (*Petiveria alliacea* L.) muy abundante en el país. Con este fin se realizó un amplio trabajo de revisión bibliográfica y de experimentación sobre el tema. Los resultados etnomédicos, farmacológicos y toxicológicos reportados en la literatura internacional revisada, así como los estudios experimentales preclínicos realizados en nuestro país, permitieron corroborar la eficacia de la planta Anamú (*Petiveria alliacea* L.) como Inmunoestimulante específico y arribar a conclusiones acerca de la seguridad de la planta a los niveles de dosis utilizados en las tabletas cuyo desarrollo farmacéutico fue acometido. La significación de los resultados obtenidos contribuyó a la aprobación de la Inscripción del producto **Tabletas de Anamú** en el Registro de Medicamentos de Origen Natural de Uso Humano por el Centro para el Control Estatal de los Medicamentos de Cuba.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes y justificación

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su Nota descriptiva N°134 de Diciembre de 2008, expresa que la medicina tradicional es la suma completa de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas y que se utilizan para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar trastornos físicos o mentales. En la propia Nota la OMS también plantea que la medicina tradicional (MT) que ha sido adoptada por otras poblaciones

(distintas de su cultura de origen) suele denominarse medicina complementaria y alternativa (MCA).

Analizando la definición de la MT, podemos percatarnos fácilmente de lo amplio que resulta el concepto, pero es importante saber distinguir lo que es tradicional de aquello que realmente no lo es y, por tanto, carece del aval que el uso empírico durante muchas generaciones le otorga.¹

El uso de la MT sigue estando muy extendido en los países en vías de desarrollo, mientras que el uso de la MCA está aumentando rápidamente en los países desarrollados. Dependiendo de las terapias implicadas, las terapias de la MT/MCA pueden clasificarse como terapias de medicación — si se utilizan medicinas con base de hierbas, partes de animales y/o minerales — o terapias sin medicación — si se realiza principalmente sin el uso de medicación, como es el caso de la acupuntura, la terapia termal, el yoga y otras terapias físicas, mentales, espirituales y terapias de mente y cuerpo. Las medicinas basadas en hierbas incluyen hierbas, materiales con base de hierbas, preparados a base de hierbas y productos acabados con hierbas, que contienen como ingredientes activos partes de plantas u otros materiales con base de plantas o combinaciones de las mismas.²

El crecimiento de la industria farmacéutica y el desarrollo incesante de nuevos y más eficaces productos medicinales sintéticos y biológicos no ha disminuido la importancia de las plantas medicinales en muchas sociedades. Por el contrario, el aumento de la población en el mundo en desarrollo y el creciente interés en las naciones industrializadas han ampliado enormemente la demanda de las plantas medicinales mismas y los productos derivados de ellas. Los medicamentos herbarios, que formaron la base de la atención de salud en todo el mundo desde los primeros días de la humanidad, continúan utilizándose ampliamente y tienen una considerable importancia en el comercio internacional. Sigue en aumento el reconocimiento de su valor clínico, farmacéutico y económico.³ Es por ello que se plantea que el uso de las plantas es una de las formas de la práctica de la MT, aunque sin dudas es la más universal, pues aparece en todas las culturas.¹

En nuestro país, acorde al mundo, se han ido dando pasos en esa dirección, sobre todo desde 1991 cuando se constituye un programa prioritario de gobierno, en el cual el Ministerio de Salud Pública tiene la responsabilidad de su coordinación y ejecución.

