

Trabajo Original

Facultad de Ciencias Médicas Dr. Faustino Pérez Hernández

Estudio farmacognóstico, fitoquímico y microbiológico de la *Petiveria alliaceae* Lin 1998.

A pharmacodiagnostic, phytochemical and microbiological study of the *Petiveria alliaceae* Lin 1998.

Lic. Merlys Massiel Martínez Pilar¹, Dra. Nurys Baracaldo Barrera², Lic. Maricelys Santos Obregón³, Lic. Darma Nieves Guzmán⁴

Licenciada Ciencias Farmacéuticas. Diplomada Terapia Floral, Medicina Herbolaria y Formación de investigadores ¹

Especialista en MGI. Diplomada terapia floral, Homeopatía, Investigación, Medicina Tradicional y Natural ²

Licenciada Ciencias Farmacéuticas, Diplomada Homeopatía ³

Licenciada Ciencias Farmacéuticas. Diplomada. Terapia Floral ⁴

RESUMEN

En este trabajo se expone un estudio realizado a la droga *Petiveria alliaceae* Lin (anamú). La muestra fue recolectada al azar y se trasladó en bolsas de nylon hacia el lugar donde se realizó el estudio fitoquímico a cada una de las partes que componen dicha planta, en forma fresca, obteniendo como resultado la presencia de mayor cantidad de metabolitos en las hojas, de las cuales se informan sus características micromorfológicas y no se reportan diferencias en cuanto al estudio macromorfológico realizado en esta investigación y lo consultado en la literatura (1,4,6,9,14), estas se secaron a la sombra, sol y estufa con recirculación de aire, a una temperatura de 38 °C. Posteriormente fueron trituradas y se determinó la composición química, no detectándose diferencias entre los metabolitos encontrados en la droga fresca y seca, a continuación se brindan los resultados de índices numéricos como: humedad residual, sustancias solubles, determinación de aceites esenciales, entre otros. Fue seleccionado el secado en estufa con recirculación de aire (38 °C) como el de mayor eficacia para realizar el extracto fluido, el cual se elaboró por reperlación usando como menstro una solución hidroalcohólica al 60% y se le hicieron estudios de estabilidad a temperatura ambiente y en refrigeración durante un período de 30 días, no presentando variaciones significativas en su conservación. Se tomó una muestra de este preparado y se evaluó la actividad antifúngica y antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*, el cual mostró inactividad.

DeCS: PLANTASMEDICINALES, EXTRACTOSVEGETALES / farmacología

SUMMARY

In this work, a study carried out to the drug *Petiveria alliaceae* Lin (anamú) is presented. The sample was collected randomly and moved in nylon bags toward the place where the phytochemical study was made to each part of this plant, in a fresh form, with the presence of a

greater quantity of metabolites in the leaves being obtained as a result in the leaves, whose micromorphological characteristics are described, and no differences are reported as to the macromorphological study made in this research and the literature reviewed (1,4,6,9,14). They dried off under shady spots, under the sun and over a stove with recirculation of air, at a temperature of 38°C. Later on they were crushed and the chemical composition was determined, with no differences being detected among the metabolites found in the fresh and dry drugs. Following are the results of numeric indexes given as: residual humidity, soluble substances, determination of essential oils, among others. The drying on a stove with recirculation of air (38 °C) was selected as that of the greatest effectiveness to make the fluid extract, which was elaborated by repercolation using as menses a hydroalcoholic solution at 60% to which stability studies were made at ambient temperature and in refrigeration during a period of 30 days, with no significant variations being present in its conservation. A sample of this preparation was taken and the antifungal and antibacterial action was evaluated against *Staphylococcus aureus*, *Cándida albicans*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*, which showed inactivity.

MeSH: PLANTS, MEDICINAL, PLANT EXTRACTS / pharmacology

INTRODUCCIÓN

En la mente del hombre primitivo no existían límites precisos entre magia, religión y medicina, al lado del tratamiento mágico religioso, era común entre ellos el uso de las plantas medicinales (12).

