

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM)
Departamento de Productos Naturales

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE UN EXTRACTO DE *ALOE VERA* L. CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL

Lic. Reinaldo Rivero Martínez¹, Lic. Eduardo Antonio Rodríguez Leyes¹, Lic. Rosa Menéndez Castillo¹,
Lic. José Abel Fernández Romero², Lic. Gloria del Barrio Alonso² y Téc. María Lidia González Sanabia³

Resumen

En el presente trabajo se abordó la obtención de un extracto de la corteza de *Aloe vera* L., su posterior caracterización y la determinación de la efectividad media frente al virus *Herpes simplex* tipo 1 (HSV-1). Se concluyó que el extracto obtenido y caracterizado presenta una concentración de antracenderivados totales de $25,0 \pm 5,0$ mg %, dicho extracto presenta actividad antiviral *in vitro* con una toxicidad media de $3,8 \pm 0,3$ mg/mL y dosis efectiva de $0,80 \pm 0,05$ mg/mL.

DeCS: ALOE/uso terapéutico; PLANTAS MEDICINALES; EXTRACTOS VEGETALES/uso terapéutico; AGENTES ANTIVIRALES/uso terapéutico; HERPESVIRUS 1 HUMANO.

Summary

The obtention of an extract from the cortex of *Aloe vera* L., its further characterization and the determination of its average effectiveness against *Herpes simplex* virus type 1 (HSV-1) are dealt with in this paper. It was concluded that the extract obtained and characterized presents a concentration of total anthracene derivatives of 25.0 ± 5.0 mg %. This extract has an *in vitro* antiviral activity with a mean toxicity of 3.8 ± 0.3 mg/mL and a effective dose of 0.80 ± 0.05 mg/mL.

Subject headings: ALOE/therapeutic use; PLANTS, MEDICINAL; PLANT EXTRACTS/therapeutic use; ANTIVIRAL AGENTS/therapeutic use; HERPES VIRUS 1, HUMAN.

Aloe vera L. (familia: *Liliaceae*) es una importante planta la cual es muy utilizada en la medicina tradicional en la cura de diversos males,¹ destacándose las enfermedades de la piel, los daños por irradiación, las afecciones de los ojos, los desórdenes intestinales y por su actividad antiviral.²⁻⁶

Químicamente se caracteriza por la presencia de constituyentes fenólicos que son generalmente clasificados en 2 principales grupos, cromonas⁷⁻⁹ como la aloesina, y antraquinonas (libres y en forma de glicósidos),¹⁰⁻¹⁵ como la barbaloina, la isobarbaloina y la aloemodina de la capa interna de las células epidérmicas. Así como la presencia de polisacáridos, glicoproteínas y aminoácidos en el gel incoloro e insípido de las células parenquimales de las hojas de esta planta.^{13,15,16}

La aloína es el principal componente de una sustancia amarilla que la planta secreta como defensa para alejar a posibles depredadores por su olor y sabor desagradables. También parece intervenir en el proceso de control de la evapotranspiración en condiciones de elevada insolación y sequía. Esta antraquinona es un veneno, laxante y abortivo, que se utiliza en preparados farmacéuticos produciendo en ocasiones alergias a personas sensibles y en la legislación europea se admite como máximo un 0,1 %.¹⁷ Está completamente prohibida la presencia de aloína en productos alimentarios.¹⁷

En investigaciones precedentes, se ha comprobado el efecto de diferentes antraquinonas naturales y compuestos similares sobre diversos virus, tales como: *Herpes simplex*

¹ Licenciado en Ciencias Farmacéuticas.

² Licenciado en Biología.

