

**Universidad de Oriente. Facultad de Ciencias Naturales.
Departamento de Farmacia**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DE EXTRACTOS TOTALES DE
Petiveria alliacea L. CON ACCIÓN ANTIMICROBIANA**

Autores: Ania Ochoa Pacheco^I, Jorge Marín Morán^{II}, Damari Rivero Breff^{III}.

^I Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Master en Medicina Bioenergética y Natural. Profesor Auxiliar. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.
aocchoa@cnt.uo.edu.cu, anianay15@yahoo.com.br

^{II} Licenciado en Química. Master en Inorgánica preparativa. Profesor Asistente. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

^{III} Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Adiestrada Laboral. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

Resumen

Objetivo: Se realizó la caracterización física, físico-química y química de extractos totales antimicrobianos: 2 blandos: proporciones 1:8 (B₃) y 1:12 (B₄) y 3 batidos: proporciones 1:4 (E₁), 1:6 (E₂), 1:8 (E₃); a partir de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. (Anamú) y utilizando como solvente solución hidroalcohólica al 80 %. **Métodos:** Los parámetros de control de la calidad determinados fueron: características organolépticas, sólidos totales, densidad relativa, pH (NRSP 312), cenizas totales (NRSP 309), tamizaje fitoquímico (Monografía: Farmacognosia y Química de los Productos Naturales), concentración de fenoles y flavonoides totales (método Folin Ciocalteau y método colorimétrico, respectivamente). **Resultados:** Muestran los valores de los parámetros en cada uno de los extractos. **Conclusiones:** Las características organolépticas para todos los extractos son: color marrón oscuro, olor aliáceo y homogeneidad; los valores de pH para todos los extractos muestran que se extraen sustancias con características ácidas débiles; las concentraciones de fenoles y flavonoides totales, aunque bajas, indican la presencia de tales compuestos en todos los extractos; la composición química cualitativa para los 5 extractos muestra la presencia de Flavonoides, Fenoles y Taninos, Saponinas, Quinonas, Triterpenos y Esteroides, Alcaloides; el extracto blando B₃ presenta mayores valores de sólidos totales, densidad relativa, cenizas totales, concentración de fenoles y flavonoides totales, por cientos de fenoles totales en base a la hoja fresca que el extracto batido E₃; que aumentan en la medida en que se concentran los extractos para cada tipo.

Palabras claves: *caracterización físico-química, antimicrobiano, anamú, extractos totales, caracterización química, caracterización física.*

Summary

Objective: It was made the physics, chemical–physics and chemical characterization of total antimicrobials extracts: 2 soft: proportions 1:8 (B3) and 1:12 (B4) and 3 blended: proportions 1:4 (E1), 1:6 (E2), and 1:8 (E3); from fresh leaves of *Petiveria alliacea* L. and using as solvents: hydroalcoholic solution at 80%. Methods: The parameters for quality control were determined: organoleptics characteristics, total solids, relative density, pH (NRSP 312), total ash (NRSP 309), phytochemical screening (Monograph: Pharmacognosy and Chemical of the Natural Products), concentration of total phenols and flavonoids (Folin Ciocalteu Method and Colorimetric Method, respectively). Results: Shows the values of the parameters in each of the extracts. Conclusions: Organoleptics Characteristics for all the extracts are dark brown colour, garlic odor and homogeneity; the pH values for all extracts show that substances are extracted with weak acid characteristics; the concentrations of total phenols and flavonoids, although low, indicating the presence of such compounds in the extracts; the qualitative chemical composition for the 5 extracts shows the presence of flavonoids, phenols and tannins, saponins, quinones, triterpenes and steroids, alkaloids; the B3 soft extract has higher total solids, relative density, total ash, phenol concentration and total flavonoids, per hundred of total phenols based on fresh leaf that blended extract E3, which increase the extent that the extracts are concentrated to each type.

Keywords: physic-chemical characterization, antimicrobial, anamú, total extracts, chemical characterization, physical characterization.