Este fenómeno ha proseguido durante miles de años, tomando así proporciones considerables y una creciente importancia dentro de la investigación. Es por ello que muchos países en desarrollo exportan sus plantas medicinales a los del mundo desarrollado, donde se seleccionan, analizan y emplean para preparar fármacos que vuelvan a ser exportados a precios exorbitantes (3.4).

Todos los pueblos han tenido varias tradiciones que llegan a nuestros días, y el pueblo cubano no es una excepción, mostrando la integración de cuatro culturas en la formación de nuestra nacionalidad que enriquecen los conocimientos de la medicina tradicional y natural.

En este marco el farmacéutico tiene la oportunidad y responsabilidad de intervenir, por sus conocimientos y posibilidades en casi todas las modalidades terapéuticas. (8).

La investigación se ha dirigido hacia el conocimiento de esta rama, con el propósito de hacer más evaluaciones farmacológicas, toxicológicas, aislamiento de los principios activos y otros estudios, que posibilitará el aseguramiento de una base nacional de medicamentos dada la factibilidad de exportación de estos recursos (5)

Considerando el amplio uso de la planta de anamú con propósitos medicinales por nuestra población y teniendo en cuenta la información presente en la literatura, se emprendieron toda una serie de estudios a fin de poder hacer una mejor caracterización farmacológica de la misma (55), es conocida en el mundo entero como la hierba de la energía por tener altas concentraciones de vitamina A;E;J;K así como de fósforo, potasio, selenio y dos factores de crecimiento (alfalfa y Vitamina B13), en Europa se usa en ensaladas comestibles, se venden en cápsulas y tabletas (10,11)

En los últimos años la flora medicinal se revitaliza y cobra gran interés para todos los países.

Actualmente el criterio naturista ignorado durante tantos años es reconocido por múltiples y variados testamentos académicos; pues desde tiempos muy remotos el hombre descubrió que las plantas no sólo satisfacían sus necesidades de subsistencia, sino también curaban sus enfermedades (2, 7,13).

Este trabajo tiene como objetivos realizar un estudio farmacognóstico y fitoquímico de la *Petiveria alliacea* Lin y la evaluación de la actividad antifúngica y antimicrobiana de un extracto de la misma.

MATERIAL Y MÉTODO

El material vegetal previamente identificado y comparado con la muestra de Herbario #1185 del jardín botánico de Sancti-Spíritus de la *Petiveria alliacea* Lin (anamú) fue recolectada en el mes de diciembre, en horas tempranas de la mañana. Se efectuó cuando las plantas se encontraban en su máximo estado de crecimiento y desarrollo, en bolsas de nylon.

Para este estudio se realizó la técnica del tamizaje fitoquímico a cada una de las partes que forman dicha planta, siendo las hojas la parte útil con mayor cantidad de metabolitos farmacológicamente activos, de las cuales se describieron las características macro y micromorfológicas de acuerdo a su anatomía foliar realizando cortes transversales y longitudinales.

El secado del material vegetal (Hojas) fue realizado a la sombra, sol y estufa con recirculación de aire a una temperatura de 38°C. El registro del proceso de secado fue hecho con una frecuencia entre 12 y 24 horas hasta obtener peso constante, la droga fue triturada y se procedió a la realización de los índices numéricos de la droga cruda: hojas ennegrecidas, materias orgánicas e inorgánicas extrañas, cenizas totales solubles en agua e insolubles en ácido clorhídrico, humedad residual, sustancias solubles, aceites esenciales, para todos estos ensayos seguimos la metodología descrita en la NRSP 309.

El extracto fluido de la hoja de *Petiveria alliacea* Lin se obtuvo por el método de reperlación en serie con cuatro extracciones, se conservó en frascos de vidrio color ámbar con tapa de polipropileno bien cerrado para protegerlo de la evaporación y de la luz por ser fotosensible, bajo dos condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración y se le midieron los parámetros físicos químicos (requisitos organolépticos, pH, índice de refracción, densidad relativa, análisis capilar, sólidos totales, contenido alcohólico y metabolitos de interés) de control de la calidad que aparecen referidos en la NRSP 312 con el objetivo de determinar la estabilidad del preparado.