³ Técnica en Farmacia.

tipos 1 y 2, varicela –*zoster*, *pseudorrabia*, influenza, HIV-1.^{6,7,18} Dichos productos son aislados con solventes orgánicos como acetona, acetato de etilo, metanol y glicerina caliente. Uno de estos componentes, la aloemodina, resultó activa contra una gran variedad de virus.^{6,7} Sobre la base de toda la información acopiada se plantea que las antraquinonas actúan directamente sobre los virus envueltos, lo que trae como resultado la prevención de la adsorción del virus y su consecuente replicación.⁶

Los objetivos de este trabajo, teniendo en cuenta que los primeros principios activados aislados a partir de esta planta fueron los glicósidos de 1,8 oxiantraquinonas y sus agliconas, se centraron en el establecimiento de un procedimiento para la obtención de un extracto hasta su escalado en planta piloto a partir de la corteza de *Aloe vera* L. (sábila) que crece en Cuba, la evaluación de los parámetros de calidad y estudios de estabilidad de esta materia prima, así como los resultados de su evaluación antiviral preliminar contra el *Herpes simplex* tipo 1 (HSV-1), toxicología y genotoxicidad.

Métodos

ESTUDIOS CON EL MATERIAL VEGETAL

Para este trabajo se utilizaron las hojas frescas de *Aloe vera* L. (sábila) de más de 2 años de plantadas, procedentes de la Estación Experimental de Plantas Medicinales “Dr. Juan Tomás Roig”, municipio San Antonio de los Baños, provincia Habana, las cuales fueron lavadas y escurridas para la posterior separación manual del gel de la corteza, tomando las puntas, las bases, las espinas y la corteza a partir de la hoja entera. Esta última es un producto de desecho que es aprovechado en nuestros estudios.

1. Estudio de la influencia de la preparación de la materia vegetal en el proceso de extracción

Para el estudio de la influencia de la preparación de la materia vegetal en el proceso de extracción se utilizaron 2 modos de preparación MV-1 y MV-2.

La materia vegetal (MV-1) se preparó tomando las puntas, las bases, las espinas y la corteza a partir de la hoja entera, las cuales se molieron en un molino de martillo. Posteriormente la masa molida se secó en una estufa de aire reciclado a 65 ± 5 °C durante 48 h removiéndola cada 1 h aproximadamente.

Para la preparación de MV-2 se siguió un procedimiento similar invirtiendo el orden de las operaciones. En este caso las mismas partes separadas del gel incoloro e insípido, se sometieron inicialmente a un proceso de secado y posteriormente se molieron en un molino de cuchillas.

Los experimentos se realizaron con los mejores parámetros de operación obtenidos durante el diseño. Se realizaron 3 experimentos con cada materia vegetal, cuantificando los antracenderivados totales, además de determinar % de humedad, cenizas totales y sustancias solubles según metodología descrita,¹⁹ ver tabla 1.

Al finalizar este estudio, se determinó la de mejores resultados quedando de la siguiente manera:

Todas estas partes se secaron en una estufa de aire reciclado a una temperatura de 65 ± 5 °C durante 48 a 72 h, removiéndolas cada 2 h aproximadamente.

Posteriormente, la corteza seca fue molida en un molino de cuchilla hasta un tamaño de partículas apropiado.

Estudios de obtención del extracto

Para el desarrollo del método extractivo se estudiaron los siguientes parámetros:

1. Selección del solvente.
2. Selección de la relación materia vegetal-solvente.
3. Cinética de extracción.

En todos los casos se evaluaron los antracenderivados totales y/o libres utilizando el método colorimétrico de *Auterhoff y Ball* con ligeras modificaciones basadas en la reacción de *Börntrager* desarrolladas en la literatura,¹⁴ la cual está basada en la reacción entre los grupos fenólicos de los antracenderivados con una solución alcalina formando fenolatos coloreados tras lo cual se lee fotométricamente a 525 nm.

1. Selección del solvente

Para la selección del solvente de extracción se estudiaron 5 solventes: agua, etanol, una mezcla agua-etanol (1:1), acetato de etilo y glicerina, en este último caso se siguieron los mismos pasos del reporte de la literatura para la obtención del mismo.^{6,7}

Para dicho estudio se utilizaron 20 g del material vegetal para cada extracción, la cual debe estar almacenada en bolsas de *nylon* y se reenvasaron en un recipiente que permitiera trasegar el sólido. El material vegetal y el solvente se añaden en un reactor, empleando un tiempo de extracción de 4 h una vez alcanzado el reflujo.