Las 3 ventajas más reconocidas de la MT son:

1. Resultados efectivos científicamente comprobados
2. Poco costo
3. Coadyuvar en el tratamiento de pacientes con enfermedades crónicas o terminales que no responden a la terapia moderna.¹

En 1999 el Ministerio de Salud Pública publicó el Programa Nacional para el Desarrollo y Generalización de la Medicina Tradicional y Natural, donde se plantea que entre las tendencias de la medicina contemporánea también se destaca, con un vigor creciente en los últimos años, el de la incorporación de la Medicina Tradicional y Natural a la práctica profesional, no como un método alternativo motivado por causas de índole económica, como vía para dar solución a problemas de desabastecimiento, sino como una verdadera disciplina científica que es necesario estudiar, perfeccionar y desarrollar permanentemente por sus

demostradas ventajas éticas y científicas, aún cuando se logren superar las desigualdades entre los pueblos pobres y los altamente desarrollados, que como productores monopolizan la industria farmacéutica mundial.

Dicho Programa como su Objetivo General expresa:

Ofrecer las bases técnicas para el desarrollo de la Medicina Tradicional y Natural en todo el país como elemento que contribuya a elevar la calidad de la Atención Médica y la satisfacción de la población en los Servicios de Salud que recibe.⁴

Más recientemente, el Lineamiento 158 aprobado por el VI Congreso del PCC plantea la necesidad de desarrollar la medicina natural y tradicional como parte integrante de nuestro sistema de salud. En tanto el Lineamiento 222 establece: Desarrollar la industria de suplementos dietéticos y medicamentos naturales, a partir de insumos nacionales, para el consumo y la exportación.

La planta Anamú (*Petiveria alliacea* L.) se considera de uso tradicional en nuestro país,⁵ habiendo sido utilizada desde los tiempos remotos en muchos otros países con fines medicinales y en ritos mágico religiosos.

Actualmente, se utiliza como medicamento herbolario para diferentes enfermedades y se comercializa por varias firmas como suplemento nutricional o como apoyo al sistema inmune. El interés que ha despertado motivó la creación de una fundación: "The Anamú Foundation of America Inc. destinada a estudiar los efectos del Anamú, sobre todo, en sus aspectos clínicos, y a investigar y divulgar los conocimientos acerca de esta planta. En su sitio WEB (<http://www.raintree.com/anamu.htm>) se pueden encontrar muchas informaciones. Varios productos aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) de EE.UU. como Productos de Apoyo al Sistema Inmunológico y Estimulantes Generales, utilizan el Anamú como materia prima.⁶

Tomando como base todo lo anteriormente expresado la Empresa Laboratorio Farmacéutico "Oriente" cuenta en su surtido con varios productos de origen natural, entre los que se encuentra la tableta de Anamú (*Petiveria alliacea* L.)⁷ registrada como Medicamento de Origen Natural en el Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) en el 2004 con categoría terapéutica de Inmunoestimulante.

Muchas enfermedades crónicas como el cáncer, las enfermedades degenerativas y alérgicas, los trastornos nutricionales, el envejecimiento, el stress, la exposición a radiaciones, determinados contaminantes ambientales y hábitos tóxicos, entre otras condiciones, se asocian a trastornos de inmunodeficiencia, por lo cual la necesidad de este medicamento herbario bajo la forma de tabletas, dirigido a reforzar el sistema inmune se justifica, ante la no existencia de un medicamento oral dirigido a los pacientes inmunodeprimidos, ya que actualmente para este fin el mercado nacional sólo cuenta con medicamentos inyectables, lo que ha forzado al empleo para la vía oral en estos pacientes del Levamisol, de origen químico, y con numerosas reacciones adversas frecuentes, dada su categoría como Antihelmíntico.⁸

En el presente trabajo se expone el desarrollo farmacéutico de este producto de origen natural bajo la forma de tabletas, y los principales resultados que condujeron a su registro, el

cual estuvo basado en un Proyecto de Innovación Tecnológica, cuya factibilidad fue evaluada a través de un amplio trabajo de revisión bibliográfica y de experimentación sobre el tema.

Objetivo general

- Desarrollar en nuestro país la tecnología de producción de tabletas de Anamú para su comercialización a corto plazo.

Objetivos específicos

- Realizar el desarrollo farmacéutico de la forma terminada acorde a las características de la droga vegetal (polvo de hojas y tallos jóvenes de Anamú).
- Realizar el registro del producto como **MEDICAMENTO HERBARIO** en el CECMED, con indicación de inmunoestimulante específico de la respuesta celular.