Se realizó el estudio de la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar utilizándose los controles siguientes Extracto fluido de anamú, control positivo para bacterias gentamicina 8 mg x ml, control positivo para hongos nistatina 4 mg x ml, control negativo alcohol 60%; siendo las cepas utilizadas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, posteriormente se le determinó el porcentaje de inhibición relativa.

RESULTADOS

Tabla No 1: La planta completa presenta los metabolitos: alcaloides, lactonas, triterpenos y/o esteroides, lípidos y/o aceites esenciales, carbohidratos reductores, aminoácidos, saponinas, taninos, flavonoides, glicósidos cardiotónicos y no presenta quinonas y mucílagos.

Se puede apreciar que la hoja fresca contiene alcaloides, lactonas, triterpenos y/o esteroides, lípidos y/o aceites esenciales, carbohidratos reductores, aminoácidos, saponinas, taninos, flavonoides, glicósidos cardiotónicos y no presenta quinonas y mucílagos. A través de estos resultados se comprueba que dicho órgano presenta la misma composición química que la *Petiveria alliacea* Lin como planta entera por lo que es el órgano vegetativo más rico en metabolitos responsables de las diferentes actividades farmacológicas que presenta el anamú.

Tabla No 2: La descripción de las características macromorfológicas se completa con el estudio de los resultados de las mediciones del largo y ancho, para las cuales se obtuvo un valor medio, además del cálculo de desviación standard y el coeficiente de variación.

Tabla No 3: Al analizar el tiempo de secado se determinó que no se obtienen diferencias entre el Sol y la estufa con recirculación de aire (38°C) que demoraron un día en alcanzar peso constante, sin embargo sí difieren con respecto al método de la sombra, que demoró 6 días. Estos resultados indican hacia la elección del método de secado al sol o en estufa con recirculación de aire (38°C) por su rapidez. No obstante es necesario para la selección de un método u otro tener en cuenta otros parámetros como son los índices numéricos y resultados del estudio fitoquímico que en este caso serán analizadas a continuación.

Tabla No 4: Al comparar la Hoja fresca con la hoja seca, no se observan diferencias en cuanto a su composición química, lo que demuestra que ninguno de los tres métodos de secado alteran los metabolitos de interés. En cuanto a la intensidad de los colores, los de la droga seca son más intensos que los observados en la fresca y esto es debido a que esta última contiene agua, resultando que para un mismo peso en ambos tipos de droga, la seca tiene más concentración de metabolitos.

Tabla No 5: En cuanto al contenido de aceites esenciales el porcentaje obtenido en el secado al Sol fue muy bajo con respecto a los demás métodos, lo que descarta la posibilidad de obtención de la droga cruda por esta vía. En el secado a la sombra y estufa con recirculación de aire (38°C) no se observan diferencias significativas en cuanto al contenido de aceites esenciales.

La determinación del contenido de humedad residual es uno de los parámetros más importantes que se ensayan debido a que un adecuado proceso de secado asegura la estabilidad y la no afectación de los principios activos que contiene la droga. Por tanto si se fuera a considerar el mejor valor se seleccionaría el método del sol seguido de estufa y por último la sombra.

Al analizar el porcentaje de sustancias solubles se aprecia que para las hojas secas por los tres métodos de secado, el solvente hidroalcohólico capaz de lograr una mayor extracción de metabolitos de interés resultó ser el etanol al 60 %, dicho solvente fue utilizado como menstruo para la elaboración del extracto fluido. Se logra mejor extracción con la droga seca al Sol.

El porcentaje de hojas ennegrecidas es un parámetro negativo que atenta contra la calidad de la droga seca, mostrando mejores resultados el secado a la sombra.

Todos estos resultados indicaron hacia la elección del método de secado en la estufa como idóneo, no obstante puede analizarse la selección del método de secado a la sombra como alternativa de acuerdo a las condiciones existentes.