El extracto obtenido se filtró con papel de filtro a presión reducida y se determinó el contenido de antracenderivados libres y totales, realizando 3 réplicas para cada uno de los solventes.

El solvente óptimo resultó ser el que logró extraer un mayor % de estos componentes.

2. Selección de la relación material vegetal-solvente

Con el solvente seleccionado, se pasó a analizar la proporción más conveniente de trabajo con el objetivo de obtener mayores rendimientos de extracción. Para ello se ensayaron varias proporciones de la relación material vegetal-solvente, fijando en los experimentos la cantidad de materia vegetal empleada. Para este estudio se realizó el mismo procesamiento de la etapa anterior, comparando el contenido de antracenderivados libres y totales por triplicado.

La óptima relación de material vegetal-solvente resultó ser la que logró extraer un mayor % de antracenderivados.

3. Cinética de extracción

La cinética se estudió con el objetivo de determinar el tiempo óptimo necesario para garantizar la extracción total de los antracenderivados.

Se tomaron muestras de extracto, a los siguientes tiempos de residencia 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 min y se determinó el contenido de antracenderivados libres y totales, realizando 3 réplicas para cada uno de los tiempos.

El óptimo rango o intervalo de tiempo para la extracción resultó ser el que logró extraer un mayor % de antracenderivados.

Una vez terminada la fase de estudio para la selección del solvente, la proporción y la cinética de extracción, se obtuvieron 5 lotes, a los cuales se les realizaron los análisis anteriormente mencionados por triplicado, reportando el valor medio para cada parámetro.

CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS

- Se realizó el análisis de los extractos para los 5 lotes basándonos en la generalidad de los parámetros descritos en la literatura.²⁰⁻²²
- Para el análisis fitoquímico de los extractos hidroalcolólicos se aplicó el método descrito por *Rondina* y *Coussio*.²³
- Se realizó una caracterización por cromatografía en placa delgada donde se emplearon placas de sílica gel 60 F₂₅₄ preelaboradas, firma MERCK. Como fase móvil se empleó acetato de etilo-metanol-agua (100:17:13).²⁴

Una vez corrida la cromatoplaqueta se observaron a la luz ultravioleta a 365 nm (lámpara UV Original Hanau Fluotest) y posteriormente con vapores de amoníaco y con KOH al 5 % en metanol.²⁴

Se empleó como patrón de referencia la aloína Sigma (St. Louis, Mo, USA), la cual se preparó en concentración de 0,25 mg/mL en medio metanólico. Se puntúan 20 µL del estándar y 25 µL de la muestra en cada caso.

FARMACOLOGÍA

Ensayo antiviral

Para la prueba de actividad antiviral, primeramente se necesitó eliminar el solvente de los extractos por lo que hubo necesidad de concentrar las muestras en un rotavapor *Büchi* de 3L y posterior secado en una estufa de vacío a 40 °C por 8 h para la eliminación total del solvente.

Las muestras fueron evaluadas contra el *Herpes simplex* tipo I, el ensayo de citotoxicidad se realizó en línea celular Hep. 2 y se calculó la toxicidad media (CC₅₀) para lo cual el

método colorimétrico del MTT (sales de tetrazonio) donde se midió el % de células sobrevivientes²⁵ y para calcular la dosis efectiva (DE₅₀), se determinó por observación de la inhibición del efecto citopático del virus en el microscopio.

Los experimentos de CC₅₀ y DE₅₀ fueron realizados 3 veces cada uno para poder calcular la desviación estándar.

Resultados

Estudios con el material vegetal

En la tabla 1 se presentan los valores obtenidos de la concentración de antracenderivados totales de los experimentos realizados relativos al estudio de la influencia de la preparación de la materia prima vegetal mediante los 2 métodos (MV-1 y MV-2).