Introducción

El anamú (*Petiveria alliacea* L.), es una planta de la familia *Phytolaccaceae*. Se describe como una hierba perenne de tallo recto, poco ramificado de 0.5 a 1m de alto, con hojas alternas en forma elíptica, de 6 a 19 cm de largo y de 5 a 6 cm de ancho. Sus flores son pequeñas de color blanco, el fruto es una baya cuneiforme que presenta cuatro ganchos doblados hacia abajo y su uso como planta medicinal, parece remontarse a tiempos precolombinos^{1,2}. En la actualidad, esta especie posee diferentes usos etnomédicos, entre los que se encuentran: antiinflamatorio, analgésico, inmunomodulador, anticancerígeno, hipoglicemiante, para infecciones cutáneas, contra herpes, antimicrobiano^{3,4,5}.

Esta especie vegetal ha sido estudiada ampliamente por investigadores del Departamento de Farmacia de la Universidad de Oriente; a través de una de sus líneas de investigación: "Bioenergética y Productos Farmacéuticos a partir de fuentes naturales"; cumpliendo con la Ruta Crítica de Investigación⁶ en Plantas Medicinales.

Las investigaciones realizadas han consistido en estudios farmacognósticos^{7,8,9}; Fitoquímicos¹⁰ de hoja y raíz; preclínicos farmacológicos antiinflamatorios¹¹ de extractos totales, flavonólicos y medicamento herbolario y tecnológicos^{12,13,14,15} para los extractos totales y medicamento herbolario. También la evaluación de la actividad antimicrobiana^{16,17}, por el método de Kirby-Bauer, de extractos totales de la hoja fresca del Anamú; teniendo en cuenta, entre varios aspectos, la observación de que extractos vegetales de esta droga, estudiados como principios activos antiinflamatorios, no sufren contaminación microbiana cuando se han expuesto a condiciones no controladas de almacenamiento; mostrando 9 de ellos

actividad frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*, incluso, en dos de ellos¹⁷, comparable a la Ciprofloxacina en el rango intermedio (14-17 mm) para *P. aeruginosa*, según el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico Estándar (NCCLS)¹⁸.

A partir de estos resultados alentadores, se diseñó esta investigación que tiene como objetivo: Caracterizar desde el punto de vista físico, físico-químico y químico extractos totales de las hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana a través de la determinación de sus parámetros de control de la calidad y así garantizar la calidad que los mismos deben tener para su futuro uso en el ser humano en formas farmacéuticas de acción antimicrobiana.

Métodos

1. Recolección y procesamiento del material vegetal.

La especie vegetal fue identificada taxonómicamente por especialistas del Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) en el museo Tomás Romay, de la ciudad de Santiago de Cuba.

Las hojas se recolectaron en zonas aledañas al Zoológico, de la ciudad de Santiago de Cuba, en dos lotes: uno para elaborar el extracto blando y otro para elaborar el extracto batido; se limpiaron y pesaron en una balanza técnica marca Nagem de procedencia alemana.

Se determinaron las características macromorfológicas¹⁹ y el tamizaje fitoquímico²⁰.

2. Preparación de los extractos.

Los extractos se prepararon a partir de la droga fresca y fueron:

1. Extracto blando con solución hidroalcohólica al 80%.

2. Extracto batido con solución hidroalcohólica al 80%.

Para el extracto blando: a partir de la evaporación de un extracto fluido, por el método de percolación, teniendo en cuenta resultados previos^{16,17} y según Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 311²¹.

Estos extractos blandos; se obtuvieron en dos proporciones:

B₃– Proporción 1:8

B₄– Proporción 1:12

Las condiciones experimentales para la obtención de los extractos blandos, fueron las siguientes: Ausencia de humectación; Tiempo de maceración: 48 horas y Temperatura de concentración del extracto: 35 °C con vacío.

Para el extracto batido: se usó batidora marca Waring de procedencia americana.

Se maceró por 48 horas este extracto, al cabo de los cuales se filtró al vacío; obteniéndose un extracto denominado (E).

A partir del mismo se tomaron determinados volúmenes para obtener 3 proporciones de este extracto, por rotoevaporación a una temperatura de 35⁰ C con vacío; a los cuales se denominaron:

E₁ -Proporción 1:4

E₂ - Proporción 1:6

E₃ -Proporción1:8

Se trabajó con un solo lote para cada uno de los 5 extractos, realizando tres réplicas para cada ensayo.

