Petiveria alliacea L.: distintas condiciones experimentales en la elaboración de extractos con actividad antimicrobiana

Lic. Sandra Sariego Frómeta[1], MSc. Jorge Erick Marin Morán[2], MSc. Ania Ochoa Pacheco[2], MSc. Yosvel Viera Tamayo[3]

[1]Departamento de Biología Agrícola. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Granma, Km 17½ carretera a Manzanillo. Peralejo, Bayamo. Granma. Cuba. CP 85100.

[2]Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba

[3]Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Granma

E-mail: ssariegof@udg.co.cu

Recibido 1 de Noviembre 2013- Reenviado 9 de Noviembre 2013-Aceptado 11 de Noviembre 2013

Resumen

La presente investigación comprende la revisión de dieciocho artículos científicos desarrollados en seis países distintos, relacionados con la actividad antimicrobiana de extractos de *Petiveria alliacea* L. Se realizó una tabla resumen detallada en la que se plasmaron las condiciones experimentales empleadas en estudios previos. Del análisis realizado se sugiere que futuras investigaciones en la planta pudieran encaminarse a reevaluar la efectividad de los extractos elaborados con hojas, tallos y raíces empleando material vegetal fresco, temperaturas que no excedan los 37°C durante la elaboración de los extractos y etanol al 70 o al 80%. Las diferencias obtenidas y los resultados negativos en los estudios publicados pudieran atribuirse a diversos factores entre los que se encuentran algunos vinculados con el material vegetal empleado y otros con las condiciones experimentales diseñadas en cada investigación.

Palabras clave: *Petiveria alliacea*, extractos vegetales, actividad antimicrobiana.

Petiveria alliacea L.: various experimental conditions in the extracts elaboration with antimicrobial activity

Abstract

The present investigation comprises the revision of eighteen scientific articles carried out in six different countries. The articles are related with the antimicrobial activity of *Petiveria alliacea* L. extracts. A detailed table was created in a summary of the experimental conditions used in previous studies was presented. Departing from the developed analysis, it is suggested that future investigations could be focused on the reevaluation of the effectiveness of extracts elaborated through leaves, stems and roots using fresh vegetal material, temperatures below 37℃ during their elaboration and ethanol at 70 or 80%. The differences and negative results in the studies that were published could be attributed to different factors among which some related with the vegetal material used and others related with the experimental conditions designed in each investigation.

Key words*: Petiveria alliacea,* vegetal extracts, antimicrobial activity.

Introducción

Las enfermedades infecciosas constituyen una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. El uso indiscriminado de antibióticos sintéticos y comerciales ha empeorado el panorama, pues muchos de los microorganismos causantes de enfermedades comunes, que podían ser tratados fácilmente, han adquirido gran resistencia. Cuantiosas son las investigaciones enfocadas en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos a partir de fuentes naturales, dentro de estas, un gran número han sido dirigidas hacia la evaluación de actividades antimicrobianas en extractos y aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. Las plantas ofrecen grandes posibilidades en el descubrimiento de nuevos fármacos, ya que de ellas se han aislado alrededor de 12 000 metabolitos secundarios, de los cuales un por ciento significativo presentan actividad antimicrobiana[1]. *Petiveria alliacea* L., es una planta perenne de la familia Phytolaccaceae, usualmente conocida como anamú en los países de habla hispana[2] y originaria del sur de Estados Unidos, de Norteamérica y México. Esta especie tiene una distribución geográfica muy amplia, desde la Florida, en toda América Central, desde Colombia hasta la Argentina y en África[3]. En la figura 1 se muestra una fotografía de la planta y de su raíz.