TABLA 1. Evaluación de la droga con diferentes modos de preparación

Experimentos	MV-1	MV-2
	Antracenderivados totales (mg/100 mL)	Antracenderivados totales (mg/100 mL)
1	34,01	46,10
2	33,98	45,72
3	34,51	44,98
Media	34,10	45,60
DS	0,29	0,57
CV (%)	0,87	1,25
Humedad	3,52 %	5,54 %
Cenizas totales	13,50 %	13,22 %
Sustancias solubles en agua	42,52 %	38,16 %
Sustancias solubles en etanol	10,71 %	5,63 %
Sustancias solubles en etanol-agua (1:1)	31,86 %	33,28 %

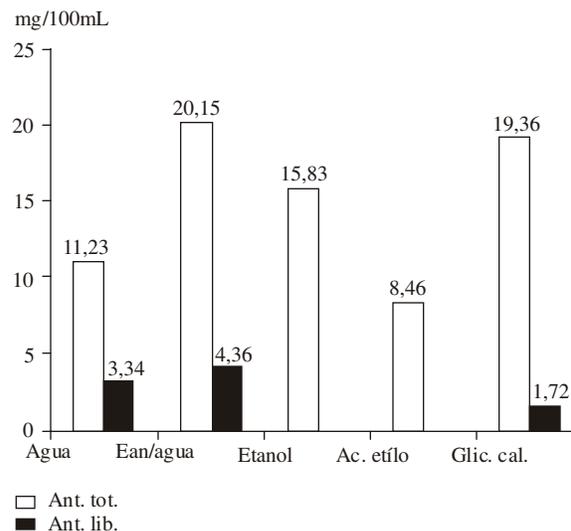


FIG. 1. Estudio para la selección del solvente.

Estudios de obtención del extracto

En la figura 1 se muestran los resultados del estudio para la selección del solvente más adecuado observándose el contenido de antracenderivados libres y totales medios (mg %) extraídos con diferentes solventes.

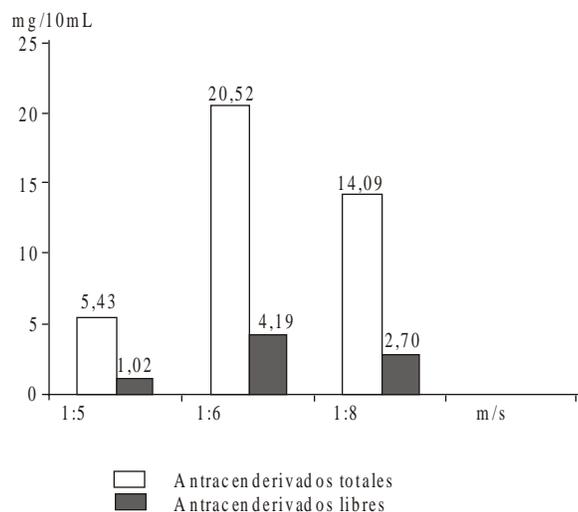


FIG. 2. Estudio para la selección de la proporción materia vegetal/solvente.

Los resultados del estudio para la selección de la proporción materia vegetal-solvente se observan en la figura 2 mostrándose el contenido de antracenderivados libres y totales medios (mg %) con etanol/agua (1:1) con diferentes proporciones.

TABLA 2. Propiedades físico-químicas y cuantificación de los antracenderivados en los extractos