3. Determinación de parámetros físicos, físico-químicos y químicos de control de la calidad de los extractos.

3.1. Determinación de parámetros físicos y físico- químicos:

Según NRSP 312²²: Características organolépticas, Sólidos totales, Densidad relativa, pH.

Según NRSP 309¹⁹: Cenizas totales.

3.2 Determinación de parámetros químicos:

a) Determinación cualitativa de principios activos (Tamizaje Fitoquímico): según procedimiento descrito en la Monografía: Farmacognosia y Química de los Productos Naturales²⁰.

b) Determinación de Fenoles totales^{23,24}: Se empleó el método de Folin Ciocalteau. Los resultados se expresan como ácido tánico a partir de una curva de calibración obtenida para este compuesto, en el rango 0.4 a 1.4 µg/mL.

Preparación de la muestra de ensayo.

Para los 5 extractos se tomaron 0.5 mL de cada uno y se diluyeron en un volumétrico de 50 mL respectivamente. Los 5 volumétricos se enrasaron y rotularon, conservándose a resguardo de la luz.

Preparación de la muestra a medir.

Se filtró con papel de filtro la solución muestra de ensayo. Para los extractos blandos se tomó 1 ml de la muestra de ensayo y se añadió a un volumétrico de 100 mL. Luego se añadieron 2 mL de la solución reactivo, se agitó circularmente y se dejó reposar 5 minutos. Posteriormente se añadió 1 mL de carbonato de sodio al 20 por ciento, se enrasó, homogenizó y se dejó reposar por 5 minutos para medir la absorbancia en el espectrofotómetro (ULTROSPEC 1000 de procedencia inglesa) a 700 nm de las disoluciones preparadas anteriormente. Para los extractos batidos se procedió también de la forma anterior pero se tomaron 0.5 ml

de la muestra de ensayo y se añadieron en un volumétrico de 25 ml. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada extracto.

La ecuación matemática empleada para el cálculo de la concentración de la muestra expresada como ácido tánico fue:

Conc.del Extracto= Conc.Equivalente de ácido tánico x Factor mat. de dilución.

c) Determinación de Flavonoides totales: Estos metabolitos se determinaron por un método colorimétrico por reacción con cloruro de aluminio en metanol a 430 nm. Los resultados se expresan como quercetina a partir de una curva de calibración obtenida para dicho compuesto en el rango de 1 a 7 $\mu\text{g/mL}^{25}$. Para las mediciones se empleó un espectrofotómetro ULTROSPEC 1000 de procedencia inglesa.

La ecuación matemática empleada para el cálculo de la concentración de la muestra expresada como quercetina fue:

Conc. del Extracto = Conc. Equivalente de Quercetina x Factor mat. de dilución.

Se utilizó como procedimiento: En un volumen de 10 ml se añadieron: 1 ml de la muestra; 1 ml del cloruro de aluminio al 2,5% en metanol, se agitó y se dejó reposar por 10 min. Se enrasó con etanol absoluto y se realizó la medición contra blanco de reactivos a 430 nm.

Para la determinación del contenido de flavonoides en los 5 extractos totales, se realizaron diluciones en agua en proporción 0,5:50 para preparar la muestra de ensayo y luego 1:10 para la muestra a medir.

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica (PA).

4. Procesamiento y análisis de los resultados. Análisis estadístico.

Se realizó un análisis estadístico, utilizando el programa STATGRAPHICS Plus para Windows Versión 5.1 del año 2001, realizando un Análisis de Varianza de Clasificación simple, con una prueba de rangos múltiples (Prueba de diferencia francamente significativa HSD de Tukey) para evaluar si los extractos B₃ y B₄; así como E₁, E₂ y E₃; también B₃ y E₃ presentaron semejanzas o diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de control de la calidad cuantitativos determinados.