Se descarta el secado al Sol debido al bajo porcentaje de aceites esenciales ya que este constituye uno de los metabolitos principales de esta droga.

Tabla No 6: Ninguno de los parámetros medidos al extracto fluido de las hojas de *Petiveria alliacea* Lin presenta variaciones significativas durante el período del almacenamiento de 30 días a temperatura ambiente y en refrigeración. Lo que permite almacenar en frascos bien cerrados de color ámbar con tapas de polipropileno en ambas condiciones

No existen diferencias macromorfológicas en las hojas de *Petiveria Alliacea* Lin con respecto a lo reportado en la literatura.

Se propone las hojas de *Petiveria alliacea* Lin como droga cruda para la elaboración de la forma farmacéutica debido a que es la más abundante en metabolitos tales como: alcaloides, triterpenos

y/o esteroides, lípidos y/o aceites esenciales, carbohidratos reductores, aas, saponinas, taninos, flavonoides y glicósidos cardiotónicos

El método de secado no influye en la composición química por lo que se puede utilizar la droga, siendo el método de secado más idóneo la estufa con recirculación de aire(38 grados C) seguido de la sombra. No se recomienda el secado al Sol debido a la disminución significativa del contenido de aceite esencial, considerado uno de los metabolitos principales.

El estudio farmacognóstico realizado permitió informar los índices numéricos que caracterizan a la droga cruda.

Se seleccionó el menstuo hidroalcohólico etanol al 60% como idóneo para la obtención del extracto fluido.

El extracto fluido obtenido fue estable en las condiciones seleccionadas hasta los 30 días de elaborado.

Los resultados de estos estudios contribuyen al trabajo de normalización imprescindible para el uso de esta planta en la terapéutica.

El extracto fluido no mostró actividad antifúngica y antibacteriana frente a las cepas de Escherichia coli, Candida albicans, Staphylococcus aureus y Bacillus subtilis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarez M, Iglesias R, García L, García Luis, Rojo D, Gelabert S. *Petiveria alliacea* (anamú). Estado actual de las investigaciones en los Institutos Superiores de Ciencias Médicas de La Habana y Villa Clara.. *Rev Cubana Farm* 1995; 30 (S):209.
2. Cáceres A, Girón LM, Alvarado SR, Torres MF. Screening of antimicrobial activity of plant popularly used in Guatemala for hte treatment of dermatomucosal diseases. *J Ethnopharmacol* 1987; 20(3):223-237.
3. Cáceres A, Jaurigui E, Herrera O, Logeman H. Plant used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. 1: Screening of 38 plant extract for anticardical activity. *J Ethnopharmacol* 1991; 33(3): 277-283.
4. De Sousa JR, Demuner AJ, Pinheiro JA, Breitmaier E, Casels BR. Dibenzyl Trisulpende and Trans-N-Methyl-4-methoxyproline from *Petiveria Alliaceae*. *Phytochemistry* 1990; 29 (2) :3653-3655
5. Escalona JC, Santiesteban R, González E, Aguilera I. Estudio fitoquímico preliminar de hojas de la especie *Petiveria alliacea* Lin. *Rev Cubana Farm* 1995; 30 (S): 211.
6. Fitomed II. Plantas medicinales. Anamú. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1993. p. 8-9.
7. García D, Fuentes V, Fortes R, Crespo M. Tamizaje fitoquímico de plantas medicinales referidas como tóxicas. *Rev Plantas Medicinales* 1989; 9:66-68.
8. Germano DHP, Caldeira TTO, Mazella AAG, Sertié JAA, Bachi EM. Topical antinflammatory activity and toxicity of *Petiveria alliacea*. *Rivisti di studi ed Applicazioni delle plante medicinali* 1993; 64 (5):195-202.
9. Germano DHP, Sertié JAA, Bachi EM. Pharmacological assay of *Petiveria alliacea*. *Rivisti de studi ed applicazioni delle plante medicinali* 1995; 66(5):195-202.
10. Hoyos LS, Au WW, Morris LD, Legator MS. Evaluation of genotoxic effects of a foll medicinal *Petiveria alliacea*. *Mutat Res* 1992; 280(1):29-34.
11. Joviavic L, Troiani MP, Capezzone de Juannon A, Saso L, Mazzanti G, Rossi V. In vitro antiproliferative activity of *Petiveria alliacea* Lin on several tumor dell lines. *Pharmacological Res* 1993; 27(1):105-106.
12. López Palacio Santiago. Notas bibliográficas sobre una planta posiblemente anticancerígena, el mapurite o anamú. *Rev. Farm* 1983; 23: 175-202.
13. Ochoa A, Cross Caridad, Menéndez M, Chacón N, Torres María de la A. Propiedades antinflamatorias del ungüento de *Petiveria alliacea*. *Rev Cubana Farm* 1995; 30 (S):143.
14. Roig Juan Tomás. *Plantas Medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba*. 2da Ed. La Habana : Editorial Científico Técnica