Petiveria alliacea

Raíz de *Petiveria alliacea*

Lo anterior, llama la atención acerca de que en un área geográfica relativamente extensa se conozca la planta con distintos nombres comunes, pero con propiedades curativas que a pesar de su diversidad, revelan una cierta consistencia entre las diferentes regiones. Podría preguntarse: ¿Cómo fue posible difundir el conocimiento y las aplicaciones de las propiedades etnobotánicas de esta planta entre tantas y distintas etnias con diferentes lenguas y religiones?[4] La actividad antimicrobiana de esta especie es una de las propiedades etnobotánicas más difundidas por países y regiones, razón por la cual ha sido utilizada con fines medicinales y ha sido cultivada como "planta de la suerte" a la cual se le atribuyen propiedades mágicas en la preservación de la salud humana, alejando los males y las hechicerías[3]. De manera general, en algunos países entre los que se encuentran Argentina, Cuba, Brasil, Guatemala, Haití, México, Puerto Rico y Venezuela se le atribuyen a esta planta propiedades etnobotánicas para el tratamiento de infecciones cutáneas, urinarias, venéreas y del tracto respiratorio. Se le han otorgado además, propiedades depurativas, antifúngicas y antisépticas[5].

Lo anterior, ha sugerido la realización de estudios *in vitro* por investigadores de estos países para comprobar científicamente su posible efecto antimicrobiano. No obstante, las investigaciones desarrolladas han evidenciado discrepancias en los resultados publicados entre autores. Podría pensarse en la alternativa de reevaluar la actividad antimicrobiana de esta planta frente a los microorganismos seleccionados en estudios anteriores, modificando las condiciones experimentales durante la preparación de los extractos. En la presente investigación pretendemos analizar las condiciones experimentales empleadas en estudios previos relacionados con la evaluación de la actividad antimicrobiana de esta planta y solucionar una interrogante cuya respuesta basada en los resultados precedentes resulta muy contradictoria en la actualidad.

Materiales y Métodos

Se revisaron un total de 18 artículos científicos (procedentes de 6 países distintos) referentes a la actividad antimicrobiana de *Petiveria alliacea*, aunque no desestimamos la posibilidad de la existencia de otros artículos que aborden la temática analizada. Se elaboró una tabla resumen en la que se clasificó la información atendiendo a la parte de la planta empleada en cada estudio, especificándose en todos los casos si se realizó o no el secado del material vegetal. Se detalló el país de procedencia de cada investigación, la actividad biológica probada, los tipos de extractos evaluados, las pruebas microbiológicas realizadas, y en los casos en los que las investigaciones lo declararan las dosis empleadas y los parámetros asumidos para inferir resultados positivos considerando las formulaciones farmacéuticas activas frente a los microorganismos. Se especificaron las especies de microorganismos analizadas en cada artículo, detallando en cada caso si las cepas empleadas eran o no de referencia internacional. En la tabla resumen se plasmaron además, los resultados de las evaluaciones antimicrobianas y los autores y el año de cada investigación.

Resultados y Discusión

Consideraciones generales

La artículos revisados indican que han sido diversas las condiciones experimentales probadas en la evaluación de la actividad antimicrobiana de *Petiveria alliacea.* Estos estudios abordan la evaluación antimicrobiana de diversas formulaciones farmacéuticas entre las que se encuentran decocciones, extractos fluidos, extractos blandos y tinturas. De manera general, se han empleado una gran variedad de solventes en la preparación de los extractos, entre los que se encuentran el agua, etanol a diferentes por cientos (30, 50, 60, 70, 80, 95 y 100%), metanol, hexano, acetona, diclorometano, alcohol isopropílico, y mezclas de solventes como diclorometano-metanol en la proporción 2:1.

Los solventes de mayor preferencia en la elaboración de los extractos han sido el agua y el etanol. Resulta totalmente lógico que se centraran los estudios en extractos elaborados con etanol por ser un solvente barato, abundante y de baja toxicidad. Los resultados prácticos obtenidos por diferentes investigadores corroboran que el etanol es el solvente más promisorio para extraer la mayoría de los metabolitos secundarios[6]. En la realización de los extractos se han utilizado las hojas, los tallos y las raíces de esta planta, resultando las hojas el material vegetal de preferencia. Ochoa *et al.* (2013)[7] plantearon la necesidad de comparar la actividad antimicrobiana de extractos elaborados a partir de hojas secas y hojas frescas, considerando oportuno evaluar además el efecto de la concentración de los extractos y el tamaño de partícula del material vegetal. Los estudios de actividad antimicrobiana de esta planta se han desarrollado fundamentalmente en Cuba y Guatemala, encontrándose que el 50% de los artículos revisados fueron publicados en la década del noventa. La actividad antibacteriana del anamú ha sido probada al menos frente a 30 especies pertenecientes a 17 géneros distintos. El