Resultados

1. Recolección y procesamiento del material vegetal: Los resultados de la determinación macromorfológica (para los dos lotes de droga) son los siguientes: Características Macromorfológicas: Características Organolépticas: Color: Verde Brillante; Olor: Característico (aliáceo); Morfología: Largo (media): 10,3 cm; Ancho (media): 5.54 cm; Ápice: Agudo; Borde: Entero; Forma del limbo: Ovada o elíptica lanceolada; Superficie del limbo: Lampiña; Venación: Penninervia; Base: Aguda. Presencia de materia orgánica e inorgánica extraña: No presenta.

Los resultados del tamizaje fitoquímico a la droga fresca resultaron positivos para los siguientes ensayos: extracto etéreo: quinonas, triterpenos y esteroides, alcaloides y aceites esenciales; extracto alcohólico: flavonoides, quinonas, triterpenos y esteroides, alcaloides, fenoles y taninos, saponinas, aminoácidos libres y aminos en general; extracto acuoso: fenoles y taninos, alcaloides y principios amargos y astringentes.

2. Determinación de parámetros de control de la calidad física, físico-químicos y químicos de los extractos: La Tabla I muestra resultados del control de la calidad físico y físico-químico a los extractos evaluados. Los resultados de la

determinación de cenizas totales en gramos, son: B₃: 0.047, B₄: 0.111, E₁: 0,033, E₂: 0,045, E₃: 0,053

Parámetros químicos: a) *Determinación cualitativa de principios activos (Tamizaje Fitoquímico):* Se obtuvieron resultados positivos para los siguientes ensayos: Flavonoides, fenoles y taninos, saponinas, quinonas, triterpenos y esteroides, alcaloides.

b) *Determinación de Fenoles totales:* La curva de calibración con ácido tánico presenta los siguientes valores de absorbancia; 0.4µg/mL:0.021; 0.6µg/mL:0.035; 0.8µg/mL:0.048; 1.0µg/mL:0.059; 1.2 µg/mL:0.071; 1.4µg/mL:0.092.

La ecuación de la recta y los estadígrafos que la describen son los siguientes:

Absorbancia = -0,00660952 + 0,0677143*concentración Ecuación 1

r² ajustado= 98,7021 % F= 381,24 p=0,0000 p. intercepto=0,1188

La Tabla II muestra los valores promedios de concentración de fenoles totales.

Los por cientos que representan la cantidad de fenoles totales, en cada uno de los extractos, en base a la hoja fresca, son: B₃: 0.09%; B₄: 0.08; E₁: 0.05; E₂: 0.04; E₃: 0.05.

c) *Determinación de flavonoides totales:* La curva de calibración con quercetina presenta los siguientes valores medios de absorbancia: 1µg/mL: 0.091; 2µg/mL: 0.162; 3µg/mL: 0.240; 4µg/mL: 0.3143; 5µg/mL: 0.380; 6µg/mL: 0.4856; 7µg/mL: 0.550.

La ecuación de la recta y los estadígrafos que la describen son los siguientes:

Absorbancia= 0.00842857 + 0.07725 x Conc. Quer. Ecuación 2

r² ajustado= 99,6934 % F= 1952,17 p= 0,0000 p. intercepto=0,3303

Conc. Quer: Concentración de Quercetina.

Los valores de concentración de flavonoides totales, expresados como quercetina, para cada uno de los extractos son: B₃: 2.13 mg/mL; B₄: 2.53 mg/mL; E₁: 1.03 mg/mL; E₂: 1.30 mg/mL; E₃: 1.92 mg/mL.

Los por cientos que representan la cantidad de flavonoides totales, en cada uno de los extractos, en base a los fenoles totales, son: B₃: 28%; B₄: 29.06%; E₁: 51%; E₂: 50.1%; E₃: 50.6%.

Discusión

1. Recolección y procesamiento del material vegetal: Las características macromorfológicas en los dos lotes de droga coinciden. También con lo reportado en las literaturas^{26,27,28,29}; así como con trabajos experimentales realizados^{8,9,10,11}. Estos resultados, confirman, junto a la identificación taxonómica, que se está trabajando con la *Petiveria alliacea* L. y que la misma posee la calidad física requerida, según este parámetro.

