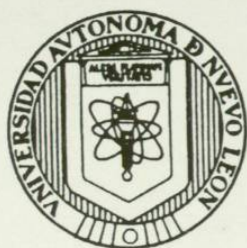


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA DE *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn

T E S I S

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES**

PRESENTA

BIOL. LUISA DEL CARMEN SANTIAGO PEREZ

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, NUEVO LEON, OCTUBRE DE 1996.





1080072452

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA DE *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn**

T E S I S

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES**

PRESENTA

BIOL. LUISA DEL CARMEN SANTIAGO PEREZ

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, NUEVO LEON, OCTUBRE DE 1996.

TM
SB295
• H3
S2



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE *Rhoeo
spathacea* (Sw.) Stearn.**

tesis

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES**

PRESENTA

BIOL. LUISA DEL CARMEN SANTIAGO PEREZ

COMITE DE TESIS

PRESIDENTE:



DRA. MARÍA JULIA VERDE STAR

SECRETARIO:



M. en C. AZUCENA ORANDAY CARDENAS

VOCAL:



M. en C. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, OCTUBRE DE 1996

DEDICATORIAS

A Dios por que sin su ayuda todos
mis esfuerzos hubiesen sido vanos.
Gracias por conocerte, darme la vida,
salud y amor

A mis Padres

Sra. Ramona Pérez de Santiago
Dr. Luis Santiago Jiménez, ya que
Gracias a su ayuda, amor y comprensión
a lo largo de mi vida he podido lograr la meta.

A mi Esposo:

M. en C. Alberto Reséndez Cahero
Por ser el apoyo, amigo y compañero
en las buenas y malas. Tus consejos
fueron importantes en la culminación
de este trabajo

A mis Hermanos:

L.C.P. María de los Angeles
L.C.P. Luis Humberto
Luis Ramón Santiago Pérez
Por las alegrías, tristezas que
hemos pasado juntos y por el
amor y apoyo que nos hemos
dado. Siempre conservemonos
así.

A la Dra. María Julia Verde Star

Por ser no únicamente la Directora de tesis,
también la consejera, amiga y apoyo incondicional.
Dios la conserve muchos años.

AGRADECIMIENTOS

La más sincera gratitud a la Dra. MARIA JULIA VERDE STAR, M. en C. AZUCENA ORANDAY CARDENAS y M. en C. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ, por el tiempo, consejos y sugerencias prestadas al mejoramiento de la tesis.

Al Dr. JOSE DE LOS SANTOS GARCÍA ALVARADO por las facilidades dadas en el Laboratorio a su cargo. Así como a todos y cada uno de sus integrantes, muy especialmente al Q.B.P. CESAR ALFREDO SANCHEZ GARCÍA por la ayuda que me brindó en la parte microbiológica del presente trabajo.

A los Integrantes del Laboratorio de Fitoquímica por la colaboración que se sirvieron dar a la parte química de la tesis.

A todos los Maestros que formaron parte de alguna forma en la preparación académica y profesional a través del Postgrado. Gracias por compartir sus conocimientos.

A la UNIVERSIDAD JUAREZ AUTONOMA DE TABASCO por la ayuda brindada a mi formación profesional.

Al Abogado ANDRES DOMINGUEZ LOPEZ y la Lic. en Enfermería JUANITA HERNANDEZ ZAMORA por su amistad.

A todos mis familiares, amigos y compañeros que me dieron su apoyo desinteresado.

INDICE

contenido	pag.
I.-RESUMEN.....	6
II.-INTRODUCCION	7
III.-ANTECEDENTES.....	9
IV.-HIPOTESIS.....	15
V.-OBJETIVOS.....	16
VI -ORIGINALIDAD	17
VII.-METODOLOGIA.....	18
VIII -RESULTADOS Y DISCUSION.....	21
IX -CONCLUSION.....	25
X.-SUGERENCIAS	26
XI BIBLIOGRAFIA	27
XII -APENDICE	30

I.- RESUMEN

En el presente trabajo se da a conocer el efecto que tienen extractos de diferente polaridad de *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn, en bacterias gram-negativas y gram-positivas. Estos fueron obtenidos de la hoja y raíz/tallo de esta hierba utilizada en la medicina tradicional contra enfermedades del aparato digestivo y respiratorio principalmente. Los métodos empleados fueron la maceración y extracción exhaustiva en aparato tipo Soxhlet, comparándolos con los preparados tradicionales de té y decocción. Fue inhibido el crecimiento de ocho bacterias, de diez utilizadas. De las diferentes concentraciones de los extractos que se manejaron se observó que la de 50 mg/ml causó un halo de inhibición mayor en cinco microorganismos. Se llevó a cabo el análisis espectroscópico al infrarrojo con lo que se obtuvieron las siguientes sustancias. una cetona insaturada con por lo menos un grupo metilo, cetona insaturada con un grupo isopropilo, un ceto alcohol saturado, cetona saturada alifática con gem dimetilo, un ceto alcohol alifático saturado con un grupo dimetilo y Cloruro de Potasio.

II.- INTRODUCCION

En el conocimiento tradicional de plantas medicinales se pueden reportar muchas especies con características importantes para aliviar muy diversos problemas de salud, principalmente en las áreas rurales, donde la utilización de estos recursos es muy elevada, el cual incluso llega a sustituir casi de manera completa en las partes más alejadas de las ciudades, a la medicina científica.

Las plantas medicinales son eficaces, menciona Pahlow (1979) y no hay duda de ello ya que la gran cantidad de tratados de plantas medicinales, farmacognosia y homeopatía que se han escrito en todo el mundo lo confirma. Pero su eficacia dependerá en gran medida del uso correcto que se haga de ella.

Los vegetales, verdaderos laboratorios vivos donde una gama de compuestos se sintetiza. La flora mexicana, es de las más ricas del mundo por los tipos de clima que presenta y la precipitación que varía notablemente (Romo de Vivar, 1985), son de gran importancia y no se han estudiado ampliamente, principalmente aquellas utilizadas por sus propiedades curativas, como tes, fomentos u otro tipo de preparación los cuales no implican ningún gasto. Por otra parte, muchas de ellas son fácilmente obtenidas y no necesitan cuidados como podas, abonos, entre otros. Tal es el caso de *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn; especie monocotiledónea que pertenece a la familia Commelinaceae, y que por su parecido con algunas Liliáceas se ha empleado como adorno en algunos jardines.

Rhoeo spathacea es una hierba erecta, de 40 cm de altura y algo camosa; el número de sus hojas varía, son densamente imbricadas, alargadas de 20 a 35 cm de longitud y de 3 a 5 cm de ancho, el envés de las hojas es de color morado y el haz verde, flores olorosas, numerosas y blancas que nacen en las axilas de las mismas hojas envueltas por dos brácteas moradas, las cuales semejan una quilla de canoa o valvas de una concha marina. Se piensa que es nativa de América y su lugar de origen Yucatán, ya que se tienen referencias mayas muy antiguas. Se distribuye en México, Centroamérica y las Antillas (Guadarama, 1987).

Esta especie es conocida en Tabasco como "maguey morado" o "magueyito", en Veracruz como "yastasana" y "chactasan", en Yucatán es llamado "sanchocho colorado", sus nombres mayas son: chaks am, chaktsan, ya axtsan, ya axts anah; en Honduras como "señorita embarcada", en Puerto Rico como "sanguinaria" o "sangría", "oyster plant" en Estados Unidos; "cordobán" en Cuba y "barco", "canoa" o "flotilla de Gaitán" en Colombia (Pérez A., 1956).

Esta planta tiene otros nombres científicos con los que se puede identificar, entre ellos el de *Tradescantia spathacea* dado por Swartz y el cual nunca fue usado, posteriormente en 1788 ó 1789 L. Heritier publicó un artículo sobre ella bajo el nombre Heritier pero cambiando *Tradescantia* por *Rhoeo*, y por último Stearn propone el nombre de *Rhoeo spathacea* (Stearn, 1957) con el que se conoce actualmente.

El maguey morado es conocido principalmente por sus propiedades curativas como por ejemplo: heridas infectadas, para contrarrestar los efectos de mordedura de serpiente, gangrena, acelerar cicatrización (Mendieta y del Amo, 1981; Guadarrama op. cit); contra enfermedades respiratorias como asma, tos, bronquitis; entre otras, y por estas cualidades y su fácil mantenimiento es posible encontrarla en la mayoría de los hogares o en mercados locales (Santiago P. 1992). En otros lugares del país se calientan sus hojas y se machacan para obtener un exudado de color brillante que se utiliza como cosmético

En Barranquilla, Colombia, donde es muy popular se usa como medicina contra la tos, el nombre que le dan de "barquito", "barquillo" o "canoa" se debe al color de las hojas y a las cuatro brácteas involucrales que cubren las inflorescencias. La epidermis roja de las hojas es material clásico para medir la tensión osmótica del protoplasma. Pío Correa menciona que fue introducida a Sao Paulo, Brasil para fines científicos y es cultivada por sus propiedades medicinales (Pérez A op cit)

III.- ANTECEDENTES

Generalidades sobre especies de la familia Conmmelinaceae

La familia Conmmelinaceae se ha caracterizado por poseer similares propiedades medicinales, tal es el caso de la hierba del pollo, *Commelina pallida*, Willd (*C. rubens* o *C. decumns*), en la cual se realiza un estudio químico preeliminar, encontrándose ácido acético, acetato de amonio, cloruro de potasio, principio albuminoide, albúmina vegetal, clorofila y celulosa. Posteriormente el Instituto Médico Nacional, encontró goma, resina neutra, resina ácida, glucosa, clorofila, ácido acético, albúmina y un tanino particular. Esta especie ha sido estudiada farmacológicamente en la institución antes mencionada, y se reporta con propiedades que provocan la contracción de la matriz produciendo el aborto, se ha usado con éxito en las hemorragias uterinas aplicado en inyección el extracto y administrandolo en píldoras (Roque, J M 1941)

Martínez (1959) señaló a la *Commelina coelestis* Willd, con usos antidiséntericos, antiespasmódico, antifímico, contra hemorragias fuera de la menstruación por anemia o desarreglo funcional ovárico, como hemostática, contra el dolor de ojo y oxitóxica. Menciona que contiene ácido acético en el jugo y resina; cita al Dr. Toussaint (1884), el cual utiliza a la *C. coelestis* en casos de hemorragias de las vías respiratorias, hemorragias nasales, flujos hemorroides y otros semejantes. El atlas de las plantas de la medicina tradicional de México (1995), menciona un trabajo farmacológico de ésta especie para detener el sangrado en animales a los que se les amputó algún miembro obteniendo resultados sorprendentes pues rápidamente detuvo el sangrado colocando las ramas estrujadas.