DESARROLLO FARMACÉUTICO DE LA FORMA TERMINADA: DISEÑO METODOLÓGICO

Se empleó como metodología la Ruta crítica para la investigación científica de los productos herbarios,⁴ que recoge lo planteado por la Organización Mundial de la Salud acerca de la importancia del uso de las plantas en los sistemas de salud, pero sobre bases científicas que sustenten la seguridad, eficacia y calidad requeridas para la administración en humanos. De igual forma, el trabajo de tecnología farmacéutica realizado se apoyó principalmente en el estado actual del conocimiento sobre los tópicos de mayor interés en esta temática.⁹

Las etapas planificadas fueron las siguientes:

1. Recepción técnica de la materia prima vegetal

I.1 Caracterización de la planta^{10,11}

I.2 Especificaciones de calidad del material vegetal^{10,12,13,14}

I.3 Perfil inmuno-fármaco-toxicológico de la planta^{10,11,15,16,17,18,19, 20}

2. Desarrollo Farmacéutico de la Forma Terminada

2.1 Estudio de pre-formulación

2.1.1 Características físico-mecánicas de la materia prima vegetal²¹

2.1.2 Estabilidad de la droga vegetal¹⁰

2.1.3 Compatibilidad droga excipientes

2.1.4 Conteo microbiológico

2.2 Estudio de Diseño y Formulación

2.2.1 Planificación del experimento^{22,23}

2.2.2 Elaboración de Granulados y Tabletas

2.2.3 Criterios de evaluación tecnológica¹⁰

Granulados

Tabletas

2.3 Estudios de Estabilidad

2.4 Registro de la marca comercial

2.5 Registro del producto ante la Autoridad Regulatoria cubana¹⁸

Resultados y Discusión

RESULTADOS

Caracterización de la planta

Los resultados correspondientes a la descripción botánica y caracterización micromorfológica de la planta medicinal recibida, realizados por BIOECO, aparecen en el Anexo 1 del Expediente de Registro e informan que se trata efectivamente de la planta *Petiveria alliacea* L , conocida vulgarmente en Cuba como Anamú.

Especificaciones de calidad del material vegetal

Los resultados relacionados con el cumplimiento de las especificaciones de calidad del material vegetal se informan en el Anexo 2 del Expediente de Registro en el CECMED. En el mismo se evidencia que la materia prima cumple con todas las especificaciones de calidad establecidas, por lo que puede emplearse para los estudios subsiguientes.

Perfil inmuno-fármaco-toxicológico de la planta

El perfil inmuno-fármaco-toxicológico de la planta se informa en el Anexo 3 del Expediente de Registro en el CECMED.¹⁰

Los resultados de los estudios farmacológicos y toxicológicos sobre la planta revisados de publicaciones internacionales y realizados experimentalmente por el Centro de Toxicología y Biomedicina de Santiago de Cuba (TOXIMED) evidencian la eficacia y seguridad en el uso de la planta lo que permitió continuar el estudio de desarrollo de su forma terminada.^{6,10,17,19,20,24,25,26,27,28,29,30,31}

Desarrollo Farmacéutico de la Forma Terminada

Resultados del Estudio de pre-formulación

Características físico-mecánicas de la materia prima vegetal

Los resultados de la caracterización tecnológica del polvo de Anamú, hojas y tallos jóvenes muestran que su fluidez y propensión a comprimir califican como POBRE y MUY POBRE respectivamente.

Estabilidad de la materia prima vegetal, incluyendo microbiología

Los resultados obtenidos en cuanto a la estabilidad de la materia prima vegetal molida demuestran su vigencia hasta el año en condiciones ambientales normales.

Resultados del Estudio de Diseño y Formulación

En base a la matriz experimental diseñada acorde al plan factorial seleccionado se obtuvo la respuesta medida (Resistencia a la fractura de la tableta) replicada en cada punto.