Extractos	I	II	III	IV	V	Media	CV (%)
pH	5,5	5,4	5,6	5,4	5,3	5,44	2,09
Densidad relativa	0,9903	0,9989	0,9477	0,9562	0,9326	0,9651	2,93
Índice de refracción	1,356	1,354	1,370	1,354	1,357	1,3582	0,49
Sólidos totales (%)	2,47	2,81	2,13	2,40	2,35	2,43	10,23
Contenido alcohólico (% v/v)	39,95	36,63	43,30	38,30	50,20	41,67	12,87
Identificación	Responden						
Antracenderivados libres (mg/100 mL)	3,12	3,07	4,10	3,90	4,20	3,68	12,83
Antracenderivados totales (mg/100 mL)	29,55	21,74	23,80	24,10	19,60	23,72	15,88
Características organolépticas	Líquido viscoso, opaco, de color pardo rojizo y olor característico						
Tamizaje fitoquímico	Presencia de azúcares reductores, compuestos fenólicos y lactónicos, aminoácidos y aminas en general, quinonas (naftaquinonas y antraquinonas) y flavonoides						
Identificación: Presencia de aloína por CCD	+						
	(Rf= 0,47-0,49)						
C. microbiológico	Cumplen						

En la figura 3 se presentan los resultados de la cinética de extracción de los metabolitos de interés en el rango entre 0 y 240 min.

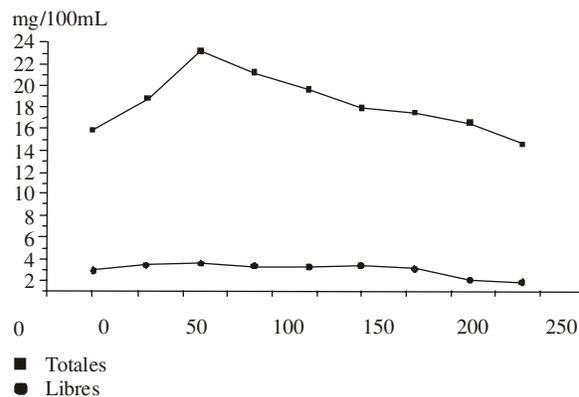


FIG. 3. Cinética de extracción de antracenderivados

Caracterización preliminar de los extractos obtenidos

En la tabla 2 aparece el resumen de las principales propiedades físico-químicas y la cuantificación de antracenderivados libres y totales en los 5 lotes de extractos obtenidos.

El tamizaje fitoquímico evidenció la presencia de aminoácidos, aminas, fenoles en general, flavonoides, azúcares reductores, quinonas (naftaquinonas y antraquinonas) y grupos lactónicos.

En la caracterización por CCD se pudo observar a la luz UV 365 nm varias manchas representativas de color naranja,

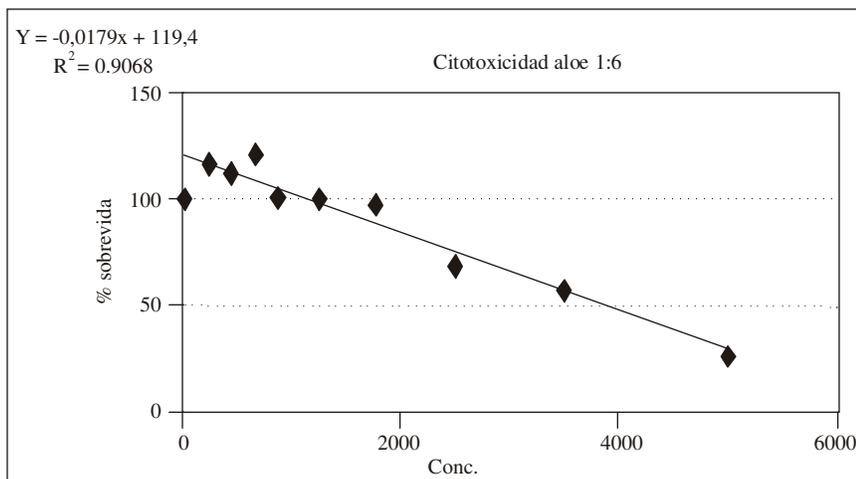


FIG. 4. Determinación de la CC_{50} del extracto de antracenderivados en un experimento tipo.