Cáceres A. (1987) y Hardman J. T. (1983) mencionaron a *C. diffusa* a los cuales se les ha detectado actividad diurética en rata, y antibiótica de la tintura de las hojas sobre bacterias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y el hongo *Candida albicans*. El extracto que se obtuvo de la semilla y el cual se disolvió en una solución salina presentó un efecto hemaglutinante en glóbulos rojos humanos.

En el atlas de las plantas de la medicina tradicional de México (1995) se comenta que *C. erecta* L (*C. elengana* Kenth.) se utilizan en Sonora, las hojas en heridas y hemorragias, así como contra calentura y como refrescante intestinal. Los estudios químicos realizados por Hardman J. T (1984) indican la presencia de lectinas en las semillas que se consideran eficaz contra infecciones de los ojos.

Idaka E. et al (1987) publicó que *Tradescantia pendula* Boss. (*Zebrina pendula* Schnizlen.) contiene un flavonoide llamado zebrinin y el compuesto monodecafeilado, y el extracto acuoso así como el etanólico de los tallos con hojas presentaron actividad espasmogénica probados con tejidos de ileon de cuyo Se observó que el último extracto ejerció un efecto vasodilatador en cuartos traseros aislados de ratas según Feng P C. (1962). Yokei (1981) (Cit. por Idaka, op. cit.) menciona que a una dosis de 555mg/kg probados en ratas hay ausencia de toxicidad.

Estudios sobre *Rhoeo spathacea*

Los trabajos reportados sobre ésta planta hasta la fecha se enfocan más al aspecto etnobotánico y genético. Los estudios químicos y antimicrobianos son muy escasos.

Se han realizado estudios en *R. spathacea* con un enfoque agronómico como el trabajo de Roque y Díaz en 1981 donde se menciona como reservorio del virus del mosaico de tabaco, el cual causa deformaciones a las hojas principalmente en las jóvenes y en sus hijos.

Fuentes y Granda en 1984, analizaron las fases de desarrollo en algunas especies y mencionan a *Rhoeo spathacea*, la cual se mantuvo en floración y fructificación todo el año, produciéndose en ocasiones la germinación de las semillas en el interior de las brácteas que rodean las inflorescencias.

Sánchez, Durand y Llanes en 1985, evaluaron algunas plantas nativas y exóticas de Cuba e incluyeron a la especie en cuestión, argumentando que los valores de humedad para ella son satisfactorios ya que oscilan en un rango menor de 11%, importantes en la preservación de las plantas medicinales al ataque de hongos. Por otra parte las sustancias extractivas están en los límites permisibles de 30 y 40%, y los valores de las cenizas totales son altos con respecto a otras especies estudiadas.

D. Kenfield et al en 1989, utilizó a *R. spathacea* para observar el efecto de una hormona llamada gigantrona, observándose una reacción inhibitoria del crecimiento de las hojas.

Del Amo R. en 1979, reportó que la medicina tradicional del estado de Veracruz la cataloga contra la gangrena, cáncer, para hinchazones y pustulas.

En un catálogo que elaboraron Mendieta y Del Amo en 1981, de plantas medicinales del estado de Yucatán, mencionaron a *Rhoeo spathacea* como *Rhoeo discolor*, atribuyéndole según información etnobotánica propiedades como: antitusivo, contra el cáncer, como cosmético, para la gangrena, hinchazones, pústulas y mordedura de serpiente, donde se utiliza la hoja o toda la planta y su vía de administración va desde oral local y baños.

En Puebla se utiliza para tratar el cáncer, también se ocupa contra la disentería. En Chiapas se usa para llagas y heridas. La cocción de las hojas con la cual se lava tres veces al día o hasta que sana la zona afectada, según el atlas de las plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional de México op. cit.

La medicina empírica de Haití, según Weniger et al en 1982, la utiliza como abortiva, emenagoga y causante de esterilidad. Este mismo autor reportó a Sakarrn y Aduiyabhan, los cuales llevan a cabo un estudio encontrándola como antiviral y cicatrizante.

En el estado de Tabasco se reportan usos muy similares del maguey morado a los antes citados, y van desde desinflamatorio como lo reportó Gonzalez y Cunel en 1983 y en el cual se remarca la importancia que las personas le dan al ser cultivado en huertos familiares. En éste mismo año Escolastico P. al trabajar en el ejido Correidora Ortiz del municipio de Comalcalco Tabasco rema ca la importancia de los huertos familiares en esa localidad y como sus propietarios obtienen remuneración económica al vender plantas de diferentes usos entre ellas el magueyito.

González en 1979 y 1984 así como Santiago P. en 1992 reportaron que los campesinos de las comunidades rurales que ellas estudian, la utilizan contra enfermedades de las vías respiratorias.

Garcés, Eslava y Magaña en 1988 elaboraron un manual que contiene información sobre las principales plantas de traspatio utilizadas por los campesinos de Tabasco para curar las enfermedades más frecuentes mencionando al maguey morado como *Tradescantia spathacea* Sw. con propiedades desinflamatorias después del parto, dolor de ovario, acelerar el parto, para el asma, tos sésido, heridas, nacidos (granos en la piel muy dolorosos), e inflamaciones.

Rhoeo spathacea ha sido muy utilizada en trabajos con enfoque genético y citológico, uno de los cuales es el de Nasar y Rai en 1985, quienes estudiaron el efecto que tiene la temperatura en la meiosis de esta especie (nombrada como *Rhoeo discolor*) específicamente en la fase de leptoteno y telofase II, y que estas varían de 30 a 43 horas en todo el año.

García V. en 1991 llevo a cabo un proyecto citogenético de *R. spathacea* en donde un mutante causa una parcial disociación de los cromosomas y consecuentemente una alta frecuencia de cromosomas separados durante la metafase I. Esta mutación es originada a partir de plantas silvestres normales colectadas, y que no hay diferencia entre las plantas parentales y los mutantes que se originaron de ella.

Verma, Vyas y Rana en 1992 estudiaron el efecto que tiene la colchicina en los cromosomas apareados durante la meiosis. Observan que la fase del paquiteno no es afectada, pero sólo se forma un anillo de 12 cromosomas en la metafase I de la meiosis.

Ladunes T. *et al* (1981) con el objeto de recabar información sobre plantas poco conocidas con propiedades insecticidas, probaron el extracto acuoso de esta planta (mencionada como *Rhoeo discolor*) sobre *Periplaneta americana* observándose una toxicidad moderada (DL₃₀).

En cuanto a los estudios químicos son muy escasos, el realizado a la fecha es el de Idaka, Ogawa, Kondo y Goto, en 1987 aislaron en HPLC cuatro nuevos pigmentos de antocianinas, aciladas uno de esos compuestos es el flavonoide rheonín.

De tipo farmacológico fue el llevado a cabo por Weniger, Haag-Barrurier y Anton en 1982, donde probaron extractos obtenidos con etanol 80° en útero de ratones, mostrándose actividad estimulativa. El otro es el realizado por Frisbey, A y cols. en 1953, donde probaron extractos de las flores, los cuales presentaron ligera actividad antibiótica contra *Micobacterium tuberculosis*. El extracto obtenido de las hojas presentó un efecto estimulante en útero de rata, el extracto antitumoral en ratón con leucemia -P388 inyectado por vía intraperitoneal a la dosis de 100 mg/ kg. Al inducir dolor los extractos etanólicos de la planta provocaron un moderado efecto analgésico en ratón a los 30 y 60 minutos de la administración por vía interperitoneal a la dosis de 1900 mg/ kg Aunque esta acción no fue dependiente de la dosis.

Suffness M. en 1984 probaron en ratones extractos etanólicos de las ramas los cuales se observaron efectos tóxicos generales cuando se administró por vía peritoneal a la dosis de 400 mg/kg

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS BACTERIAS EMPLEADAS EN ESTE ESTUDIO

Escherichia coli es una bacteria gram negativa de forma bacilar que habita normalmente en el intestino y solo en circunstancias muy excepcionales son causa de enfermedad. Su presencia en el agua es indicadora de polución fecal, esto es, contaminación con aguas de alcantarillado. Ciertos serotipos de *E. coli* dan origen a infecciones diarreicas en los niños y algunas veces se encuentran en infecciones del tracto urogenital.

Shigella dysenteriae, produce la llamada shigellosis o disentería bacilar. Son bacilos no móviles gram-negativos. Su crecimiento óptimo es a 37°C, la disentería cuyo cuadro clínico es inflamación intestinal, diarrea y deposiciones acuosas con sangre, mucus y pus. Esta bacteria produce una exotoxina de gran actividad (Pelczar y Reid, 1966).

Vibrio cholerae, de la familia spirillaceae es un bacilo gram-negativo heterótrofo, causa la enfermedad comúnmente denominada cólera asiático. El período de incubación es variable entre unas horas y 2 ó 3 días. Por lo general, la enfermedad es con frecuencia mortal. Los síntomas más acusados son los vómitos y las abundantes deposiciones diarreicas, que dan lugar a una intensa deshidratación y desmineralización del organismo y el aumento de la acidez sanguínea y tisular (Freeman 1983).

Staphylococcus aureus, son células anaerobias facultativas, pero crecen mejor con presencia de oxígeno, son redondas u ovoides que miden una micra de diámetro. No son móviles, no forman esporas y son gram positivos. Su temperatura óptima es a 37°C. Produce una toxina que causa intoxicación por alimentos contaminados. Se encuentran en alimentos como dulces y postres, las carnes preparadas, los sandwiches y emparedados conservados y refrigerados defectuosamente e incluso la leche, son excelentes medios de cultivos para el desarrollo de estos organismos. Los síntomas se presentan 2 ó 3 horas después de haber ingerido la toxinas y consisten comúnmente en náuseas, vómito y diarrea. Causante también de enfermedades respiratorias, como neumonía, infecciones en la garganta, entre otras (Pelczar y Reid, op. cit.).