En el Análisis de Varianza realizado se encontró significación en los tratamientos para un nivel de confianza del 95 %. Se evidenció que existe influencia significativa sobre la Resistencia a la fractura de los factores: Aglutinante (A) y Compactante (C) y de la interacción: Aglutinante- Diluyente (AD). La interacción terciaria Aglutinante- Compactante- Diluyente (ACD) resultó no significativa.

Al resultar significativa la interacción secundaria AD se sometió al Test de Rangos Múltiples de Duncan, siendo categorizada de acuerdo al valor de Resistencia a la fractura.

Al obtenerse un comportamiento tecnológico adecuado de la fórmula seleccionada como prototipo se sometió la misma a estudio de estabilidad.

Resultados de los Estudios de Estabilidad de la fórmula prototipo

Los resultados del estudio de estabilidad acelerado a las tabletas de Anamú se muestran en la siguiente Tabla 1.

Tabla.1 Estudio de estabilidad acelerado por 2 meses de Tablet de Anamú

Lote	Tiempo	Aspecto organoléptico	Resistencia a la fractura (kgf)	Desintegración (minutos)	Contenido de polifenoles totales (mg/tab.)	Conteo microbiol. (ufc/g)
2001-P	inicial	Responde	6.66	3	1.30	Bact.: 1×10^4 Hong.: < 10
	1 mes	Responde	6.10	1	1.41	Bact.: 1×10^4 Hong.: < 10
	2 meses	Responde	5.90	1	1.31	Bact.: 5×10^4 Hong.: < 10
2002-P	inicial	Responde	6.56	3	1.30	Bact.: 2×10^4 Hong.: < 10
	1 mes	Responde	5.90	1	1.43	Bact.: 1×10^4 Hong.: < 10
	2 meses	Responde	5.85	1	1.33	Bact.: 7×10^4 Hong.: < 10
2003-P	inicial	Responde	5.83	3	1.28	Bact.: 3×10^4 Hong.: < 10
	1 mes	Responde	5.70	1	1.46	Bact.: 2×10^4 Hong.: < 10
	2 meses	Responde	5.60	1	1.31	Bact.: 5×10^4 Hong.: < 10

Los resultados del estudio de estabilidad en estante se muestran en la siguiente Tabla 2.

Tabla.2. Estabilidad en estante por 1 año de Tabletas de Anamú.

Lote	Tiempo	Aspecto organoléptico	Resistencia a la compresión (kgf)	Desintegración (minutos)	Contenido de polifenoles totales (mg/tab.)	Conteo microbiol. (ufc/g)
2001-P	inicial	Responde	6.66	3	1.30	Bact.: 1×10^4 Hong.: < 10
	6 meses	Responde	5.94	1	1.29	Bact.: 1×10^4 Hong.: < 10
	12 meses	Responde	5.70	1	1.31	Bact.: 4×10^4 Hong.: < 10
2002-P	inicial	Responde	6.56	3	1.30	Bact.: 2×10^4 Hong.: < 10
	6 meses	Responde	5.03	1	1.30	Bact.: 5×10^4 Hong.: < 10
	12 meses	Responde	4.89	1	1.29	Bact.: 3×10^4 Hong.: < 10
2003-P	inicial	Responde	5.83	3	1.28	Bact.: 3×10^4 Hong.: < 10
	6 meses	Responde	5.68	1	1.31	Bact.: 2×10^4 Hong.: < 10
	12 meses	Responde	4.98	1	1.28	Bact.: 6×10^4 Hong.: < 10

Registro de la marca comercial del producto

Se tramitó ante la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial la marca comercial para las el producto tabletas de Anamú.

Registro del producto ante la Autoridad Regulatoria cubana (CECMED)

Se presentó el Expediente de Registro en la Categoría correspondiente a Medicamentos Herbarios Tradicionales en el CECMED, resultando **APROBADO** su Inscripción en el Registro, con la vigencia otorgada de 1 año a partir de la fecha de fabricación.