Los resultados del tamizaje fitoquímico coinciden, de forma general, con trabajos investigativos previos para la droga fresca¹⁷ y para la droga seca^{9,10,11,16}; así como con resultados reportados por Massiel y colaboradores en el 2003³⁰.

2. Determinación de parámetros físicos, físico-químicos y químicos de control de la calidad de los extractos.

Los resultados para las características organolépticas de los cinco extractos coinciden con trabajo investigativo y literaturas consultadas^{17,28,29}.

Como se observa en la *Tabla I*, se obtiene mayor por ciento de sólidos totales en el extracto blando B₃ que en el batido E₃, con diferencias estadísticas para un 95 % de confianza (Cociente-F: 6592,27, P-Valor: 0,0000); lo que difiere de resultados obtenidos en estudio anterior¹⁷; donde se obtuvo mayor por ciento de

sólidos totales en los extractos batidos que en los blandos en las tres proporciones que se probaron y donde se planteó que la técnica de extracción usando batidora permite obtener mayor cantidad de sustancias con respecto a la percolación. También los valores de sólidos totales en este estudio, para los tres extractos batidos (E₁, E₂, E₃), son más bajos que los obtenidos en estudio anterior¹⁷ (13.17, 18.97, 22.21 g/100 mL¹⁸, respectivamente).

Estas diferencias, pudieran deberse, a que las condiciones climáticas invernales en el inicio de este año fueron totalmente diferentes a la investigación anterior, específicamente cuando se recolectó el segundo lote de droga para preparar los extractos batidos hubo un régimen de precipitaciones abundantes debido a la entrada de un frente frío en la región oriental y como se ha descrito en la literatura³¹: en la composición química de una especie vegetal influyen varios factores, tanto externos, como internos, entre los cuales se encuentran: el clima, el cual siempre incluye la temperatura, régimen de lluvias, luz, humedad, latitud, altitud, etc.; el suelo; entre otros; además la humedad, que depende de la altitud y del régimen de precipitaciones, puede producir pérdidas de sustancias solubles de hojas y raíces³¹, en particular glicósidos y aceites esenciales, metabolitos que forman parte de la composición química de las hojas del anamú y que son solubles en la solución hidroalcohólica al 80 %.

Se puede resumir, que los menores valores en sólidos totales en el extracto E₃ con respecto a B₃; así como los tres extractos batidos obtenidos en este estudio con respecto a estudio anterior¹⁷, pudieran deberse a una posible dilución de los compuestos químicos presentes en las hojas por las abundantes precipitaciones

que ocurrieron durante el período de recolección del segundo lote de la droga que hicieron que aumentara el contenido de agua en la hoja.

Estos resultados también se obtuvieron en el 2006, cuando al realizar la estandarización de los parámetros de control de la calidad del extracto blando de las hojas secas con solución hidroalcohólica al 30 %, se obtuvieron valores bajos de sólidos totales en el mes de Noviembre (27.4 g/100mL), debido a las abundantes precipitaciones que ocurrieron; sin embargo, al terminar estas, a partir del mes de diciembre, se empezaron a obtener valores mayores en este parámetro hasta llegar a 40.1 y 40.3 g/100mL en los meses de Abril y Mayo¹².

El análisis estadístico reveló que entre los dos extractos blandos, así como entre los 3 batidos; existen diferencias estadísticamente significativas para un 95 % de confianza (Cociente-F: 6592,27, P-Valor: 0,0000). La prueba de Cochran, indica que hay homogeneidad de varianza, pues el p-valor es mayor que 0.05 (P-valor = 0,156966).

Para el pH, los valores corroboran las características ácidas débiles de las sustancias que se extraen en estos extractos; tales como flavonoides, fenoles y taninos, ácido benzoico, oleico, esteárico, lignocérico, entre otros.

Los valores de cenizas, demuestran la posible presencia de restos inorgánicos, que además están reportados para el Anamú en hojas y raíces^{3,32}. La cantidad de cenizas totales aumentan en la medida en que se concentran los extractos; siendo superior en el extracto B₄, que es el más concentrado de todos.

Determinación de parámetros químicos: a) Determinación cualitativa de principios activos (Tamizaje Fitoquímico): De acuerdo a las coloraciones obtenidas en los ensayos de Shinoda y ácido sulfúrico²⁰ concentrado; se puede plantear la posible

presencia de flavonas y flavonoles, lo cual coincide con los resultados de la droga fresca para el primer ensayo. De acuerdo a la coloración verde oscura obtenida en el ensayo de cloruro férrico, se puede plantear la posible presencia de taninos pirocatecólicos²⁰. De acuerdo a la coloración obtenida en el ensayo de Lieberman-Burchard (verde oscuro) se puede plantear la posible presencia de estructuras esteroidales²⁰; así como que las saponinas podrían poseer esta naturaleza química. Atendiendo a la coloración rosada obtenida en el ensayo de Borntrager, se puede plantear la posible presencia de naftoquinonas y antraquinonas²⁰.

Entre los dos tipos de extractos, no existen diferencias en la composición química desde el punto de vista cualitativo.

b) Determinación de Fenoles totales: Como reflejan los estadígrafos de la recta, la curva de calibración obtenida cumple con los principales requisitos de aceptación, expresando un 98.7021 % de ajuste de los datos con el modelo, con un intercepto que atraviesa el cero con un 99 % de confianza (desde -0,00660952 hasta 0,00333845). Bajo estas condiciones se puede afirmar que la ecuación obtenida puede ser empleada para la determinación cuantitativa de fenoles totales expresados como ácido tánico.

Se observa que la concentración de fenoles totales aumenta en la medida en que se incrementa la concentración de ambos extractos, siendo superiores estos valores en el extracto B₃ con respecto a E₃, con diferencias estadísticas para un 95 % de confianza (Cociente-F: 601,48, P-Valor: 0,0000); estando en correspondencia con los resultados obtenidos en los sólidos totales en este trabajo.

El análisis de varianza mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los 5 extractos, a un nivel de confianza del 95 % (Cociente-F: 601,48, P-Valor: 0,0000). El test de rangos múltiples, específicamente la prueba diferencia francamente significativa de Tukey, mostró que la concentración de fenoles totales entre los dos extractos blandos, así como entre los tres batidos es diferente. El contraste de Cochran (0,336932) indica que hay homogeneidad de varianza, por lo que el error que se comete en esta determinación es el mismo.

En cuanto a los por cientos que representan la cantidad de fenoles totales, en base a la hoja fresca, para el extracto blando B₃ es mayor que el extracto batido E₃, manteniéndose la influencia de las precipitaciones en los fenoles totales.

Como se observa, la concentración de fenoles totales es baja en la hoja fresca; no obstante, indican la posible presencia de compuestos químicos con agrupamientos fenólicos, como flavonoides, taninos, fenoles propiamente dichos (con resultados positivos en el tamizaje); a los cuales se les han reportado acción antimicrobiana.

c) Determinación de flavonoides totales: Como reflejan los estadígrafos de la recta, la curva de calibración obtenida cumple con los principales requisitos de aceptación, expresando un 99,6934 % de ajuste de los datos con el modelo, con un intercepto que atraviesa el cero con un 99 % de confianza (desde 0,00842857 hasta 0,00781906). Bajo estas condiciones se puede afirmar que la ecuación obtenida puede ser empleada para la determinación cuantitativa de flavonoides totales expresados como quercetina.

Se observa que la concentración de flavonoides totales aumenta en la medida en que se incrementa la concentración de ambos extractos, siendo superiores estos

valores en el extracto B₃ con respecto a E₃, manteniéndose la influencia de las precipitaciones en los flavonoides totales.

Los por cientos que representan la cantidad de flavonoides totales, en base a los fenoles totales son similares en cada proporción de los extractos dentro de cada método de extracción. En los batidos, hay una mayor pérdida de los fenoles no flavonoides (por ejemplo, taninos) por solubilización debido a las precipitaciones.

Conclusiones

La caracterización de los 5 extractos estudiados, arrojó que poseen diferencias en cuanto a parámetros como cenizas totales, sólidos totales, densidad relativa, concentración de flavonoides y fenoles totales; obteniéndose mayores valores en el extracto blando que en el batido con diferencias estadísticas, influenciado, al parecer por condiciones climáticas en la composición química de la droga.