Listeria monocytogenes, célula en forma de bastón no encapsulado, no esporulado. En cultivos muy recientes se encuentra en forma bacilar, pero después es predominantemente cocoide, es una bacteria gram-positiva. La listeriosis puede adoptar varias formas en el hombre, y puede ser de naturaleza ya sea local o generalizada. Las infecciones localizadas rara vez son cutáneas, pero más frecuentemente afectan las membranas mucosas, dando a la enfermedad un grado variable de gravedad, ordinariamente con síntomas en la porción superior de las vías respiratorias, invasión de los linfáticos regionales y, en ocasiones, causan conjuntivitis. Las infecciones generalizadas son observadas mucho más comúnmente y son las más serias. La forma septicémica generalizada puede preceder a la invasión

del sistema nervioso central, la cual a menudo se aprecia bajo la forma de meningitis o meningoencefalitis, o puede llegar al sistema reproductor de la mujer embarazada

Bacillus cereus es una bacteria en forma de bastoncito, formadoras de esporas, aerobia, causa frecuentemente intoxicación de alimentos. La intoxicación alimentaria se asemeja a la ocasionada por *Staphylococcus*, ya que producen una o más enterotoxinas. Los cereales constituyen un medio excelente para los bacilos. Hay la posibilidad de que se formen varias toxinas, una o dos de las cuales ocasionan diarrea otra daña a la mucosa y otra provoca vómito.

Yersinia enterocolitica, es una especie de la familia enterobacteriaceae, es móvil por medio de flagelos peritricos a 22°C. Se ha aislado de animales como chinchillas, cerdos y ganado bovino donde parece ser altamente patógena. En el hombre el padecimiento es principalmente una infección intestinal, con producción de gastroenteritis aguda con fiebre, dolor abdominal, diarrea con evacuaciones sanguinolentas y ocasionales, náuseas y cefalea. En algunos casos la enfermedad puede simular apendicitis aguda en otras puede presentarse de la infección intestinal eritema nudoso y otras manifestaciones cutáneas, así como artritis. (Freeman, op. cit.)

IV.- HIPÓTESIS

Por lo menos un compuesto de *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn, inhibe el crecimiento de algunas especies de bacterias gram negativas y gram positivas.

V.- OBJETIVOS

Objetivo General

Analizar la actividad biológica *in vitro* e identificar los metabolitos secundarios presentes en *Rhoeo spathacea* (Sw.) Steam

Objetivos específicos

Probar extractos de diferente polaridad de *Rhoeo spathacea* (Sw.) Steam en su acción contra diez especies de bacterias.

Determinar la fracción con actividad biológica

Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de *Rhoeo spathacea*

VI.- ORIGINALIDAD

A pesar de la gran utilidad que representa para la medicina tradicional el maguey morado (*Rhoeo spathacea*), ya que es usado contra muy diferentes tipos de enfermedades y que es muy amplia la información etnobotánica que se ha generado sobre ella en México y en otros países. La información fitoquímica es escasa, así como los estudios sobre su actividad antimicrobiana. Por lo que este estudio contribuye en generar información a este respecto sobre ésta especie.

VII.- METODOLOGIA

El material vegetal se colectó en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, México, algunos ejemplares fueron depositados en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León para su clasificación botánica

Cepas de bacterias utilizadas

Se realizó una prueba preeliminar a una concentración de 100 mg/ml en las siguientes especies de bacterias: *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae* y *Enterobacter aerogenes* aislada de humanos (Obtenidas del Dr. Jean-Yves D' Aoust del Departamento para la salud y la Protección en Canada de la Rama de Protección a la salud); *Yersinia enterocolitica*, Yø 288, *Escherichia coli*, 43894 (Proporcionado por el Dr. Peter Feng de la División de Microbiología del Centro para la Seguridad de Alimentos y Nutrición aplicada de la F.D.A. Administración de Drogas y Alimentos Washington, D.C. Estados Unidos); *Listeria monocytogenes*, Scott A y *Listeria innocua*, (Obtenida del Dr. Anthony Hitchins, F.D.A. Washington D.C., Estados Unidos) *Vibrio cholerae*, C7677 (Proporcionada por la Dra. Elisa L. Elliot de la División de Microbiología del Centro para la Seguridad de Alimentos y Nutrición Aplicada de la F.D.A.. Washington D.C. Estados Unidos). *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* 196 (doras por Kathleen Glass del Departamento de Microbiología de Alimentos y Toxicología de la Universidad de Wisconsin-Madison) y *Clostridium perfringens* FD 1046.

Activación de las bacterias

Se usó el medio de infusión cerebro-corazón (Brain Heart Infusion) disolviendo 3.7 g en 100 ml de agua destilada y colocando 5 ml de esta solución en cada tubo de ensaye, se esterizaron y después con un asa se tomó del cepario una muestra de cada especie, inoculandolas en el medio. Se incubaron 16 a 18 hrs a 37°C. Para *Clostridium perfringens* se mantuvo en carne cocida de Robertson a 20°C hasta su uso. Se utilizó una atmosfera anaerobia incubando durante 12 hrs.

Cultivo de bacterias

Se usó medio Agar Muller Hinton en la proporción de 38 grs en un litro de agua destilada, se disuelve perfectamente, y se esteriza. Se colocaron 20 ml del medio en cajas petri y se dejaron enfriar, se colocan en la incubadora durante 24 hrs deseandose aquellas que se hallan contaminado. Posteriormente las bacterias fueron inoculadas en la superficie de las cajas distribuyendose en el agar con un asa Driblasky. Se realizaron pozos en el agar de 5 mm de diámetro y en ellos se colocan 50 microlitros del extracto, se cierran las cajas y se colocan en una estufa a 37°C por 24 horas. Para *C. perfringens* se utilizó una atmosfera anaerobia (95% N₂ y 5% CO₂).

Preparación de los extractos

Otros fueron secados a la sombra separando las hojas del tallo y raíz, posteriormente se trituró el material para llevarse a cabo la extracción de los compuestos por el método frío (maceración) durante siete días y extracción exhaustiva en aparato tipo Soxhlet durante 20 horas. Para cada procedimiento de obtención de los extractos se pesaron 50 grs de muestra y se emplearon solventes de polaridad creciente (hexano, cloroformo, metanol).

Los solventes que se emplearon en la maceración, fueron evaporados a temperatura ambiente, y los que se utilizaron en Soxhlet fueron evaporados en un rotavapor Buchi

Se realizaron diluciones de los extractos con las concentraciones de 100 mg/ml para el ensayo preeliminar, posteriormente las concentraciones llevadas a cabo fueron de 50 mg/ml, 25 mg/ml y 10 mg/ml. También se prepararon la decocción e infusión de la hoja y tallo/raíz para comparar los resultados. Para el primero se tomaron cinco hojas frescas (42 grs), las cuales se colocaron en 250 ml de agua destilada y se hirvió durante 10 minutos. El mismo procedimiento se llevó con el tallo/raíz (44.5 grs). Para la infusión se tomaron la misma cantidad de hojas (43.6 grs), pero en este caso se hierve primero el agua, se retira del calor y se colocan las hojas dejando reposar durante 10 minutos. Lo mismo se realiza con el tallo/raíz.

Separación de los principios activos

De cada uno de los extractos se trató de aislar su principio activo, observándose primero en la cámara de luz ultravioleta en cromatografía en capa delgada el número de compuestos que pudiesen estar presentes y midiendo su respectivo R_f (referencia de frente). Para esto se probaron diferentes concentraciones de eluentes., como Benceno:acetona 9.5: .5, Benceno:cloroformo:acetona 7:2:1, Cloroformo:metanol 9.5: .5. Se utilizó vapores de yodo para aquellos que pudiesen no observarse al U.V. Posteriormente se utilizó cromatografía en columna, montadas en columnas de vidrio Pyrex de 3.5 cm de diámetro por 30 cm de alto, que contenían sílica gel malla 100-200, y capa delgada preparativa para aquellos compuestos que no se separaron bien en la columna.

Identificación de sustancias

Para la identificación de algunos compuestos se realizaron pruebas químicas como la de cloruros que consiste en mezclar 3 a 4 gotas de solución de Nitrato de Plata ($AgNO_3$) al 1% en 3 ml de agua destilada y se agregan unos cuantos cristales obtenidos del extracto metanólico. Si aparece un precipitado blanco,

esta prueba da positiva para cloruros. La prueba de la flama consiste en observar a través de un vidrio de cobalto unos cristales de extracto puestos en la flama de un mechero, la coloración violeta indica positiva la prueba para Potasio.

Para las sustancias sólidas se midió el punto de fusión en un aparato Electrothermal (cat no. 1A6304) usando un termómetro de 400°C. llevaron a cabo espectros de absorción en el infrarrojo (I.R.)

Análisis Estadístico

Se midió el halo de inhibición del crecimiento bacteriano, y los resultados obtenidos se les determinaron las estadísticas descriptivas (media, error estándar), se llevó a cabo un análisis de varianza y una prueba de Tukey con nivel de significancia de 0.05 (Steel y Torrie 1985; Quiroz y Fournier, 1988: Programa estadístico SPSS).

VIII.-RESULTADOS Y DISCUSION

Del ensayo biológico realizado se obtuvieron los siguientes resultados que de diez especies de bacterias utilizadas, fueron inhibidas ocho especies, tanto gram negativas como gram positivas. Los extractos no polares (hexano), de hoja de *Rhoeo spathacea* inhibieron tres especies, los polares (metanol), afectaron seis especies. De los extractos del tallo/raíz los obtenidos con hexano empleando ambos métodos tuvo acción antimicrobiana sobre *Yersinia enterocolitica*. Estos resultados indican que para extraer los principios activos de la hoja se requiera calor, y que estos metabolitos en su mayoría son de naturaleza polar, así mismo se pudo comprobar que también el método tradicional de cocción es el mejor ya que aunque sólo inhibió a *Staphylococcus aureus* nos permite comprobar y afianzar la idea de que la planta activa mediante el calor la sustancia inhibitoria, o en otro caso inactiva alguna que afecte al compuesto activo. Es conveniente aclarar que los extractos metanólicos fomentaron el crecimiento de *S. aureus*, y esto pudo ser ocasionado por algún azúcar ideal para activar el crecimiento de esta bacteria (Tabla 1 y 2).