DISCUSION

El perfil inmuno-fármaco-toxicológico de la planta evidenció la existencia de estudios inmunológicos reportados relacionados con la actividad inmunoestimulante, los que señalan fundamentalmente hacia la estimulación de linfocitos tanto “in vitro” como “in vivo”. Los reportes toxicológicos, por su parte, apuntan a una dosis letal media aguda (DL50) muy superior a la dosis terapéutica empleada. Adicionalmente, los efectos adversos están relacionados también con el empleo de altas dosis de la planta. La existencia en el mercado internacional de varios productos que contienen Anamú, todos registrados por la FDA como suplementos dietéticos, demuestran la inserción de productos herbarios de la planta en este mercado, y su uso como soporte del sistema inmunológico.

En cuanto a la caracterización físico- mecánica del polvo de Anamú se observan claramente las dificultades del polvo de Anamú para ser transformado en una tableta con los atributos de calidad requeridos.

En relación con la estabilidad de la droga vegetal, y sobre la base de los resultados obtenidos en el control de calidad de la misma en estado de polvo al año de almacenada se justifica la propuesta de un tiempo de almacenamiento máximo de 6 meses en un envase de saco de fibra plástica por (5-10) kg para la droga vegetal seca (sin moler) ya que las condiciones de almacenamiento en que se realizó el estudio de estabilidad para este material vegetal molido fueron más drásticas que las que se recibieron del proveedor en cuanto al envase utilizado,⁹ nos referimos fundamentalmente al material de envase polietileno, en lugar de fibra plástica, que es lo recomendado; además, el hecho de estudiar la estabilidad de la droga seca en forma de polvo constituye también un reto por propiciar una mayor superficie de contacto, lo cual podría favorecer la contaminación microbológica, fundamentalmente. Por todo lo anterior se justifica amparar la misma con los resultados del material molido.⁹

Acorde a la información experimental obtenida en el estudio de pre-formulación, así como la dosis prevista para el comprimido, de 400 mg del polvo de hojas y tallos jóvenes de Anamú, la cual se justifica por corresponderse con dosis similares empleadas en el Mercado Internacional para productos de apoyo al sistema inmunológico, se consideró como vía de fabricación más apropiada la granulación húmeda, ya que la adición de un agente aglutinante resulta imprescindible para mejorar la propensión a comprimir del polvo y su fluidez, con secado por fluidización a baja temperatura (menor de 40 ° C).

Según la dosis a utilizar en la tableta, se definió diseñar la misma según los parámetros del troquel de ½" (12,7mm) cóncavo normal, que cuenta con la capacidad requerida para el caso que nos ocupa: alta dosis y necesidad de adyuvantes.

En base al estudio de preformulación se acometió el estudio de diseño y formulación del comprimido en el que se seleccionó como variable respuesta la resistencia a la fractura diametral. Esto se justifica ya que los resultados del Índice de Compresibilidad y la Relación de Hausner muestran una baja tendencia de esta materia prima a la compresión y la fluidez, lo que resulta muy perjudicial para la obtención de un comprimido que cumpla con los requisitos de calidad, especialmente los relacionados con las características mecánicas del mismo, en los que la cohesión y el contacto interparticular juegan un importante papel, siendo la resistencia a la fractura diametral un buen parámetro para determinar cuándo un comprimido ha logrado ser lo suficientemente resistente como para oponerse a la presión que ejerce sobre ellos una fuerza diametral. También se decidió emplear como factores en el experimento por la influencia que poseen sobre la variable respuesta los representados por Aglutinante (A), Compactante (C) y Diluyente (D). Los niveles de los factores corresponden a los reportados por la literatura para productos herbarios.⁹

De acuerdo al análisis estadístico realizado, se seleccionaron las formulaciones candidatas por su mejor comportamiento. La discriminación subsiguiente se realizó sobre la base del comportamiento tecnológico integral, tanto de los granulados como de las tabletas en cada caso, comprobándose que todas las formulaciones candidatas cumplían con los demás parámetros de calidad establecidos. Del análisis económico de dichas formulaciones,

resultaron las más favorecidas desde el punto de vista de su costo por concepto de materias primas las dos formulaciones que presentaban los menores niveles de los excipientes más costosos. Para la decisión final se tuvo en cuenta que en la formulación elegida está presente el más alto nivel del Factor C, el cual fue de gran significación en la respuesta evaluada, quedando ésta como la fórmula prototipo.