amarillo, carmelita, morado y azul tanto para el extracto como para el crudo siendo más intensas en este último, que se corresponde plenamente con la mancha de compuestos antraquinónicos^{13,14} siendo la amarilla-naranja de un $R_f = 0,48$ similar a la característica del estándar de aloína ($R_f = 0,4 - 0,5$) y la presencia de una mancha azul, inferior a la aloína, característica de la aloesina.²⁴ También se observa una mancha rosado-rojiza que corresponde a la aloemodina.¹³

Con vapores de amoníaco todas las manchas intensifican su coloración y con KOH metanólico hay un cambio de coloración a rojo de la mancha correspondiente a la aloína en las muestras y en el patrón, y la mancha azul fluoresce intensamente correspondiéndose con lo reportado en la literatura para la aloesina.¹³

Actividad antiviral

En la figura 4 se muestran los valores obtenidos de la toxicidad media (CC_{50}) en línea celular Hep 2.

Discusión

Estudios con el material vegetal

En estudios anteriores realizados²⁰ para ver la influencia de la preparación del material vegetal en el proceso de extracción se escogió el procesamiento de mejores resultados descritos para este estudio, el de secar y después moler y no al revés. Esto además de facilitar los procesos posteriores de extracción, permite obtener un tamaño de partículas pequeño y más homogéneo y no se corre el riesgo de afectar el contenido de los metabolitos de interés, ni de la contaminación por hongos, lo cual se puede observar en la tabla 1.

Los valores del estudio de la influencia de la preparación de la materia prima vegetal, los cuales están muy rela-

cionados con los resultados que se puedan lograr durante el proceso de extracción, la forma de molinado y secado, así como el orden de la secuencia de realización de estas operaciones, pueden garantizar resultados bien diferentes.

Según este procedimiento para MV-1, el proceso se dificultó de forma considerable al estar la materia prima húmeda. Sin embargo, al aumentar el área específica de transferencia de calor en el secado, la humedad del producto final es más homogénea, pero se corre el riesgo de afectar el contenido de los metabolitos de interés (antracenderivados).

El procedimiento para MV-2 permite obtener tamaño de partículas menores que en el MV - 1, favoreciendo el proceso de extracción. En este procedimiento el producto se puede obtener con un secado menos homogéneo debido a que se seca con un área de transferencia de masa más reducida, lo cual aumenta los peligros de contaminación por hongos aunque por lo que se puede observar en la tabla 1 estos resultados no se evidenciaron.

Nuestros resultados demostraron que con el método MV-2 los valores son superiores a los obtenidos con MV-1, por lo que se sigue ese modo de preparación de la materia vegetal para los demás estudios al obtenerse una mayor cantidad de antracenderivados totales.

Estudios de obtención del extracto

Del análisis de los resultados se observa (fig. 1) que con glicerina caliente y con la mezcla etanol/Agua (1:1) son superiores las concentraciones de antracenderivados totales a las obtenidas con los otros solventes, coincidiendo para el primer caso con lo reportado en la literatura.⁶ Por lo que se seleccionó la mezcla etanol/agua (1:1) como el más adecuado solvente para el proceso de extracción al presentar una mayor concentración de antracenderivados libres y totales.

Para el caso de la extracción con etanol y acetato de etilo en la cuantificación de los antracenderivados libres no se pudo realizar debido a la miscibilidad de estos con el solvente de extracción (éter dietílico) impidiendo la valoración de este parámetro en dichos solventes.

Como se puede observar, en la figura 2 los resultados obtenidos con la proporción 1:6 son superiores a los obtenidos con las otras proporciones.

La cinética de extracción (fig. 3) de los metabolitos de interés es importante para conocer la preestabilidad del producto, ya que se conoce que un calentamiento prolongado puede incidir en la degradación de las moléculas o formación de resinas y con ello la disminución del rendimiento del proceso.

Este estudio permitió obtener la información del proceso de extracción, donde a los 60 min el contenido de antracenderivados libres y totales en función del tiempo resultaron superiores para las condiciones a las que se realizaron los experimentos.

Caracterización preliminar de los extractos obtenidos

En la tabla 2, el análisis de las muestras (5 lotes) permitió conocer que en el caso de los extractos se observó una correspondencia entre los sólidos totales y el contenido de antracenderivados libres y totales de las muestras, representando el 1 % sobre la base de los sólidos totales.

Durante el experimento V ocurrieron irregularidades que hacen que los parámetros oscilen de la media del resto de los experimentos en algunas de las propiedades, esto puede ser debido a la época de recolección, edad de la planta, agotamiento del material vegetal, condiciones ambientales y del suelo, etc.

Como se puede observar el pH oscila entre 5 y 6 el cual se considera adecuado para este tipo de extracto, los sólidos totales están en un rango entre 2 y 3 % y el contenido alcohólico alrededor de un 40 % lo cual es lógico teniendo en cuenta

el tratamiento tecnológico realizado a estos extractos, los antracenderivados libres entre 3 y 4 mg % y los totales entre 20 y 30 mg %, correspondiendo estos valores a más del doble de los obtenidos para el extracto acuoso que oscilan entre 2,00 y 10,00 mg %.²⁰

En cuanto al tamizaje fitoquímico realizado se corrobora, la presencia de compuestos antraquinónicos en abundancia. Por otra parte, de la evaluación a través de la CCD fue detectada la presencia de compuestos típicos de la especie en estudio. Aloesina, aloemodina y aloína (siendo estos 2 últimos los mayoritarios), tal y como se describe en la literatura.^{1,10,12-15,17,22,24}

FARMACOLOGÍA

Actividad antiviral

Se demostró en el ensayo de citotoxicidad en línea celular Hep. 2 valores de toxicidad media de $3,8 \pm 0,3$ mg/mL (CC50) y una dosis efectiva (DE50) de $0,8 \pm 0,05$ mg/mL originando un índice selectivo de 4,75. Resultados estos, que si bien no son muy altos, se consideran como buenos^{6,7,25-27} para trabajos realizados también con extractos de *Aloe*.

Se concluye con la obtención y caracterización preliminar de un extracto de la corteza de las hojas de *Aloe vera* L., con un adecuado modo de preparación de la materia vegetal antes de comenzar la extracción, utilizando como solvente etanol/agua (1:1) en la proporción 1:6 material vegetal-solvente con un tiempo de extracción óptimo de 60 min. La concentración de antracenderivados libres y totales en los lotes evaluados es de $4,0 \pm 1,0$ mg % y $25,0 \pm 5,0$ mg % respectivamente, dicho extracto presentó una acción antiviral *in vitro* frente al virus *Herpes simplex* tipo 1 (HSV-1) en las condiciones de trabajo ensayadas.