86,7% de las especies de bacterias evaluadas de manera general en los artículos pueden teñirse con la tinción de Gram, de las cuales un 50% en cada caso, se clasifican como gram-positivas y gram-negativas. Se excluyen de esta clasificación, cuatro especies del género *Mycobacterium* pues una vez teñidas con colorantes básicos no se pueden decolorar en etanol independientemente del tratamiento con yodo, y que por tanto, se tiñen con las tinciones de Ziehl-Neelsen y auramina. En los artículos consultados, algunos autores utilizan indistintamente los nombres científicos *Salmonella typhosa* y *Salmonella typhi*. Es válido aclarar, que estos términos han sido atribuidos a la bacteria considerada el agente etiológico de la fiebre tifoidea[8] y por tanto, fueron analizados como una misma especie; aunque reportamos en la **tabla resumen** los nombres específicos utilizados originalmente por los autores de cada artículo. La actividad antifúngica de extractos vegetales del anamú ha sido probada al menos, frente a 16 especies de hongos pertenecientes a 9 géneros diferentes. Se ha evaluado la actividad antifúngica frente a tres especies del género *Aspergillus*, consideradas importantes agentes etiológicos de la aspergilosis. La posible efectividad de los metabolitos secundarios presentes en los extractos vegetales de esta planta se ha determinado frente cinco especies de hongos dermatófitos íntimamente relacionados (pertenecientes a los géneros *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*) y causantes de dermatofitosis (usualmente conocidas como tiñas). *Cryptococcus neoformans,* considerada la especie más importante de este género desde el punto de vista médico y conocida por causar una forma severa de meningitis y meningo-encefalitis también ha sido evaluada en la actividad antifúngica de esta planta. Otras especies de hongos como *Neurospora crassa*, dos especies del género *Cladosporium,* tres del género *Candida* y cepas de referencia de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* han sido incluidas en estos estudios *in vitro*.

Tabla resumen de estudios realizados por países de la actividad antimicrobiana de extractos de *Petiveria alliacea* L.

Parte de la planta	Origen	Actividad biológica probada	Tipo de extracto	Prueba microbiológica (Dosis/Resultado positivo)	Microorganismos evaluados	Resultado	Referencia
Hojas (secas)	Argentina	Antibacteriana (cepas de resistencia a la penicilina G)	Acuoso	Modificación del método de difusión en agar de Pérez *et al.* (1990) D: 50 µL	*Staphylococcus aureus*	-	Anesini y Pérez (1993)[18]
					Escherichia coli	-	
Hojas (secas)	Argentina	Antibacteriana	Acuoso	Modificación del método de difusión en agar de Pérez *et al.* (1990) D: 50 µL RP: No declarado	*Salmonella typhi*	-	Pérez y Anesini (1994a)[19]
Hojas (secas)	Argentina	Antibacteriana	Acuoso	Método de difusión en agar D: No declarada RP: No declarado	*Pseudomonas aeruginosa*	-	Pérez y Anesini (1994b)[20]
Hojas (secas)	Brasil	Antibacteriana	Acuoso	Método de dilución CLSI (2006) D: 0.5-1.5 x 10^4 UFC/mL RP: Se determinó la CMI	*Bacillus subtilis* (ATCC 6633)	-	Guedes *et al.* (2009)[21]
					Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)	-	
					Escherichia coli (ATCC 25922)	-	
					Streptococcus mutans (ATCC 27175)	-	
					Enterococcus faecalis (ATCC 29212)	-	
					Staphylococcus epidermitis (ATCC 27853)	-	
					Staphylococcus aureus (ATCC 25923)	-	

Leyenda: D: Dosis, **RP:** Resultado positivo, **CLSI:** Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, **UFC:** Unidad Formadora de Colonias, **CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria

(-): Extracto inactivo; **(+):** Extracto activo.