Se puede señalar que en algunas especies inhibió el solvente empleado, pero que mezclado con el extracto el halo que presentó fue mayor, de 2.0 a 3.0 cm, como es el caso de *Escherichia coli*, cuyo testigo presentó un halo de inhibición de 1.0 a 1.5 cm, al emplear cloroformo. Por lo que en el ensayo preeliminar que se realizó se desechó el evaluar las diferentes concentraciones.

En el segundo ensayo realizado donde se emplean tres diferentes concentraciones, la estadística descriptiva llevada a cabo nos señala que el extracto hexánico de hoja extraído en aparato Soxhlet presentó un halo mayor en *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica*, en comparación con la maceración clorofórmica de la raíz y el metanólico de la hoja en Soxhlet. Así mismo se determinó que la concentración de 50 mg/ml resultó la más adecuada para las tres bacterias (Tabla 3, Fig 1 y 2).

En cuanto a las diferentes concentraciones de extractos metanólicos de la hoja, para las otras cinco especies, se determinó que la media del halo de inhibición fue mas alta para *Enterobacter aerogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella dysenterae* y *Bacillus cerues* a una concentración de 25 mg/ml, mientras que para *Vibrio cholerae* se necesitó la concentración mayor que fue de 50 mg/ml. (Tabla 4 y Fig. 3). Es necesario precisar que en todas las concentraciones se presentó inhibición.

La prueba de Tukey (P menor a 0.05) en la comparación multiple de medias nos indica que el halo de inhibición para los diferentes extracto para *Escherichia coli* es altamente significativo y que las concentraciones su diferencia es altamente significativa para *Staphylococcus aureus* y *Yersinia enterocolitica*. (Tabla 5), al realizar el ANOVA de dos factores (extracto y concentración) se obtuvo que la inhibición del crecimiento bacteriano es altamente significativo para *S. aureus* y *Yersinia enterocolitica*. La interacción entre ambos factores es significativa para *Escherichia coli* y altamente significativa para *S. aureus* y *Y. enterocolitica*. (Tabla 6).

El ANOVA ONE WAY de la distancia inhibitoria con el extracto metanólico de hoja de *R. spathacea* para las diferentes concentraciones nos da la diferencia que existe entre las diferentes concentraciones (Tabla 7).

De acuerdo a algunos estudios antimicrobianos realizados con las mismas bacterias con otras plantas como el de Haucuja (1995) y Sánchez (1995) que interpretan sus resultados como inhibición baja, moderada y alta según la medida del halo, se puede interpretar en terminos generales que el maguey morado (*R. spathacea*) tiene una actividad moderada para inhibir el crecimiento de las bacterias empleadas en este trabajo.

Por otra parte confirma lo que se menciona en los trabajos etnobotánicos como los Del Amo (1979), González (1979) y (1981) en cuanto al efecto que tiene contra enfermedades de las vías respiratorias y del aparato digestivo.

Extracción con hexano

En cuanto al aspecto químico realizado se obtuvo que al extraer exhaustivamente 50 grs de la hoja y raíz/tallo seca y mólida durante 20 horas con 250 ml de hexano (p. eb. 60-70°C) en un extractor tipo Soxhlet . El extracto se concentró en un rotavapor Buchi. El residuo obtenido fue un líquido espeso color café amarillento con un peso de 2.5 grs.

También se extrajeron con el procedimiento de maceración durante siete días, empleando la misma cantidad de material vegetal. El solvente se deja evaporar a temperatura ambiente en este caso el residuo que se obtuvo fue mas claro que el anterior, y el peso obtenido fue menor (1.5 grs).

Al llevar a cabo la c.c.d. se determinó que para los extractos de hoja Soxhlet, raíz maceración y Soxhlet el mejor eluente de separación fue Benceno:acetona 9.5: .5, donde se observaron con mayor nitidez y separación las manchas (Tabla No. 7). Aunque es conveniente aclarar que Hexano:cloroformo 1:1 también resultó muy adecuado para la observación de las manchas.

Después de observar el número de manchas se procedió a mezclar 2 grs del extracto con 3 grs de silica gel en el rotavapor, a este polvo se le colocó en la parte superior de la columna y se utilizó como eluente hexano, posteriormente hexano:cloroformo 9.5: .5, hexano:cloroformo 9:5, hasta llegar a cloroformo puro. Esto para que se fueran separando y bajando las bandas. Una vez corrida la cromatografía en columna se volvió a realizar c.c.d., observandose que en una porción se mezclaron dos compuestos por lo que se realizó cromatografía en placa preparativa, separandose los compuestos pero que debido a la cantidad tan pequeña en que se encontraban no se pudo determinar que sustancias eran.

Extracción con cloroformo

El extracto clorofórmico en ambos métodos utilizando la hoja fue de un color verde muy oscuro, la cantidad obtenida mediante la maceración fue de 0.7 grs y para la extracción exhaustiva fué de 1.3. En cuanto a la de raíz el color para ambos casos fué de un café claro, el peso para uno es de 0.95 grs y con el aparato Soxhlet de 1.24 grs.

El eluyente Benceno:cloroformo:acetona 7:2:1 dió una aceptable separación (tabla 8) pero en la c.c se substituyó al benceno por el hexano incrementando poco a poco la polaridad.

Se empleó c.c.p. para separar dos compuestos que corrieron igual en la columna pero debido a la cantidad en que se encuentran en la planta y que siempre queda muestra en el material empleado (en este caso silicar) no se obtuvo lo suficiente para determinar que tipo de metabolito era.

Extracción con metanol

Al extraer con metanol mediante la maceración se obtuvieron 1.4 grs de muestra de un color café oscuro. En cuanto a la extracción exhaustiva se obtuvo el extracto de la misma coloración que en el método frío, pero de una consistencia mas espesa que al evaporarse quedo de un aspecto resinosociclosa, con un peso de 2.7 grs, además se separaron del mismo unos cristales blancos.

La c.c.d. realizada solamente en el que dió actividad antimicrobiana revela cinco manchas, (tabla 9) en donde se utilizaron diferentes eluentes y en el cual el de cloroformo:metanol 9.5: .5 fué el que dió mejor separación. Al realizar la c.c. y utilizar solo cloroformo se obtuvieron unos cristales blancos en una cantidad muy pequeña (0.1 mg) y al cual no se le realizó pruebas químicas ni IR debido a que era necesario mas muestra de este compuesto.

De las pruebas químicas se determinó que esta planta contiene Cloruro de Potasio ya que da positiva la prueba de cloruros y de la flama para confirmar la existencia del K y con la literatura se obtuvo el punto de fusión, ya que al tratar de medirse en el laboratorio solo se pudo llegar a 370°C puesto que el termometro solo llega al 400, por lo que se optó por reportarlo así. Pf= 799°C.

Compuestos obtenidos

De las substancias que se separaron se purificaron y se llevaron al IR se obtuvieron las siguientes bandas:

He₁: Cetona insaturada con por lo menos un grupo isopropilo con las señales 3436 cm⁻¹, OH, 1733 cm⁻¹ y 1273 cm⁻¹ C=O, 1601 cm⁻¹ y 1581 cm⁻¹ C=C, 1379 cm⁻¹ Gem dimetilo. P f 65-67°C (Espectro No. 1)

He₂: Hidrocarburo saturado sin doble enlace con señales 3000 cm⁻¹ CH y señal de comprobación 1500 cm⁻¹ P. f. 48°C (Espectro No. 2)

He₅: Cetoalcohol saturado, 3435 cm⁻¹ OH, 2916 cm⁻¹ CH, 1697 cm⁻¹ C=O. P.f. 72-74°C (Espectro No. 3)

27 II: Cetona saturada alifática con gen dimetilo y señales de 2919 cm⁻¹ y 2850 cm⁻¹ CH, 1738 cm⁻¹ C=O, 1463 cm⁻¹ confirmación de CH, 1378 cm⁻¹ Gem dimetilo, 1261 cm⁻¹ confirmación de carbonilo. P.f. 68-70°C (Espectro No. 4)

27 III: Ceto alcohol alifático saturado con un grupo dimetilo por lo menos y señal 3436 cm⁻¹ OH, 2876 cm⁻¹ , 2930 cm⁻¹ y 2972 cm⁻¹ CH, 1714 cm⁻¹ C=O, 1458 cm⁻¹ gem dimetilo, 1777 cm⁻¹ O del OH. Líquido (Espectro N. 5).

IX.- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en la prueba antimicrobiana y el análisis fitoquímico se concluye lo siguiente:

Rhoeo spathacea tiene efecto inhibitorio sobre el crecimiento de ocho especies de bacterias: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Shigella dysenterae*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, y *Salmonella typhimurium*. a una concentración de 100 mg/ml.

La concentración de 25 mg/ml fué la que presentó un mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes*, *Listeria monocytogenes* *Shigella dysenterae* y *Bacillus cereus*.

El o los compuestos causantes de la inhibición del crecimiento bacteriano se encuentran tanto en la raíz como en las hojas, pudiendose observar que para el primero los compuestos activos son no polares y de polaridad intermedia, mientras que para el segundo son compuestos polares.

El método de maceración para obtener los extractos de la raíz es el más adecuado, a diferencia de los obtenidos de la hoja, ya que se requiere el calentamiento.

La coccion de las hojas con agua inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

Los espectros al infrarrojo indican que los extractos hexánicos contienen hidrocarburos saturados sin doble enlace y sin grupo carbonilo, cetona insaturada con por los menos un grupo isopropilo, y un ceto alcohol saturado.

Los extractos clorofórmicos contienen una cetona saturada alifática con gem dimetilo y ceto alcohol alifático saturado con un grupo dimetilo por lo menos.

Los extractos metanólicos contienen gran cantidad de Cloruro de Potasio.

X.-SUGERENCIAS

En base a los resultados y conclusiones obtenidas se sugiere lo siguiente:

Realizar más pruebas sobre el efecto del crecimiento con otras especies de bacterias y hongos.

Determinar la concentración mínima inhibitoria de los compuestos causantes de la actividad inhibitoria.

Llevar a cabo extracciones de los metabolitos con más cantidad de material vegetal, para que durante el procedimiento de purificación no se pierdan compuestos importantes.

Realizar más análisis espectroscópicos de las sustancias obtenidas en este estudio.