Referencias bibliográficas

1. López Palacios S. Notas bibliográficas sobre una planta posiblemente anticancerígena, el Mapurite o Anamú (*Petiveria alliacea* L.). Revista de la Facultad de Farmacia- ULA 1983; N° 23: 175-202.
2. Gupta M. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Bogotá, CYTED-SECAB; 1995. p.428-434.
3. Illnait J.F. Principales Referencias Etnomédicas Sobre el Anamú. Revista CENIC. Ciencias biológicas 2007; Vol. 38(1): 27-30. Artículo disponible en: URL:<http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/rev.-cenic- ciencias-biológicas-art.-sobre-anamú.pdf>. Actualización: Diciembre del 2009.
4. Flora de la República de Cuba-Serie B, Plantas Avasculares-Fascículo 6; 2002. p.2-3.
5. Anamú (*Petiveria alliacea* Lin.). Artículo Disponible en: URL: www.hipermercadonatural.com/index.php?main. Actualización: Marzo del 2010.
6. CECMED. Guía Metodológica para la investigación con Plantas Medicinales, Dirección de Ciencia y Técnica. Área de docencia e Investigación. La Habana, Abril; 1997. p.8-24.
7. Pérez M.S., Guilarte M.L. Estudio Farmacognóstico de *Petiveria alliacea* L. (droga cruda y extracto fluido). [Tesis de Diploma]. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba; 1994. p.1-30.
8. Ochoa A.P., Pupo M.P., Duany K. Caracterización y estudio de estabilidad físico-química de las hojas de la especie *Petiveria alliacea* L. (anamú). Rev. Cub. Quím. 2000; XII (3): 68-76.

9. Medinas D.V.; Osorio Y.M. Estudio de estabilidad física y química cualitativa de las hojas (droga cruda) de la *Petiveria alliacea* L. [Tesis de Diploma]. Santiago de Cuba; 2007. p.28-49.
10. Rojas E., Pubillones A. Estudio fitoquímico preliminar de flavonoides de hojas y raíz de la *Petiveria alliacea* L. [Tesis de Diploma]. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba; 1998. p.10-20.
11. Ochoa A.P., Gross C.F., Armas A.C., Gutiérrez Y.F. Anti-inflammatory activity of the soft extract and ointments of *Petiveria alliacea* L. in rats. *Pharmacology on line*. 2006 (3): 683-689.
12. Ochoa A.P., Marín J.M., Fernández D.F. et al. Estandarización preliminar de parámetros de calidad del extracto blando de las hojas de *Petiveria alliacea* L. *Rev. Cub. Quím.* 2006, Vol. XVIII (3): 78-83.
13. Boucicaut F., Castellano Y. Optimización del método de elaboración del extracto blando de las hojas de *Petiveria Alliacea* L. [Tesis de Diploma]. Santiago de Cuba: Universidad de Oriente; 2004. p.22.
14. Ochoa A.P., Marín J.M, Silva R.P, Delgado BNF, Salgueiro Z.B. Estudio de Estabilidad física y química cualitativa del extracto blando optimizado de las hojas de la *Petiveria alliacea* L. *Rev. Cub. Quím.* 2008, Vol. XX(1): 3-8.
15. Ochoa A.P., Marín J.M, Silva R.P, Delgado BNF, Salgueiro ZB. Estudio Tecnológico del extracto blando de las hojas de la *Petiveria alliacea* L. *Rev. CENIC Ciencias Químicas*. 2008, Vol.39(3): 141-145.
16. Mujawimana R. J., Tamayo K. G. Evaluación antimicrobiana de extractos totales de las hojas de *Petiveria alliacea* L. (anamú). [Tesis de Diploma]. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba; 2008. p.1-45.