Selección del material vegetal

Del análisis de la **tabla resumen** es posible apreciar que las hojas son el órgano vegetativo de la planta más empleado en la elaboración de los extractos, independientemente de que los escasos estudios realizados con tallos y raíces evidencian resultados más alentadores. Se conoce que los precursores de los compuestos con actividad antimicrobiana de *Petiveria alliacea* son algunos aminoácidos que contienen azufre. En las raíces de esta planta se han aislado cinco aminoácidos en cantidades variables entre los que se encuentran la S-metil-cisteína, S-etil-cisteína y S-propil-cisteína. Estos tres aminoácidos han sido encontrados en cantidades muy bajas en las raíces de esta planta (< 3µg/g de peso fresco)[9]. Sin embargo, las concentraciones reportadas en este órgano de la S-(2-hidroxietil) cisteína (0,2 mg/g de peso fresco)[9] y de la S-bencil-cisteína (<10µg/g de peso fresco) [10] indican que a partir de estos dos aminoácidos, se obtienen otros dos compuestos conocidos trivialmente como 6-hidroxietina y petiverina que constituyen los principales precursores de los metabolitos secundarios a los que se le atribuye la actividad antimicrobiana. Kubec y Musah (2001)[10] aislaron dos diasteroisómeros del sulfóxido de S-bencil-cisteína (petiverina A y petiverina B) y plantearon que el contenido total de petiverinas en las hojas, tallos y raíces de esta planta es muy variable, siendo de 0,07, 0,29 y 2,97 mg/g de peso fresco, respectivamente. El elevado contenido de petiverinas en las raíces (42 veces superior que el reportado en las hojas y 10 veces superior al reportado en los tallos) de esta especie, sugiere la utilización de las mismas como el principal órgano de elección durante la elaboración de los extractos. No obstante, independientemente de que el anamú es una planta perenne y de amplia distribución, su explotación a gran escala mediante la utilización de las raíces podría afectar la supervivencia de la especie. En los estudios anteriores, el principal criterio de elección de las hojas como material de partida para la elaboración de los extractos podría atribuirse a que además de ser el órgano más biodisponible del reino vegetal, su utilización no implica la destrucción total de la planta lo que sugiere el uso sostenible de la especie. Es posible asumir, que el contenido de petiverinas varía entre plantas que crecen en localidades diferentes teniendo en cuenta que su formación depende de diversos factores entre los que se encuentran la composición del suelo, el suministro de azufre y nitrógeno, el clima y la fecha de colecta[10].

¿Es necesario secar el material vegetal?

Temperaturas a utilizar en la preparación de los extractos

El sulfóxido de cisteína liasa es una enzima considerada la primera allinasa heteromérica, detectada y purificada de las raíces de *Petiveria alliacea*[11]. Esta enzima es compartimentalizada en las vacuolas de las células, mientras su sustrato son los Cis sulfóxidos de cisteína S-sustituidos que se localizan en el citoplasma[12]. Al ocurrir la rotura de los tejidos, la enzima reacciona esencialmente con las petiverinas para producir ácidos sulfínicos y el ácido α-aminoacrílico, que son intermediarios efímeros cuya formación no se puede rastrear fácilmente. Los ácidos sulfínicos entre los que se encuentran el ácido fenilmetanosulfínico