XI.- BIBLIOGRAFIA

Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. 1995. Tomo 1 y 4. Instituto Nacional de Antropología e Historia. Ed. Limusa. México.

Del Amo, R.S. 1979. Plantas Medicinales del Estado de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. 279 p.

Domínguez, X.A. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México. 261 p.

Escolástico, P.R. 1983. Los huertos familiares del ejido Corregidora Ortíz del Mezcalapa, municipio del Centro, Tabasco, México. Un enfoque etnobotánico. Tesis. Colegio Superior de Agricultura Tropical/Secretaría de Recursos Hidráulicos. 118 p.

Freeman, A. 1983. Tratado de Microbiología. Ed. Mc Graw Hill. 415-428 pp.

Frisbey, A. 1953. The occurrence of antibacterial substances in seeds plants with special reference to *Mycobacterium tuberculosis* (third report) Mich State Univ. Agr. Appl Sei Quart Bull, Num. 35. 392-404.

Fuentes, V.R. y M.M: Granda. 1984. Estudios Fenológicos en plantas medicinales. en: Revista Cubana (2) 18. 249-263 pp.

Garcés, M. A. R., R. Eslava C. y M.A. Magaña. A. 1987 Medicina Tradicional de Tabasco. DIF-Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 73 pp.

García-Velázquez, A. 1991. Cytogenetical Studies in *Rhoeo spathacea* (Commelinaceae) A desynaptic and second division restitution mutant. en: Genome. 34 (6) 895-899 pp

González, G.R. 1979. Plantas Medicinales de la Región de la Chontalpa: Un enfoque Etnobotánico. TESIS. Facultad de Biología. Universidad Veracruzana. México. 68 p.

González, E.T.A. y A.L.G. Curiel. 1983. Descripción del uso y algunos aspectos ecológicos de los huertos familiares en la Ría. Francisco I. Madero, municipio del Centro, Tabasco, México. TESIS. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y Colegio superior de Agricultura Tropical. dpto. de Ecología, Cárdenas, Tabasco. 216 p.

González, G.R. 1984. Aprovechamiento de los recursos vegetales en dos comunidades: Ría. La Lagartera 2da. sección de Cupilco, Comalcalco y ejido Lázaro Cárdenas, Tabasco. 243 p.

Guadarrama, O.M. de los a. 1987. El maguey morado. en: Revista expresión.

Huacuja, G. E. 1995. Estudio Fitoquímico y Determinación de la acción antimicrobiana de *Senecio candidissimus*. TESIS. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. 61 p.

Idaka, E., T. Ogawa, T. Kondo y T. Goto. 1987. Isolation of highly acylated anthocyanins from Commelinaceae plants, *Zebrina pendula*, *Rhoeo spathacea* y *Setcreasa purpurea*. Agr. Biol Chem. Vol. 51. No. 8. 2215-2220.

Kenfield, D. , G. Bunkers, Y.H. Wu, G. Stribel, F. Sugawara, Y. Hallock y J. Clardy. 1989. Gigantenona, a novel sesquiterpene phytohormone mimic. en Experientia 45. 900-902 pp.

Lagunes, T. A., C. Arenas L. y C. Rodriguez H. 1981 Extractos Acuosa y polvos vegetales con propiedades insecticidas. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma Chapingo.

Martínez, M. 1990. Las plantas medicinales de México. Ediciones botas. 6ta. ed. p. 174.

Mendieta, R.M. y S. Del Amo R. 1981. Plantas Medicinales del Estado de Yucatán. Instituto Nacional sobre Recursos Bióticos. C.E.C.S.A. 287 p.

Nasar, S.K.T. y R. Rai. 1985. Seasonal fluctuation of the duration of meiosis in *Rhoeo*. en: Environmental and Experimental Botany, 25(3) p 253-256.

Pahlow, M. 1979. El gran libro de las plantas medicinales. Editorial Everest. 3ra. edición. España.

Pelczar, A. y F. Reid. 1966. Microbiología. Ed. Limusa. 789 p.

Pérez, A. E. 1956. Plantas Útiles de Colombia. Sucesores de rivadeneyra, S.A. Librería Madrid. Colombia. 285 p.

Romo de Vivar, A. 1985. Productos Naturales de la Flora Mexicana. Editorial Limusa. México.

Roque, J.M. 1941. Flora. Medicoguatmalteca. centro Médico. Tmo I. Guatemala C.A. 164-166 pp

Roque, J. y M. Díaz. 1981. *Rhoeo discolor*, reservorio del virus del mosaico del tabaco. en: Ciencias de la Agricultura, 109-11 p.

Sánchez, E., D. Durand y M. Llanes. 1985. Algunos Parámetros Farmacognósticos en plantas medicinales I.

Sánchez, G.C.A. 1995. Efecto de Extractos de 33 Plantas sobre el crecimiento de once especies bacterianas causantes de enfermedades gastrointestinales. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 45 p.

Santiago, P.L.C. 1992. Contribución al conocimiento de las plantas medicinales del ejido Coronel Traconis, Centro, Tabasco. TESIS. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 71 p.

Suffness, M. 1984. The utility of P388 Leukemia compared to B11 melanoma and colon ceranoma 38 for in vivo screening of plant extract, phytother. Res. vol. 2 Num. 2 84-97.

Stearn, W.T. 1957 The Boat-lily (*Rhoeo spathacea*) en: Baileya Vol.5. 195-199 pp

Steel., R.G.D. y Torrie. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2da. McGraw Hill México. 622 p.

Verma, R.C. , P. Vyas y S.N. Raina. 1992. The effect of Colchicine on Meiosis in the *Rhoeo discolor* Stable Complex Translocation Heterozygote. en: Genome. 35 (4). SCH. Studies in Botany, Vikram Univ. India. pp. 611-613.

Weniger, B., M. Haag-Berrurier y R. Anton. 1982. Plants of Haiti used as antifertility agents. en: Journal of ethnopharmacology. 6. 67-84 pp.

XII.-APENDICE

ESPECIES	EXTRACTOS							
	HEXANO		CLOROFORMO		METANOL		TE	COCCION
	MAC	SOX	MAC	SOX	MAC	SOX		
<i>E. coli</i>	---	++	+	+	---	++	---	---
<i>E. aerogenes</i>	---	---	---	---	---	++	---	---
<i>B. cereus</i>	---	---	---	---	---	++	---	---
<i>L. monocytogenes</i>	---	---	---	---	---	++	---	---
<i>S. dysenterae</i>	---	---	---	---	---	++	---	---
<i>Y. enterocolitica</i>	++	++	---	---	---	++	---	---
<i>V. cholerae</i>	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>S. aureus</i>	---	++	---	---	*	*	---	++

TABLA 1. Inhibición de bacterias por diferentes extractos de hoja de *Rhoeo spathacea*

(- NO INHIBIO, ++ INHIBICION, + INHIBIO EL EXTRACTO Y SOLVENTE, * FOMENTO EL CRECIMIENTO)

ESPECIES	EXTRACTOS							
	HEXANO		CLOROFORMO		METANOL		TE	COCCION
	MAC	SOX	MAC	SOX	MAC	SOX		
<i>E. coli</i>	---	---	+	+	---	---	---	---
<i>E. aerogenes</i>	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>B. cereus</i>	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>L. monocytogenes</i>	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>S. dysenterae</i>	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Y. enterocolitica</i>	++	++	---	---	---	---	---	---
<i>V. cholerae</i>	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>S. aureus</i>	---	---	---	---	*	*	---	---

TABLA 2. Inhibición de bacterias por diferentes extractos de raíz de *Rhoeo spathacea*

(-- SIN INHIBICION, ++ INHIBICION, + INHIBIO EL EXTRACTO Y SOLVENTE, * FOMENTO EL CRECIMIENTO)

FACTOR	GPO.	ESTADIST.	BACTERIAS		
			1	2	3
EXTRACTO	1	MEDIA	4.7778	7.7778	7.0000
		E. ESTANDAR	0.4573	0.4498	1.6394
	2	MEDIA	4.1667	3.8333	3.6111
		E. ESTANDAR	0.9789	0.5270	0.9234
	3	MEDIA	-----	-----	4.6111
		E. ESTANDAR	-----	-----	0.9346
CONCENT.	1	MEDIA	2.0833	5.0000	0.9444
		E. ESTANDAR	0.8002	1.3601	0.2561
	2	MEDIA	4.7500	5.5833	5.4444
		E. ESTANDAR	0.2814	0.7791	0.3379
	3	MEDIA	6.5833	6.8333	8.8333
		E. ESTANDAR	0.3005	0.8233	1.0375

TABLA 3. Estadística descriptiva de la distancia inhibitoria de diferentes extractos y concentraciones.

EXTRACTO: 1) EXTRACTO HEXANICO DE HOJA DE SOXHLET
2) EXTRACTO CLOROFORMICOMACERACION DE RAIZ
3) EXTRACTO METANOLICO DE HOJA DE SOXHLET

CONCENTRACION: 1) 10 mg/ml
2) 25 mg/ml
3) 50 mg/ml

BACTERIA: 1) *Staphylococcus aureus*
2) *Escherichia coli*
3) *Yersinia enterocolitica*

CONC. (GRUPO)	ESTADISTICOS	BACTERIAS				
		4	5	6	7	8
10 mg/ml	MEDIA	0.000	0.667	2.000	1.500	1.000
	E. ESTANDAR	0.000	0.333	0.288	0.764	2.887
25 mg/ml	MEDIA	1.333	5.833	4.000	4.833	3.167
	E. ESTANDAR	0.667	0.333	2.887	0.601	0.167
50 mg/ml	MEDIA	4.000	4.000	2.333	2.000	2.167
	E. ESTANDAR	0.000	0.000	0.667	0.000	0.167

TABLA 4. Estadística descriptiva de la distancia de inhibición con extracto metanólico de la hoja de *Rhoeo spathacea* para las diferentes concentraciones.