Teniendo en cuenta los datos de estabilidad de la droga vegetal, y los del producto terminado, se propuso como envase primario del mismo frascos de polietileno de alta densidad, con tapa y retapa, de forma de preservar el producto terminado de la humedad, ya que por otra parte, a pesar de que no se reporta la droga vegetal como higroscópica, es importante un buen cierre para preservar la tableta de la humedad ambiental.

Los resultados positivos obtenidos en el estudio de estabilidad acelerado de la fórmula prototipo permitieron llegar a conclusiones a modo de orientación acerca de que la formulación era resistente ante condiciones drásticas de humedad y temperatura, tanto desde el punto de vista microbiológico como físico-químico, por lo que podía esperarse que la estabilidad en condiciones reales al año de fabricación fuera satisfactoria también. Lo que fue corroborado por el estudio en estante realizado hasta el año.

CONCLUSIONES

- Se desarrolló la forma terminada del producto, Tabletas de Anamú, con la calidad requerida y el menor costo.
- Se registró el producto como **MEDICAMENTO HERBARIO** en el CECMED, como inmunoestimulante específico de la respuesta celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ Morón F J, Levy M. Farmacología General. Morón, F J. Cap. 13: Plantas medicinales y medicamentos herbarios. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2002: 195-6.

² Estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional 2002-2005, Organización Mundial de la Salud, Ginebra. 2002.

³ Situación reglamentaria de los medicamentos herbarios. Una reseña mundial. WHO/TRM/98.1. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 2000.

⁴ Programa Nacional de Medicina Tradicional y Natural. Cuba: Ministerio de Salud Pública.; 1999: 7, 9, 46-8.

⁵ Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. 2 ed, 2 reimpr. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1991; t 1:158-61.

⁶ Illnait Ferrer J. Principales referencias etnomédicas sobre el anamú (*Petiveria alliacea* Linn) y principios activos encontrados en la planta. Un acercamiento al tema. Rev CENIC Ciencias Biológicas 2007; 38 (1):27-30.

⁷ Sitio Web Laboratorio Farmacéutico Oriente. Medicamentos que se Producen. <http://www.lfo.quimefa.cu> [Consulta: 28 de febrero de 2012].

-
- ⁸ Formulario Nacional de Medicamentos. Ministerio de Salud Pública. Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2006: 94.
- ⁹ Sharapin N et al. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá, D. C.: Convenio Andrés Bello (CAB) y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), 2000: 17-26, 28-34,120-122, 125-141, 143-178.
- ¹⁰ Expediente de Renovación del Registro del Medicamento Herbario Anamú, tabletas en el CECMED. Santiago de Cuba: Laboratorio Farmacéutico Oriente, 2009.
- ¹¹ Farmacopea Caribeña. Tramil. 1^{ra} Ed. Martinica : Ediciones Emile Désormeaux; 1997 : 247-250.
- ¹² British Herbal Pharmacopoeia. London: Her Majesty's Stationary Office; 1996: 196-7.
- ¹³ The United States Pharmacopeial Convention. USP 26. The United States Pharmacopoeia. Ed. 26. Easton: Mack Printing; 2002: <61>, <701> y <905>.
- ¹⁴ Her Majesty's Stationary Office. British Pharmacopoeia. Londres: BP Office; 2000: Appendix XVI D.
- ¹⁵ Lemus Rodríguez Z, García Pérez ME, Batista Duharte A, Guardia Peña O de la, Alfonso Castillo A. La tableta de anamú: un medicamento herbario inmunoestimulante [artículo en línea]. MEDISAN 2004; 8 (3). <http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_3_04/san10304.htm> [consulta: 28 de febrero, 2012].
- ¹⁶ Duke JA . Handbook of medicinal herbs. 2. Ed. Boca Ratón, FL: CRC Press; 2002.
- ¹⁷ Batista Duharte A, Urdaneta Laffita I, Colón Suárez M, et al. Efecto protector de *Petiveria alliacea* L. (Anamú) sobre la inmunosupresión inducida por 5 fluoruracilo en ratones Balb/c. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 2012; 10(3): 256-64.
- ¹⁸ Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. Regulación No. 28/02. Requisitos para las Solicitudes de Inscripción, Renovación y Modificación en el Registro de Medicamentos de Origen Natural de Uso Humano. La Habana: CECMED, 2002 .31 pp.
- ¹⁹ Alfonso Castillo A, Betancourt Hernández JE, Pascual Simón JR, Salas Martínez H, Puentes Zapata E. Evaluación de la Toxicidad Oral Aguda por el método de clases de Toxicidad (CTA) de la planta *Petiveria alliacea* L. Santiago de Cuba: Centro de Toxicología y Biomedicina; 2002.
- ²⁰ Alfonso Castillo A, Betancourt Hernández JE, Puente Zapata E, et al. Evaluación de la Toxicidad Oral a Dosis Repetida de la planta *Petiveria alliacea* L. Santiago de Cuba: Centro de Toxicología y Biomedicina; 2002.
- ²¹ The United States Pharmacopeial Convention. USP 33- NF 28. CD. 2012: <616> BULK DENSITY AND TAPPED DENSITY FOR POWDERS.
- ²² BASF. Kollidon. Polyvinil pyrrolidone for the pharmaceutical industry.4 ed. Alemania:Volker Buhler;1999: 70-5.
- ²³ Lieberman H, Lachman L, Schwartz J. Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets. 2.Ed. New York: Marcel Dekker, INC 1989; vol.1: 153, 163-4.
- ²⁴ Rossi V. Effects of *Petiveria alliacea* L. on Cell Immunity. Pharmacol Res 1993; 27 (1): 111-2.

-
- ²⁵ Queiroz ML, et al. Cytoquine profile and natural killer cell activity in *Listeria monocytogenes* infected mice treated orally with *Petiveria alliacea* extract. Immunopharmacol Immunotoxicol 2000; 22(3):501-18.
- ²⁶ Quadros MR, et al. *Petiveria alliacea* L.extract protects mice against *Listeria monocytogenes* infection- effects on bonemarrow progenitor cells. Immunopharmacol Immunotoxicol 1999; 21 (1):109-24.
- ²⁷ Williams LAD, et al. Immunomodulatory activities of *Petiveria alliacea*. Phytother Res 1997;11 (3): 251-3.
- ²⁸ Matta-Greenwood E, et al. Discovery of novel inducers of cellular differentiation using HL-60 promyelocytic cells. Anticancer Res 2001; 21(B): 1763.
- ²⁹ Ruffa MJ, Ferraro G, Wagner ML, Calcagno ML, Campos RH, Cavallaro L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. J. Ethnopharmacol 2002; 79 (3): 335-9.
- ³⁰ Rosner H, Williams LA, Jung A, Kraus W. Disassembly of microtubules and inhibition of neurite outgrowth, neuroblastoma cell proliferation, and MAP kinase tyrosine dephosphorylation by dibenzyl trisulphide. Biochem Biophys Acta 2001;1540 (2): 166-77.
- ³¹ Williams LAD, et al. Anti-proliferation/ cytotoxic action of dibenzyl trisulphide, a secondary metabolite of *Petiveria alliacea*. Jamaican J of Sci and Technol 2004; 15: 54.