(PMSA) rápida y espontáneamente se condensan con pérdida de agua para producir los correspondientes tiosulfinatos, de los cuales el más abundante en el anamú es el S-bencil-fenilmetanotiosulfinato, también conocido como petivericina. El ácido α-aminoacrílico subsiguientemente se descompone en piruvato, que es el producto estable formado en estas reacciones. De este modo, la cinética de las reacciones de las allinasas se determina monitoreando la formación de tiosulfinatos o piruvato. El PMSA formado puede ser interceptado posteriormente por la enzima factor lacrimógeno sintasa (LFS) y convertido en el factor lacrimógeno (PMTSO) conocido comúnmente como sulfino. Las concentraciones relativas de petivericina y PMTSO en los extractos varían en función de las proporciones en las que se encuentren las enzimas LFS y las allinasas. Estudios *in vitro* han demostrado que si la concentración de la enzima LFS es cinco veces mayor a la de las allinasas se obtienen como resultado de esta reacción el PMTSO, sus productos de descomposición, y benzaldehído. Si la concentración de las allinasas es al menos 1,2 veces mayor con relación a la del LFS se obtienen cantidades sustanciales de PMTSO y de petivericinas[13]. Kim *et al.* (2006)[14] plantearon que las discrepancias y la ausencia de actividad antimicrobiana de esta planta en los estudios precedentes podían ser el resultado de diferentes procedimientos empleados durante la preparación de las muestras. Concluyeron además, que la inactivación de enzimas por el secado del material vegetal y/o la aplicación de calor durante la preparación de los extractos podría interferir en la formación efectiva del sulfino, los tiosulfinatos, y por consiguiente de otros compuestos activos antimicrobianos como los trisulfuros. Se ha demostrado que la actividad del sulfóxido de cisteína liasa se incrementa con el aumento de la temperatura en un rango de 4 a 52°C. A 67°C la actividad de esta enzima disminuye precipitadamente y se desnaturaliza a 84°C. Empleando como sustrato a las petiverinas la actividad de esta enzima mostró un 80% de actividad a 37 °C y un 100% a 52 °C[11]. La teoría más reciente que intenta explicar las contradicciones existentes en los estudios de actividad antimicrobiana de esta planta se basa en el hecho de que un exceso de la enzima LFS con relación a la allinasa puede disminuir de forma efectiva la formación de tiosulfinatos. En tales casos es la formación del sulfino lacrimógeno (PMTSO) en lugar de los tiosulfinatos quien sirve como evidencia de la presencia de las allinasas debido a que las allinasas proveen el ácido sulfínico (PMSA), que es el sustrato en el que actúan las enzimas LFS para producir sulfino[13]. Se conoce que el sulfino y los tiosulfinatos son compuestos termolábiles que sufren reacciones subsecuentes particularmente cuando son sometidos a calentamiento dando lugar fundamentalmente a diversos sulfuros, estilbenos, benzaldehído y otros productos secundarios de descomposición, en su mayoría, carentes de actividad antimicrobiana[14]. Las temperaturas empleadas en el secado del material vegetal y durante la elaboración de los extractos podrían ser las variables más significativas a tener en cuenta en los estudios de actividad antimicrobiana de esta planta. Se sugiere la utilización de material vegetal fresco y temperaturas que no excedan los 37°C durante la elaboración de los extractos, aún cuando se conoce que las allinasas logran un 100% de actividad catalítica a 52°C. Se trata de lograr el equilibrio entre la actividad catalítica de la allinasa y la preservación del sulfino y los tiosulfinatos, cuyas concentraciones elevadas en los

extractos garantizan la efectividad de la actividad antimicrobiana de esta planta. Esta actividad atribuida esencialmente a los tiosulfinatos se debe a que estos compuestos reaccionan con grupos tioles de proteínas celulares de los microorganismos dando lugar esencialmente a disulfuros mixtos que inhiben complejos enzimáticos, la transformación de proteínas, la síntesis de lípidos y de ARN[15]. En el reino *Plantae*, existen bien definidas dos estrategias defensivas. El anamú pertenece a los niveles evolutivos bajos (Subclase *Cariophylidae*) y basa su sistema defensivo contra patógenos en la síntesis y acumulación de sustancias antimicrobianas, las cuales estarán listas para ser empleadas cuando ocurra el ataque a la planta. Este sistema defensivo se conoce como "defensa cuantitativa o defensa estática", pues estos productos se concentran en cada uno de los órganos a defender. Para lograr esta bioacumulación, las especies pertenecientes a estos niveles taxonómicos, necesitan dedicar cantidades importantes de energía y precursores que le permitan mantener éstos altos niveles de antimicrobianos en la planta.