4.- *Vibrio cholerae* 5.- *Enterobacter aerogenes* 6.- *Listeria monocytogenes*
7.- *Shigella dysenteriae* 8.- *Bacillus cereus*

FACTOR	BACTERIAS		
	1	2	3
EXTRACTO	2.57 0.135	32.42 ** 0.0001	2.06 0.149
CONCENTRACION	18.97 ** 0.0001	0.84 0.4512	37.40 ** 0.0001

TABLA 5. Anova oneway tukey (comparación múltiple de medias)

1) *Staphylococcus aureus*

2) *Escherichia coli*

3) *Yersinia enterocolitica*

FACTOR	BACTERIAS		
	1	2	3
EXTRACTO	2.57 0.1350	59.94 0.0001	** 140.33 0.0001
CONCENTRACION	47.06 ** 0.0001	* 4.36 0.0380	37.40 ** 0.0001
INTERACCION	** 11.32 0.002	* 3.94 0.040	** 41.62 0.0001

TABLA 6. Anova de dos factores (extracto y concentración)

* SIGNIFICATIVO

** ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

Diferencia significativa ($P < 0.05$)

ANALISIS	BACTERIAS				
	4	5	6	7	8
F	28.00	92.63	5.64	10.26	25.40
p	0.0009	0.0001	0.0419	0.0116	0.0012
TUKEY (GRUPOS)	A	B	C	D	B

TABLA 7. Anova one way de la distancia inhibitoria con el extracto metanólico *Rhoeo spathacea* para las diferentes concentraciones.

(4.- *Vibrio cholerae* 5.- *Enterobacter aerogenes* 6.- *Listeria monocytogenes*
7.- *Shigella dysenterae* 8.- *Bacillus cereus*)

A.- LA CONCENTRACION 3 DIFIERE SIGNIFICATIVAMENTE DE LA 1 Y 2

B.- LAS TRES CONCENTRACIONES SON DIFERENTES SIGNIFICATIVAMENTE

C.- LA CONCENTRACION 1 DIFIERE SIGNIFICATIVAMENTE DE LA 2

D.- LA CONCENTRACION 2 DIFIERE SIGNIFICATIVAMENTE DE LA 1 Y 3

BENCENO: ACETONA (9.5: .5)

HOJA SOX	MANCHAS	VISIBLE	U.V.	VAPORES DE YODO	Rf
	1	amarillo	café	verde	0.14
	2	amarillo	verde	café	0.19
	3	-----	rosa	verde	0.66
RAIZ MAC	1	café	café	ocre	0.18
	2	café	verde	ocre	0.22
	3	amarillo	gris	café obs.	0.86
RAIZ SOX	1	amarillo	verde	café	0.18
	2	-----	verde	ocre	0.22
	3	amarillo	verde	verde	0.29
	4	-----	gris	verde	0.97

TABLA 8. Cromatografía en capa fina de Extractos Hexánicos de *Rhoeo spathacea* que causaron inhibición bacteriana.

BENCENO: CLOROFORMO: ACETONA (7:2:1)

RAIZ MAC	MANCHAS	VISIBLE	U.V.	VAPORES DE YODO	Rf
	1	verde	rosa	café	0.44
	2	verde	amarillo	café	0.50
	3	verde	rojo	café obs.	0.60

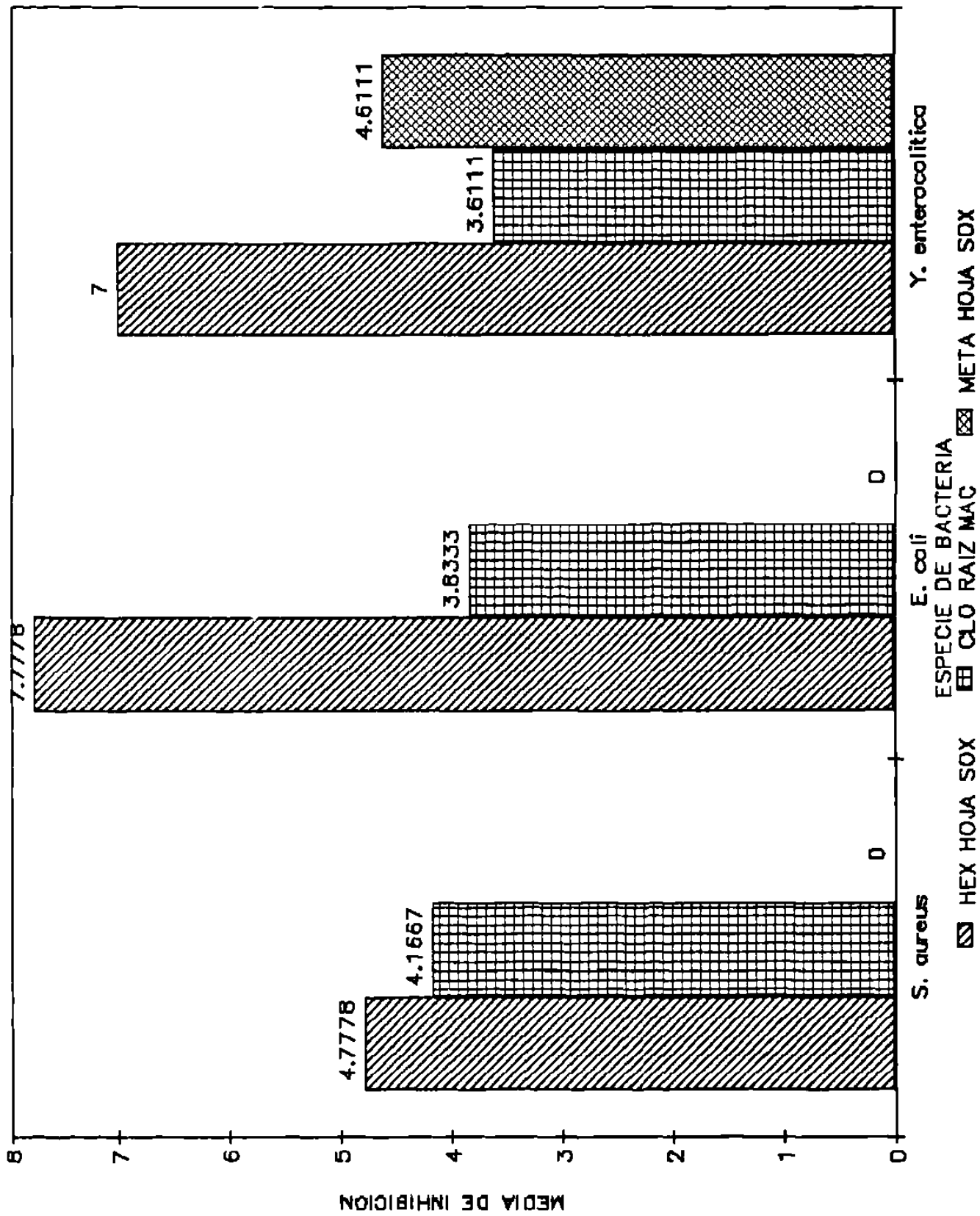
TABLA 9. Cromatografía en capa fina de Extractos Cloroformicos de *Rhoeo spathacea* que causaron inhibición bacteriana.

CLOROFORMO: METANOL (9.5: .5)

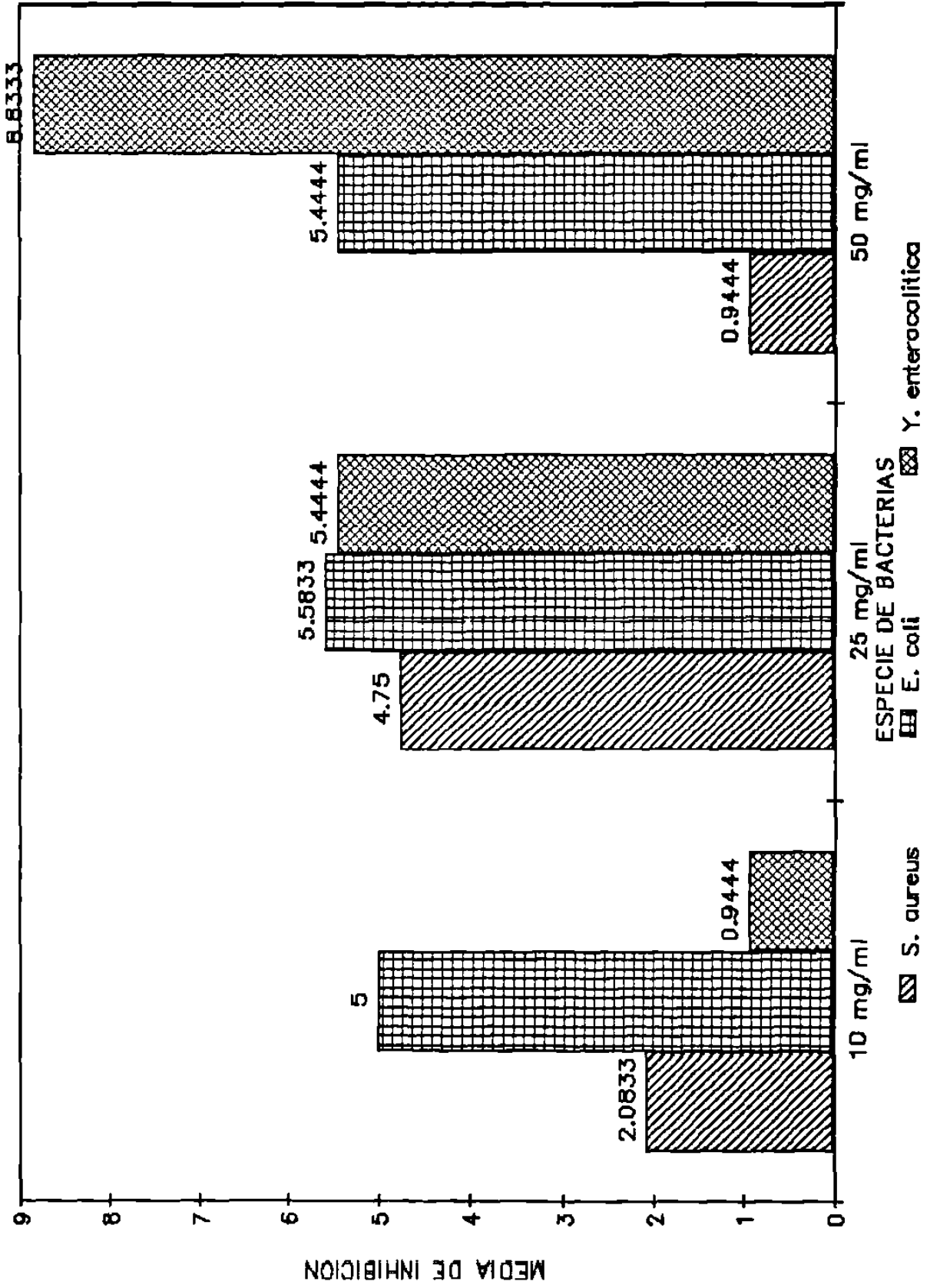
HOJA SOX	MANCHAS	VISIBLE	U.V.	VAPORES DE YODO	Rf
	1	----	azul	amarillo	0.44
	2	verde	amarillo	naranja	0.50
	3	verde obs.	naranja	verde	0.69
	4	-----	rosa	café	0.89
	5	verde	rojo	verde obs.	0.95

TABLA 10. Cromatografía en capa fina de Extractos Metanolicos de *Rhoeo spathacea* que causaron inhibición bacteriana.

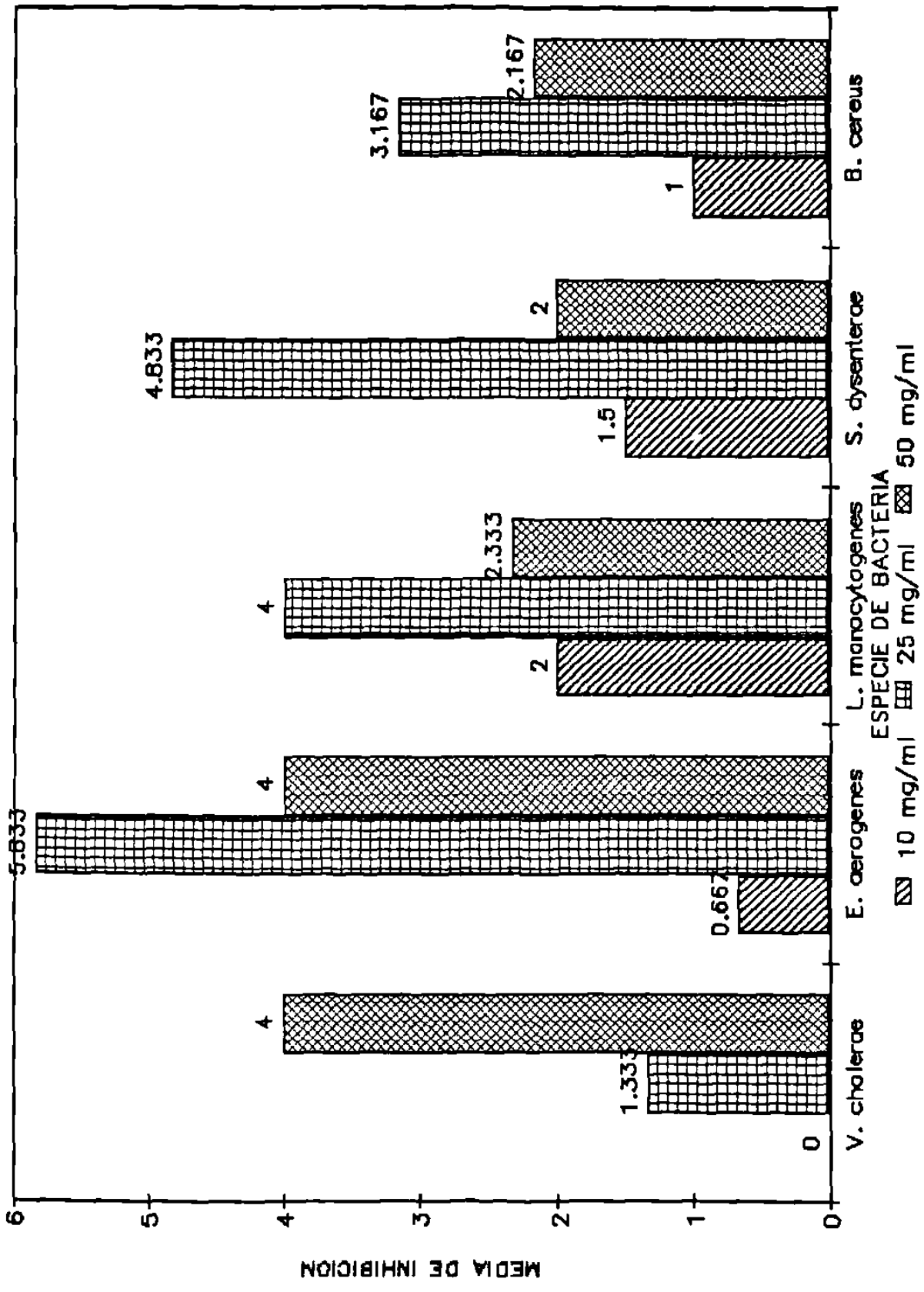
EXTRACTOS DE *Rhoeo spathacea*
 FIGURA 1



EXTRACTOS DE *Rhoeo spathacea*
 FIGURA 2



EXTRACTOS METANOLICOS DE *R. spathacea*
 FIGURA 3



Y: 3551 4000-450 1.00 3.17 108.27 F SI AC 40R 4

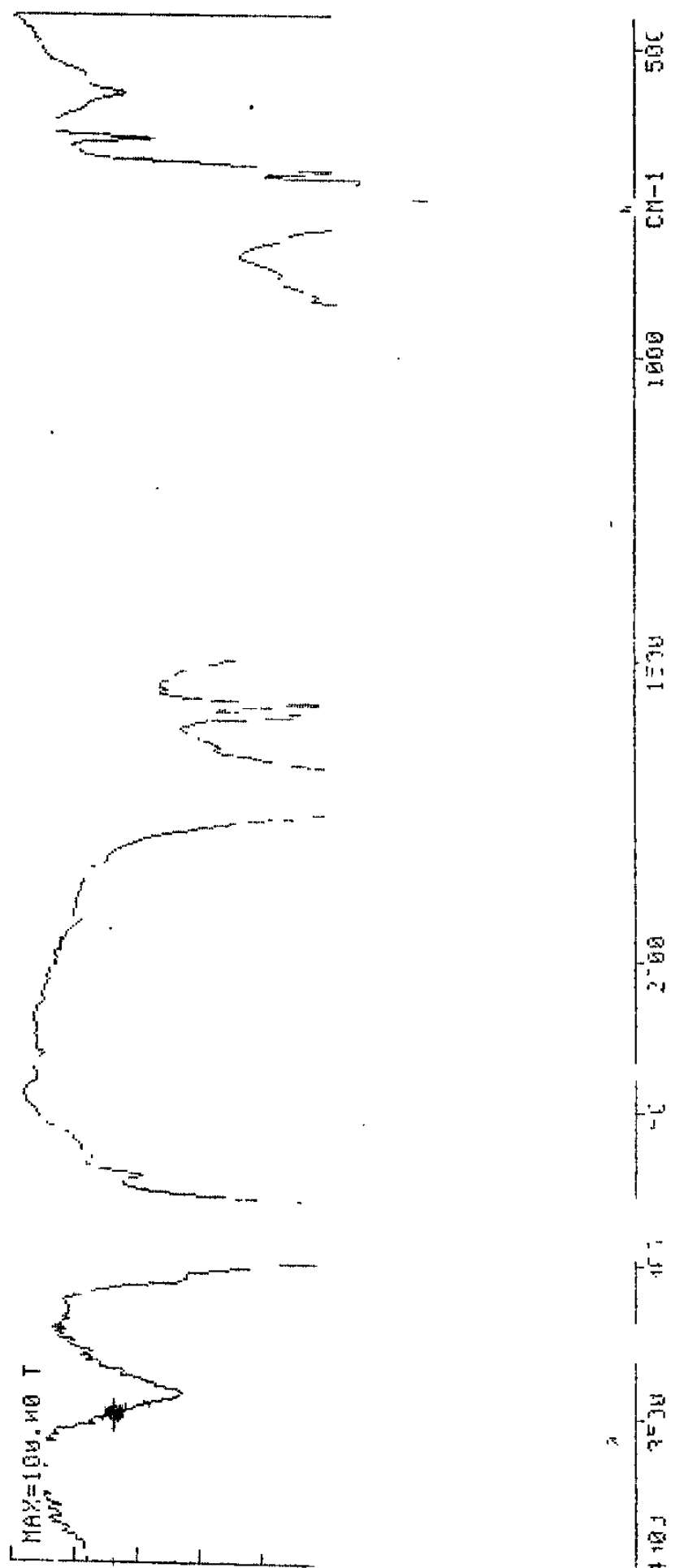
PAGE 1

REF. VALUES :

3699.	96.9	3487.	94.4	3659.	94.8	3605.	93.2	3584.	91.5
3544.	86.5	3436.	72.8	3350.	85.1	3326.	87.3	3307.	86.6
3295.	88.2	3272.	89.4	3247.	91.7	3234.	91.3	3206.	90.7.
3153.	90.5	3139.	90.7	3067.	71.5	2917.	3.6	2850.	4.3
2732.	79.3	2659.	87.2	2405.	95.7	2329.	04.7	2340.	85.9
1733.	3.2	1653.	66.4	1601.	51.6	1581.	50.2	1557.	75.0
1539.	73.7	1505.	60.0	1463.	5.4	1379.	12.3	1340.	32.0
1273.	3.7	1165.	17.5	1124.	6.0	1073.	7.1	1041.	24.0
995.	35.2	952.	26.2	924.	1.0	909.	51.1	873.	50.9
797.	47.8	75.	46.5	170.	46.7	743.	24.7	731.	30.1
721.	41.5	706.	47.0	652.	77.8	579.	81.8		

END 54 PEAKS FOUND

No. 1
 Nombre Luisa del Carmen
 Muestra He 2
 Disolvente -
 Fecha 25/04/96
 Operador E. Gomez
 No. de espectro 2147



4000 3500 3000 2500 2000 1500 1000 500
 CM-1

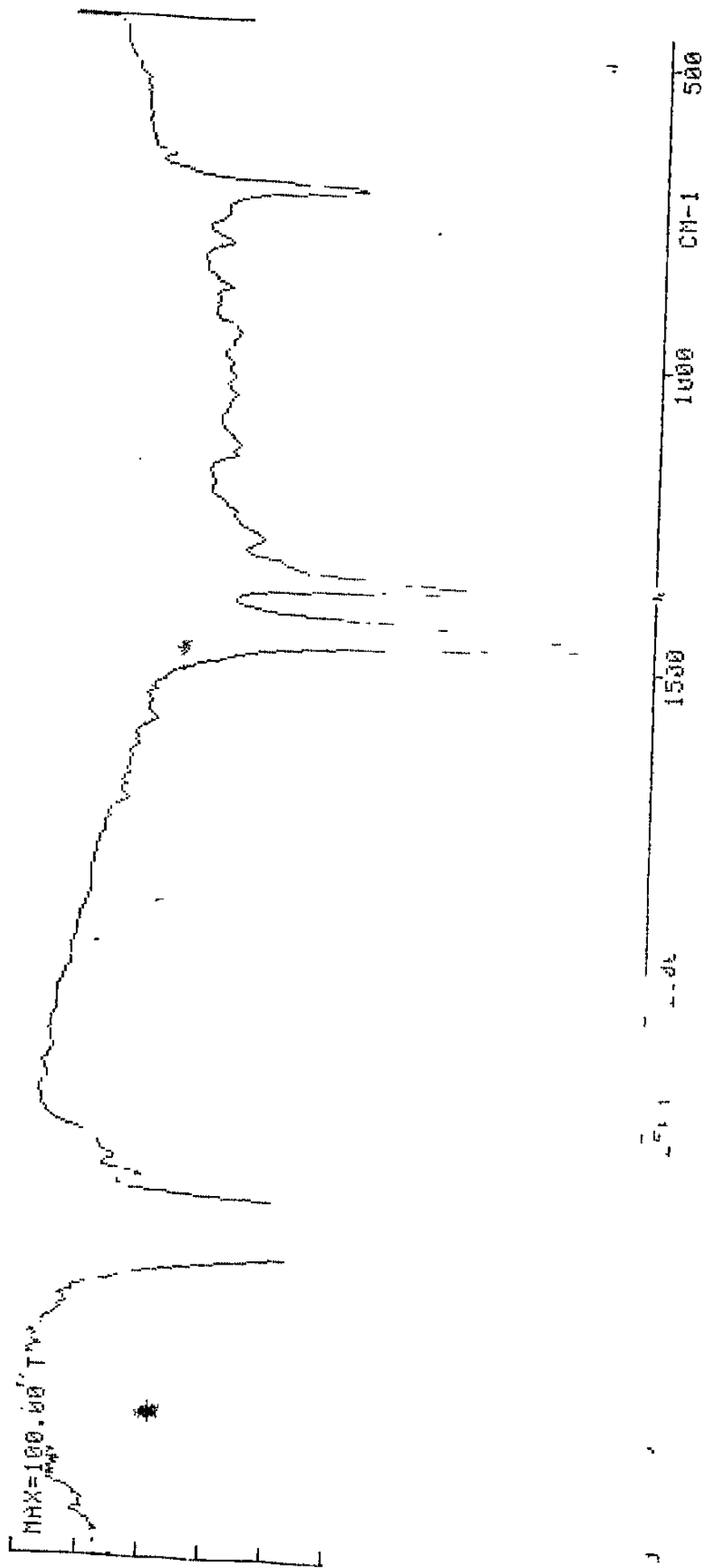
No. 2

Nombre Luisa del Carmen
 Muestra He 2
 Disolvente ---
 Fecha 2-5/04/96
 Operador E. Gomez
 No. de espectro 2146

PAGE 1

Y: 3551	4800-450	1.00	3.27	59.99	T F	S2 AC	258.4
REF. VALUES :							
3458.	97.0	3433.	97.0	3401.	95.9	3369.	96.0
3306.	96.0	3294.	96.6	3272.	96.6	3153.	92.6
2920.	3.3	2895.	5.9	2877.	6.4	2779.	30.4
1053.	8.4	1033.	11.	1017.	17.9	1304.	63.6
1057.	68.6	1078.	68.6	965.	68.2	889.	69.6
72.	47.8	675.	79.1				

EN P r s f o y

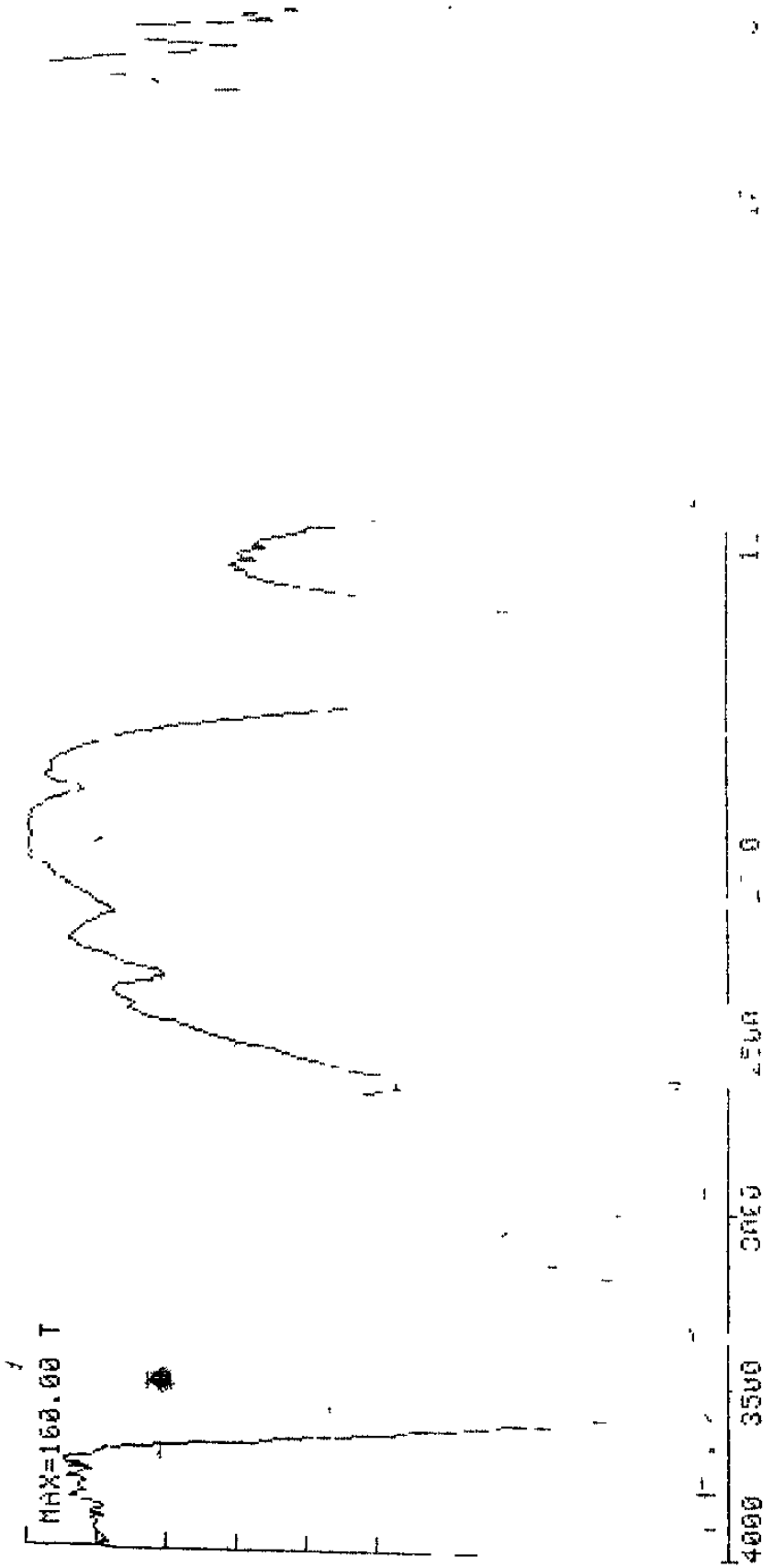


No. 2
 Nombre Luisa del Carmen Santiago.
 Muestra HC 8
 Disolvente _____
 Fecha 25/04/96
 Operador E. Gomez
 No. de espectro 2148

PAGE 1

λ	3551	4000-450	1.00	3.16	100.00	F	AE	75R	4
REF. VALUES :	4000	68.9	2000	99.3					
3984.	88.6	3912.	89.0	3886.	89.1	3846.	90.7	3936.	91.9
3814.	90.9	3790.	91.6	3779.	90.5	3765.	92.1	3732.	89.9
3719.	88.8	3435.	4.1	3119.	31.7	3079.	31.4	2916.	3.2
2655.	44.0	2729.	80.6	2145.	87.6	1896.	91.7	1657.	3.3
1576.	69.2	1557.	67.2	1540.	65.8	1472.	4.1	1453.	4.2
1362.	4.2	1309.	10.4	1261.	13.0	1221.	5.7	1181.	6.0
1148.	6.6	1074.	27.8	1022.	23.7	977.	37.5	953.	19.4
914.	16.6	813.	68.6	772.	64.5	757.	60.5	730.	12.0
720.	12.2	619.	29.1	607.	21.7	535.	25.	500.	19.5
407.	65.9								

END 46 PEAKS FOUND



No 4

Nombre Luisa del Carmen
 Muestra FAT 27 II
 Disolvente —
 Fecha 25/04/96
 Operador F. Gomez
 No. de espectro 2145

X: 3551 4000- 450 1.00 3.15 99.78 T F 92 AC 209.4

REF. VALJES :

PAGE 1											
3584.	86.4	3560.	88.9	3545.	86.9	3524.	89.5	3513.	91.0		
3499.	53.3	3470.	67.3	3455.	87.4	3440.	88.1	3427.	67.6		
3350.	90.6	3338.	70.2	3320.	91.8	3306.	89.7	3295.	65.4		
3272.	96.2	3247.	91.4	3234.	90.8	3253.	87.7	3140.	69.7		
3118.	87.0	3079.	80.7	2919.	3.2	2852.	4.3	2726.	80.3		
2667.	84.5	2323.	92.7	1778.	30.6	1696.	72.7	1544.	76.1		
1603.	75.6	1463.	9.3	1378.	28.8	1302.	58.5	1261.	53.5		
1215.	58.1	1169.	48.1	1055.	55.7	1029.	59.0	969.	64.5		
910.	66.6	890.	67.3	9.	62.7	761.	50.3	730.	37.6		
721.	35.2										

END 46 PEAKS FOUND