Referencias bibliográficas

1. Fajardo D, Díaz M, Galup O, Rosado A. Revisión bibliográfica. Algunos aspectos sobre la composición química y posibles aplicaciones del *Aloe*. Rev CNIC Ciencias Químicas 1988;1-2-3:97-102.
2. Sydiskis RJ, Owen DG, Lohr JL, Roster KHA, Blomster RN. Inactivation of enveloped viruses by anthraquinones extracted from plants. Antimicrob Agents Chemother 1991;35(12):2463-6.
3. Sydiskis RJ, Owen DG. *Aloe* emodin and other anthraquinones and anthraquinones like compounds from plants virucidal herpes simplex viruses. Patent-US-4,670,265/-7pp-(1987), USA.
4. Rosenthal HR. Treatment of herpes. Patent-US-4,585,656/-4pp.(1986), USA.
5. Khurama SMP. Effect of plant extracts on the activity of three Papaya viruses. J Gen Appl Microbiol 1970;16:225-30.
6. Vanden Berghe DA, Vlietinck AJ, Hoof LV. Plant products as potential antiviral agents. Bull Ints Pasteur 1986;844:101-5.
7. Holdsworth DK. Chromones in *Aloe* species I. Aloesin a C-glucosy 1-7-hydroxy-chromone. Plant Med 1971;19:322-5.
8. Okamura N, Hine N, Tateyama Y, Nakazawa M. Three chromones of *Aloe vera* Leaves. Phytochemistry 1997;45(7):1511-3.
9. Okamura N, Hine N, Tateyama Y, Nakazawa M. Five chromones from *Aloe vera* Leaves. Phytochemistry 1998;48(1):1-5.
10. Esteves A. Estudio químico del *Aloe* existente en Cuba: *Aloe barbadensis*. Rev Cubana Farm 1972;6:43-51.
11. Okamura N, Hine N, Harada S, Fujioka T. Diastereomeric C-Glucosylanthrones of *Aloe vera* Leaves. Phytochemistry 1997;45(7):1519-22.
12. Okamura N, Asai N, Hine N, Yagi A. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in *Aloe* species. J Chromtogr A 1996;746:225-31.
13. Larionova M, Menéndez R, Valiente O. Estudio fitoquímico comparativo de los extractos de *Aloe arborescens* Mill y *Aloe barbadensis* Mill. Compendio de investigaciones sobre el *Aloe barbadensis* Miller (Sábila) cultivado en Cuba (1). Ministerio de las Fuerzas Armadas Revolucionarias, Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Ciudad de La Habana 1990:7-36.
14. Larionova M, González-Quevedo M, Coral A, Fuesté V. Estudio comparativo de las hojas y de los extractos de *Aloe arborescens* y *Aloe barbadensis*. Parte 1. Actividad cicatrizante y compuestos antraquinónicos. Rev Cubana Farm 1989;23(3):270-7.

15. Timor CE, Manzini ME, Menéndez R, Larionova M, Chávez MA, Más R. Phytochemical studies on some Cuban medicinal plants. Trabajo presentado en la celebración del 75 aniversario del Instituto de plantas medicinales, Budapest-Hungría 1990;Sep 4-6.
16. Yagi A, Egusa T, Arase M, Tanabe M, Tsuji H. Isolation and characterization of the glycoprotein fraction with a proliferation-promoting activity on human and hamster cells in vitro from *Aloe vera* gel. *Planta Med* 1997;63:18-21.
17. Información general de PHARMOS ALOE VERA®. Catálogo 1998:4.
18. Schinazi RF, Chu CK, Babu JR, Oswald BJ, Saalman V, Cannon DL, et al. Antraquinones as a new class of antiviral agents against human immunodeficiency virus. *Antiviral Res* 1990;13:265-72.
19. NRSP # 309. Medicamentos de origen vegetal. Droga cruda. Métodos de ensayo. MINSAP 1992.
20. Especificaciones de Calidad del Extracto acuoso de *Aloe*. CIDEM 1997.
21. Rowson JM. The chemical assays of *Aloe*. *Analyst* 1967;92:593-6.
22. Larionova M. Determinación cuantitativa de antracenderivados en las hojas de *Aloe barbadensis*. Informe final. Empresa Laboratorio Farmacéutico "Dr. Mario Muñoz" 1986.
23. Rondina RVD, Coussio JD. Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas (1). *Rev. Inv. Agropecuaria. INTA. Argentina. Serie 2: Biología y Producción vegetal* 1969;6:351-66.
24. *British Pharmacopeia* xx. v.1, 1980:20-1.
25. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63.
26. Andersen DO, Weber ND, Wood SG, Hughes BG, Murray BK, North JA. In vitro virucidal activity of selected anthraquinones and anthraquinones derivatives. *Antiviral Res* 1991;16(2):185-96.
27. Barnard DL, Huffman JH, Morris JLB, Wood SG, Hughes BG, Sidwell RW. Evaluation of antiviral activity of anthraquinones, anthrones and anthraquinone derivatives against human cytomegalovirus. *Antiviral Res* 1992;17(1):63-77.

Recibido: 15 de marzo de 2001. Aprobado:
 Lic. *Reinaldo Rivero Martínez*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Avenida 26 y Boyeros. Ciudad de La Habana