Solventes de elección y actividad antimicrobiana de los extractos

De la revisión realizada es posible apreciar que los extractos de las hojas han mostrado actividad frente al 36,7% de las bacterias evaluadas en estudios antimicrobianos; presentando una mayor efectividad ante las gram-positivas (63,6%). Las bacterias más susceptibles a los extractos de las hojas han sido: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis.* Una observación interesante es que los extractos de los tallos han mostrado actividad frente al 72.7% de las bacterias evaluadas en estudios antimicrobianos. Los extractos empleados se han realizado con tres solventes diferentes entre los que se encuentran el agua, la acetona y el etanol (al 95% o diluido en agua en la proporción 1:1). De estos solventes, el etanol al 95% resultó activo según Misas *et al*. (1979)[16] frente al 70% de las bacterias evaluadas. Lo anterior, indica que se logra una mayor extracción de metabolitos antimicrobianos en los tallos con respecto a las hojas, en las que solo se ha obtenido actividad en una de once bacterias, con este solvente al por ciento analizado. Las bacterias más susceptibles a los extractos de los tallos han sido: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Shigella flexneri* y *Serratia marcescens.* Se encontró y revisó un solo artículo de actividad antibacteriana de los extractos de las raíces que fue activo frente *Mycobacterium tuberculosis* (la única bacteria analizada) y elaborado con agua y etanol en la proporción 1:1.

Kim *et al.* (2006)[14] demostraron la actividad antibacteriana de ocho compuestos sulfurados puros aislados de extractos de las raíces de anamú, los cuales fueron activos frente a nueve especies de bacterias y resultaron inactivos a *Pseudomonas aeruginosa.* El índice de polaridad de los solventes es un factor importante a tener en cuenta durante la elaboración de los extractos. Los extractos en acetona de hojas y tallos de esta planta han mostrado actividad frente a un 40% de las bacterias evaluadas en estudios previos. Resulta llamativo que extractos de las hojas elaborados con metanol, solvente con igual índice de polaridad que la

acetona (5.1) resultaron inactivos frente a las 17 especies de bacterias evaluadas por Meléndez y Capriles (2006)[17]. Los resultados negativos obtenidos por estos autores pudieran atribuirse al secado del material vegetal realizado en estufa durante dos días consecutivos a 65°C. De la revisión realizada es posible concluir que *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* han sido las especies de bacterias más susceptibles a los extractos de esta planta. La actividad antifúngica de extractos de las hojas, tallos y raíces de *Petiveria alliacea* se ha evaluado frente a trece, dos y cuatro especies, respectivamente. Los extractos de las hojas han mostrado actividad frente a cinco especies de hongos, de ellos *Epidermophyton floccosum* resultó susceptible al extracto acuoso y *Cryptococcus neoformans* fue sensible al extracto en diclorometano. Se han utilizado una gran variedad de solventes en la determinación de la actividad antifúngica de extractos de las hojas de anamú frente a *Candida albicans*, solo el etanol al 70% ha mostrado efectividad frente a esta y otras dos especies del mismo género. Extractos de tallos y raíces en una mezcla de etanol y agua en la proporción 1:1 resultaron activos frente a este importante patógeno humano. De manera general, los extractos elaborados con etanol al 70 y al 80% han logrado una elevada efectividad frente a las especies de bacterias y de hongos evaluadas en estudios de actividad antimicrobiana de esta planta, lo que sugiere que con la utilización de este solvente a estas concentraciones se incrementa su poder difusivo en las células facilitándose una mayor extracción de metabolitos bioactivos. El etanol a estas concentraciones presenta un índice de polaridad intermedio, lo que corrobora que la utilización de solventes relativamente polares no afecta la extracción de los tiosulfinatos, impidiendo la formación de sus respectivos productos de descomposición[14]. Se ha demostrado además, que batir el material vegetal fresco con la finalidad de disminuir su tamaño de partícula favorece el incremento en los extractos de células lisadas por destrucción mecánica de paredes y membranas celulares. Lo anterior, justifica una mayor extracción de metabolitos durante la maceración del material vegetal, los cuales se mezclarán directamente con el solvente una vez destruidas las células implicando una reducción del proceso difusivo de extracción como consecuencia del incremento de procesos cinéticos.

Métodos empleados en la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Petiveria alliacea*

De manera general, los estudios de actividad antimicrobiana de *Petiveria alliacea* se han realizado con los métodos de difusión en agar (72,2%). Esta técnica es la más empleada en los estudios de susceptibilidad de los microorganismos, ya que es posible evaluar una gran cantidad de antibióticos en un corto período de tiempo. No obstante, estos métodos tienen varias limitaciones como son: densidad del inóculo, temperatura de incubación, tiempo de la incubación, tamaño de la placa, espesor y composición del medio. Los artículos publicados indican que las concentraciones de los extractos empleadas en estos estudios han sido muy variables. En este sentido, es válido aclarar que en la actualidad no existe una organización o institución que legisle o estandarice las concentraciones de extractos vegetales a emplear, por

tanto, la selección de las concentraciones a evaluar es arbitraria aunque deben tenerse en cuenta los niveles de toxicidad de los extractos frente a los modelos biológicos a los que esté dirigida su aplicación. En términos de investigaciones científicas el método de dilución es más sensible y revela datos cuantitativos, pero resulta de engorrosa labor y se hace difícil evaluar una gran cantidad de antibióticos al mismo tiempo.