17. Hidalgo A.R. Preclínica Antimicrobiana de Extractos totales de las Hojas de *Petiveria alliacea* L. (II). Tesis de Diploma. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba; 2009. P.1-46.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. XII Informational Supplement. M100-S12. Wayne. Pennsylvania, NCCLS; 2002. p.9-14.
19. Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 309. Métodos de Ensayo de Droga cruda, MINSAP; 1991. p.30-40.
20. Ochoa A.P., López T.G., Colombat M.R. Farmacognosia y Química de los Productos Naturales. Monografía. Editado en CD-ROM ISBN 959- 207-012- ISBN959-207-049-0; 2002. p.15-30.
21. Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 311. Extractos fluidos y Tinturas. Procesos Tecnológicos, MINSAP; 1991. p.51.
22. Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 312. Extractos fluidos y Tinturas. Métodos de ensayos, MINSAP; 1991. p.1-5.
23. Khanbabaee K., Ree T. Tannins: classification and definition. Nat. Prod. Rep. Soc. Chem. 2001; 18:641-649.
24. Tannin. Artículo Disponible en: [URL:http://www.cider.org.uk/tannin.html](http://www.cider.org.uk/tannin.html). Actualización 7 enero del 2010.
25. Lorente M.D. Estudio Farmacognóstico de *Euphorbia Hirta* L. (Tesis Doctoral) Editorial de la Universidad de Granada. D.L.:GR; 2006. p.1519.
26. Thiv M.; Schaarschmidt H.; Greuter W.; Gutiérrez Amaro I. Flora de la República de Cuba. Serie A Plantas Vasculares. Fascículo 6. Koeltz Scientific Books, Germany; 2002. p.21.

27. Cáceres A. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Guatemala, Editorial Universitaria; 1996. p.83-85.
28. Roig JT. Plantas Medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Editorial Científico-Técnica, La Habana, segunda Edición; 1988. p.158.
29. Ministerio de Salud Pública. Plantas Medicinales. FITOMED II. Editorial Ciencias Médicas; 1993. p.8.
30. Massiel M.M.P., Baracaldo N.B., Santos M.O., Nieves D.G. Estudio Farmacognóstico, fitoquímico y microbiológico de la *Petiveria alliacea* Lin. 1998. Gaceta Médica Espirituana. 2003; 5(1): 30-40.
31. Martínez M.M, Cuéllar C.A. Farmacognosia y Química de los Productos Naturales. La Habana. Editorial Félix Varela; 2001. p.170-171.
32. Saiki M., Vasconcelos M.B., Sertie J.A. Determinación de componentes inorgánicos en plantas medicinales de Brasil por análisis de activación de neutrones. Biol. Trace. Elem. Res. Instituto de Pesquisas y Nucleares, división radioquímica, Sao Paulo-SP, Brasil. Julio-Dic; 1990, 26-27;(79)43-50.

Tabla I: Promedios de los controles de la calidad físicos y físico-químicos.

Extractos	Características organolépticas	Sólidos totales (g/100mL)	Densidad Relativa (g/ml) (Media \pm error estándar)	pH
B ₃	Color: Marrón oscuro Olor: Aliáceo Homogeneidad	18.62 ^a	1.0826 \pm 0,0008 ^a	5.9
B ₄	Color: Marrón oscuro Olor: Aliáceo Homogeneidad	25.22 ^b	1.1451 \pm 0,0002 ^b	5.8
E ₁	Color: Marrón oscuro Olor: Aliáceo Homogeneidad	8.12 ^c	1.0073 \pm 0,01 ^c	5.7
E ₂	Color: Marrón oscuro Olor: Aliáceo Homogeneidad	10.54 ^e	1.0299 \pm 0,008 ^c	5.8
E ₃	Color: Marrón oscuro Olor: Aliáceo Homogeneidad	14.54 ^f	1.0451 \pm 0,01 ^{ac}	5.9

Letras diferentes representan una diferencia significativa entre muestras ($p \leq 0.05$), en cada uno de los extractos.

Tabla II: Concentración de fenoles totales, expresados como ácido tánico para cada uno de los extractos.

Extractos	B ₃	B ₄	E ₁	E ₂	E ₃
Concentración promedio de Fenoles totales (mg/mL)	7.57	8.71	2.01	2.60	3.86
Estadígrafos del ANOVA	F = 601,48		P-Valor = 0,0000		