ANEXOS

Tabla No 1: tamizaje fitoquímico de cada una de las partes de la planta.

Extracto	Metabolitos	Hojas		Flor		Fruto	
		I	II	I	II	I	II
ETÉREO	Alcaloides	+	+	-	-	+	+
	Lactonas	-	-	-	-	+	+
	Triterpenos y/o Esteroides	+++	+++	+	+	++	++
	Quinonas	-	-	-	-	-	-
	Lípidos y/o Aceites esenciales	++	++	+	+	+	+
ALCOHÓLICO	Carbohidratos Reductores	+	+	+	+	++	++
	Lactonas	+	+	+	+	-	-
	Aminoácidos	++	++	++	++	++	++
	Saponinas	++	++	+	+	+	+
	Taninos	+	+	+	+	-	-
	Flavonoides	+	+	-	-	-	-
	Alcaloides	+	-	-	-	-	-
	Quinonas	-	-	-	-	-	-
	Glicósidos Cardiotónicos	+	+	+	+	+	+
	Triterpenos y/o Esteroides	+++	+++	+	+	++	++
ACUOSO	Saponinas	+	+	+	+	+	+
	Alcaloides	+	+	-	-	++	++
	Taninos	+	+	+	+	-	-
	Carbohidratos Reductores	+	+	+	+	++	++
	Flavonoides	+	+	-	-	-	-
	Mucílagos	-	-	-	-	-	-
	Sabor	A		A		A	

Continuación de la Tabla No 1

Extracto	Metabolitos	Tallo		Raíz	
		I	II	I	II
ETÉREO	Alcaloides	-	-	-	-
	Lactonas	-	-	-	-
	Triterpenos y/o Esteroides	-	-	-	-
	Quinonas	-	-	-	-
	Lípidos y/o Aceites esenciales	+	+	-	-
ALCOHÓLICO	Carbohidratos Reductores	+	+	-	-
	Lactonas	++	++	++	++
	Aminoácidos	++	++	+	+
	Saponinas	-	-	-	-
	Taninos	-	-	-	-
	Flavonoides	-	-	-	-
	Alcaloides	-	-	-	-
	Quinonas	-	-	-	-
	Glicósidos Cardiotónicos	+	+	+	+
	Triterpenos y/o Esteroides	-	-	-	-
ACUOSO	Saponinas	+	+	+	+
	Alcaloides	-	-	-	-
	Taninos	-	-	-	-
	Carbohidratos Reductores	+	+	-	-
	Flavonoides	-	-	-	-
	Mucílagos	-	-	-	-
	Sabor	A		A	

Leyenda: +: Positivo; -:Negativo; A : Amargo; I, II: Réplicas
La cantidad de + se refiere a la intensidad del ensayo.

Tabla No 2: Determinación de las características macromorfológicas.

	Largo (L) cm	Ancho (A) cm
\bar{X}	12.46	4.65
S	2.89	1.15
CV	23.26	24.83

Dónde: ---

X: Media

S: Desviación Standard

CV: Coeficiente de variación

Tabla No 3: Resultados obtenidos en el tiempo de secado de lo hoja de *Petiveria alliacea* Lin.

Método	Tiempo (días)
Sombra	6
Sol	1
Estufa (38°C)	1

Tabla No 4: Tamizaje fitoquímico de la hoja seca por los tres métodos de secado.

Extracto	Metabolitos	Hoja fresca		Sombra		Sol		Estufa	
		I	II	I	II	I	II	I	II
ETÉREO	Alcaloides	+	+	+	+	+	+	+	+
	Lactonas	-	-	-	-	-	-	-	-
	Triterpenos y/o Esteroides	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Quinonas	-	-	-	-	-	-	-	-
	Lípidos y/o Aceites esenciales	++	++	++	++	+	+	++	++
ALCOHÓLICO	Carbohidratos Reductores	+	+	+	+	+	+	+	+
	Lactonas	+	+	+	+	+	+	+	+
	Aminoácidos	++	++	++	++	++	++	++	++
	Saponinas	++	++	++	++	++	++	++	++
	Taninos	+	+	+	+	+	+	-	-
	Flavonoides	+	+	-	-	-	-	+	+
	Alcaloides	-	-	+	+	+	+	+	+
	Quinonas	+	+	-	-	-	-	-	-
	Glicósidos Cardiotónicos	+	+	+	+	+	+	+	+
	Triterpenos y/o Esteroides	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ACUOSO	Saponinas	+	+	++	++	+	+	+	+
	Alcaloides	+	+	++	++	+	+	+	+
	Taninos	+	+	-	-	-	-	+	+
	Carbohidratos Reductores	+	+	+	+	+	+	+	+
	Flavonoides	+	+	+	+	+	+	-	-
	Mucílago	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sabor	A		A		A		A	

Leyenda: +: Positivo; -:Negativo; A : Amargo; I, II: Réplicas
La cantidad de + se refiere a la intensidad del ensayo.

Tabla No 5: Resultados de los índices numéricos.

Índices Numéricos (%)	Sombra	Sol	Estufa (38°C)
	Máx	máx	máx
Cenizas Totales	15.81	15.92	15.97
Cenizas Solubles en agua	2.01	2.10	2.05
Cenizas Insolubles en ácido	5.76	5.62	5.81
Contenido en aceites esenciales	Mín	mín	Mín
	0.248	0.067	0.239
Humedad residual (azeotrópico)	Máx	máx	Máx
	10	8	9
Sustancias solubles	Mín	mín	Mín
	1.-22.6	23.5	21.4
	2.-22.1	22.6	21.3
	3.-18.2	20.1	18.8
Hojas ennegrecidas	Máx	máx	Máx
	0.9	1.2	1.0
Inorgánica Materia extraña Orgánica	Máx	máx	máx
	0.1	0.1	0.1
	0.1	0.1	0.1

Estos resultados son el promedio de dos determinaciones

Leyenda:

- 1.- Extracción con EtOH al 60 %
- 2.- Extracción con EtOH al 70 %
- 3.- Extracción con EtOH al 80 %

Tabla No 6: Resultados de la conservación y estabilidad del extracto fluido.

Temperatura ambiente (frasco ámbar)			
Parámetros	Inicial	15 días	30 días
color	AV	AV	AV
Olor	C	C	C
Aspecto	T	T	T
Sedimentos	No	No	NO
pH	6.85	6.89	6.70
Índice de refracción	1.382	1.380	1.383
Densidad Relativa (g/ml)	0.985	0.982	0.979
Sólidos totales (g/100ml) min	15.6	15.2	14.8
Contenido alcohólico % en min	55.28	55.28	55.28
Metabolitos de interés	+	+	+
Refrigeración			
Parámetros	Inicial	15 días	30 días
color	AV	AV	AV
Olor	C	C	C
Aspecto	T	T	T
Sedimentos	No	No	NO
pH	6.85	6.95	6.80
Índice de refracción	1.382	1.379	1.389
Densidad Relativa (g/ml)	0.985	0.983	0.980
Sólidos totales (g/100ml) min	15.6	15.4	15.9
Contenido alcohólico % en min	55.28	55.28	55.28
Metabolitos de interés	+	+	+