Conclusiones

La actividad antimicrobiana de extractos de *Petiveria alliacea* se debe probablemente, al sinergismo entre varios compuestos químicos presentes en los mismos, de los cuales, los derivados sulfurados del metabolismo secundario de esta planta juegan un rol esencial. Las diferencias obtenidas y los resultados negativos reflejados en los estudios publicados pudieran atribuirse a diversos factores entre los que se encuentran algunos vinculados con el material vegetal empleado y otros con las condiciones experimentales diseñadas en cada investigación. Las concentraciones endógenas de petiverinas y las proporciones enzimáticas de allinasa y de LFS en el material vegetal son factores aleatorios que influyen decisivamente en los resultados. Sin embargo, el órgano vegetativo a utilizar, la realización o no del secado del material vegetal, la temperatura empleada en la elaboración y concentración de los extractos, así como la selección de los solventes adecuados pudieran ser diseñados previamente para alcanzar resultados positivos. Se sugiere que la elección de las raíces como material vegetal en la elaboración de los extractos se valore en dependencia de la escala de cada investigación, siempre y cuando implique el uso sostenible de la especie. Los estudios futuros de actividad antimicrobiana de esta planta pudieran encaminarse a reevaluar la efectividad de los extractos elaborados con los órganos vegetativos comúnmente empleados teniendo en cuenta otras condiciones experimentales para las que se sugiere emplear material vegetal fresco, la utilización de temperaturas que no excedan los 37°C durante la elaboración de los extractos y de etanol al 70 o al 80%.

Referencias

1 - Shaheen SZ, Vasu KB, Charya MS, 2009. Antimicrobial activity of the fruit extracts of *Coccinia indica.* African Journal of Biotechnology 8 (24): 7073-7076.

2.- Duarte MR, Lopes JF, 2005. Leaf and stem morphoanatomy of *Petiveria alliacea.* Fitoterapia 76: 599– 607.

3.- Schroeder MA, Burgos AM, 2011. Concentraciones foliares y dinámica estacional de nutrientes en *Petiveria alliacea* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales 16(4):374-389.

4.- Ferrer JI, 2007. Principales referencias etnomédicas sobre el anamú (*Petiveria alliacea Linn*) y principios activos encontrados en la planta. Un acercamiento al tema. Revista CENIC Ciencias Biológicas 38(1): 27-30.

5.-Vilchez M, 2007. Estudio preliminar del Anamú (*Petiveria alliacea*) en la reducción del puerperio bovino en la finca El Rosario, municipio de la Trinidad, departamento de Estelí. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Agraria. Managua-Nicaragua.

6.- Cabrera D, Sánchez Y, Espinosa A, Almeida M, 2011. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de extractos de *Bryophyllum pinnata.* QuímicaViva.

7.- Ochoa A, Marín J, González Z, Hidalgo A, Mujawimana R, Tamayo K, Sariego S, 2013. *In vitro* antimicrobial activity of total extracts of the leaves of *Petiveria alliacea* L. (Anamu). Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 49 (2): 241-250.

8. - Breed RS, 1955. *Salmonella typhosa* versus *Salmonella typhi*. International Bulletin of bacteriological 5(4): 165-168.

9. Kubec R, Kim S, Musah R, 2002. S-Substituted cysteine derivatives and thiosulfinate formation in *Petiveria alliacea*-part II. Phytochemistry 61: 675-680.

10. Kubec R, Musah RA, 2001. Cysteine sulfoxide derivatives in *Petiveria alliacea*. Phytochemistry 58: 981-985.

11. Musah RA, He Q, Kubec R, Jadhav A, 2009. Studies of a Novel Cysteine Sulfoxide Lyase from *Petiveria alliacea*: The First Heteromeric Alliinase. Plant Physiology 151: 1304-1316.

12. Lancaster JE, Collin HA, 1981. Presence of alliinase in isolated vacuoles and alkyl cysteine sulphoxides in the cytoplasm of bulbs in onion (*Allium cepa*). Plant Sci Lett 22:169–176.

13. - Musah RA, He Q, Kubec R, 2009. Discovery and Characterization of a Novel Lachrymatory Factor Synthase in *Petiveria alliacea* and Its Influence on Alliinase-Mediated Formation of Biologically Active Organosulfur Compounds. Physiology 151: 1294–1303.

14. Kim S, Kubec R, Musah RA, 2006. Antibacterial and antifungal activity of sulfur-containing compounds from *Petiveria alliacea* L. Journal of Ethnopharmacology 104: 188-192.

15. Ankri S, Mirelman D, 1999. Review Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and Infection 2: 125–129.

16.- Misas C, Hernández N, Abraham A, 1979. The biological assessment of Cuban plants.III. Revista Cubana de Medicina Tropical 31(1): 21-27.

17.- Meléndez PA, Capriles VA, 2006. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. Phytomedicine 13: 272–276.

18.- Anesini C, Pérez C, 1993. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology 39: 119-128.

19. - Pérez C, Anesini C, 1994. *In vitro* antibacterial activity of Argentine folk medicinal plants against *Salmonella typhi.* Journal of Ethnopharmacology 44: 41-46.

20.- Pérez C, Anesini C, 1994. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by Argentinean medicinal plants. Fitoterapia 65 (2): 169-172.

21.- Guedes R, Nogueira N, Almeida A, Souza C, Oliveira W, 2009. Atividade antimicrobiana de extratos brutos de *Petiveria alliacea* L. Latin American Journal of Pharmacy 28 (4): 520-524.

22.- De la Torre R, Martínez M, Fernández M, Morón F, 1994. Caracterización farmacológica y toxicológica de *Petiveria alliacea* L. (Anamú). I Evaluación de la actividad antimicrobiana. Revista Cubana de Farmacia 28(1):55-59.

23.- Martínez P, Baracaldo N, Santos M, Guzmán N, 2003. Estudio Farmacognóstico, Fitoquímico y Microbiológico de la *Petiveria alliacea* L. Gaceta Médica Espirituana.

24.- Cáceres A, Girón L, Alvarado S, Torres M, 1987. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. Journal of Ethnopharmacology 20: 223-237.

25.- Cáceres A, López B, González S, Berger I, Tada I, Maki J, 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. Journal of Ethnopharmacology 62: 195-202.

26.- Cáceres A, Cano O, Samayo B, Aguilar L, 1990. Plants used in Guatemala for treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against Enterobacteria. Journal of Ethnopharmacology 30: 55- 73.

27.- Frame A, Riosolivares E, De Jesús L, Ortiz D, Pagan J, Méndez S, 1998. Plants from Puerto Rico with anti-*Mycobacterium tuberculosis* properties. PR Health SCI J, 17(3): 243-253.

28. - Szczepanski V, Zgorzelak C, Hoyer P, Arzneim G, 1975. Isolation, structure elucidation and synthesis of an antimicrobial substance from *Petiveria alliacea*. Res Lab Schering ag Berlin D-100 Germany.

29.- López A, Hernández N, Misas C, 1981. Potential antineoplastic activity of Cuban plants. IV. Revista Cubana de Farmacia 15(1): 71-77.

30.- Cáceres A, López B, Girón M, Logemann H, 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections.1. Screening for antimytotic activity of 44 plant extracts. Journal of Ethnopharmacology 31: 263- 276.

31.- Cáceres A, Jauregui E, Herrera D, Logemann H, 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections.1: Screening of 38 plant extracts for anticandidal activity. Journal of Ethnopharmacology 33: 277-283.

32.- Benevides P, Young M, Giesbrecht A, Roque N, Bolzani V, 2001. Antifungal polysulphides from *Petiveria alliacea* L. Phytochemistry 57: 743-747.

QuímicaViva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Número 3, año 12, Diciembre 2013

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar