



## Evaluación fitoquímica, fisicoquímica y farmacológica de Maguey Morado (*Rhoeo discolor*)

González Coronel Marco Antonio<sup>1</sup>, Vásquez García Ángel<sup>2</sup>, Castro Lino Alejandra<sup>3\*</sup>, Palacios López Cristal Rebeca<sup>2</sup>, León Garcés Estephany Alejandra<sup>2</sup>, Soto López Ismael<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Farmacia. Av. San Claudio y 18 Sur Col. San Manuel, C.P.72570 Edificio 105 H Ciudad Universitaria. Puebla, Pue.

<sup>2</sup> Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Alumnos. Av. San Claudio y 18 Sur Col. San Manuel, C.P.72570 Edificio 105 H Ciudad Universitaria. Puebla, Pue.

<sup>3</sup> Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Inorgánica. Av. San Claudio y 18 Sur Col. San Manuel, C.P.72570 Edificio 105 H Ciudad Universitaria. Puebla, Pue.

\* Autor para correspondencia: alcastro1228@yahoo.com.mx

### Recibido:

01/mayo/2016

### Aceptado:

16/agosto/2016

### Palabras clave

Rhoeo Discolor, Gastritis, Ratas Wistar

### Keywords

Rhoeo Discolor, Gastritis, Ratas Wistar

### RESUMEN

La planta de "Rhoeo discolor" es una especie de planta herbácea perteneciente a la familia de las comelináceas, presente en Centroamérica y México, la cual se utilizó para hacer la determinación de los componentes fitoquímicos y comprobar las propiedades gastroprotectoras modelo animal. Se obtuvo un extracto de las hojas y fue caracterizado por pruebas fitoquímicas, Cromatografía de capa fina y columna, IR y UV -vis; para el estudio farmacológico se utilizó el modelo de ulcera inducida por Ácido Acetil salicílico, en Ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) divididas en cuatro grupos: I Control normal, II Control de la ulcera III Extracto acuoso de Rhoeo discolor, IV ácido acetil salicílico + extracto acuoso. Al término del estudio se extrae el estómago de cada rata para la observación macroscópica e histológica con el objetivo de comprobar sus propiedades antiácidas y probar el extracto como posible principio activo para el tratamiento de la gastritis.

### ABSTRACT

The plant "Rhoeo discolor" is a herbaceous plant belonging to the family of comelináceas, present in Central America and Mexico, which was used to determine its phytochemical components and to evaluate the gastro protective properties in an animal model. An extract from the leaves was characterized by phytochemical tests, thin-layer chromatography and column, IR and UV -Vis. The pharmacological Study included an ulcer model induced by acetylsalicylic acid in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) that were divided in four groups: normal control, ulcer control II III Rhoeo discolor aqueous extract, salicylic acid acetyl IV + aqueous extract. At the end of the study, the stomach of each rat was extracted and analyzed for macroscopic and histological observation to prove the antacid properties of the extract as a possible drug for the treatment of gastritis.



## Introducción

Desde hace más de un siglo las úlceras, gastritis y duodenitis constituyen una causa muy importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, raramente mencionadas como motivo de hospitalización o muerte en el siglo XIX. A inicios del siglo XX tuvieron un brote de tipo epidémico seguido por una disminución paulatina y constante de su incidencia en las últimas cuatro décadas Gaibor (2014). En México la gastritis ocupa el cuarto lugar dentro de las veinte principales causas de enfermedad, al revisar la situación epidemiológica, según datos del INEGI en 2014 se reportan 1251.16 /100,00 habitantes de Úlceras, gastritis y duodenitis (SSA. DGEPI). Anuarios de morbilidad 2000-2013. Disponible en:

[www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html) (Consulta: 18 de noviembre de 2015). Datos estadísticos de Inegi 2014 de las úlceras, gastritis y duodenitis se reportaron 1 335 714 casos y una incidencia de 1 281.71 por 100 000 habitantes. El estómago cuenta como primera línea defensiva con un gel mucoso que lo reviste y lo protege contra el ácido clorhídrico, los virus y las bacterias; esta mucosa también secreta bicarbonato para crear un ambiente antiácido en la superficie, además las células de la mucosa se renuevan cada 10 días totalmente, la prostaglandina E2 incrementa la secreción mucosa del estómago, disminuye la secreción de ácido y promueve la formación de micro capilares sanguíneos, a su vez, la prostaciclina (PGI2) actúa como potente vasodilatador y anticoagulante, ya su vez favorece la proliferación de la mucosa gástrica, al asegurarle un adecuado riego sanguíneo. La microcirculación lleva oxígeno y nutrientes a la mucosa, al mismo tiempo que extrae sustancias tóxicas, las lesiones de la mucosa gástrica incluyen el deterioro de la red de micro capilares y por ende del flujo sanguíneo. La reparación de esta red circulatoria lleva, según A. Tornawiski, a una mejor y más rápida reparación de la mucosa gástrica. Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. De acuerdo a la OMS (1979) una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Miranda et al. (2005). México es el hogar de miles de plantas medicinales que se usan en infusiones, cataplasmas y platos alimenticios comunes. Una planta comúnmente usada en el sureste de México es el Maguey morado. Mendieta y Amo (1981). Esta planta es muy común en toda la península de Yucatán, en Tabasco se le conoce también como Zopilotea, en Cuba le llaman Cordobán, aparte de su

indudable belleza y fácil cultivo, la sabiduría popular atribuye a esta planta virtudes medicinales como antiinflamatorio y antibiótico, tanto en uso externo para heridas y golpes, como para infecciones internas, así como para detener hemorragias, también se usa para combatir enfermedades gastrointestinales. La información empírica dice que la planta es eficiente en el tratamiento de inflamación, gastritis, acidez y úlceras Reyes et al. (2009).

## Gastritis

La gastritis es una enfermedad inflamatoria aguda o crónica de la mucosa gástrica producida por factores exógenos y endógenos que produce síntomas dispépticos atribuibles a la enfermedad. Existen entidades cuyas características endoscópicas corresponden a una gastritis por la presencia de eritema o edema de la mucosa, en las que histológicamente hay ausencia del componente inflamatorio pero si cuentan con daño epitelial o endotelial, acuñándose para estas la denominación de gastropatías Valenzuela et al. (2001). La gastritis es etiológicamente multifactorial, observándose que en un solo paciente pueden intervenir múltiples factores tanto exógenos como endógenos, de los que el más común es la infección por *Helicobacter pylori*, (Ramírez y Gilman, 2000). Los síntomas por gastritis por AINE'S, pueden mejorar con el retiro, reducción o la administración de la medicación con alimentos, en aquellos pacientes en quienes persisten los síntomas se les debe someter a endoscopia diagnóstica y estudio histológico para confirmar la etiología por AINES y en base a ello ser tratados sintomáticamente, tabla 1. Gastritis alcohólica: Se prescriben antagonistas de receptores H2 o sucralfato de 2 a 4 semanas. Gastritis por Estrés: Existe la profilaxis farmacológica para su prevención, con el uso endovenoso de antagonistas de receptores H2 o inhibidores de la bomba de protones o sucralfato por vía oral, evidenciándose una franca reducción de la incidencia de sangrado digestivo hasta de un 50%.

## *Rhoeo discolor*

El nombre científico del Maguey morado es *Rhoeo discolor* (sinónimo: Tradescantia spathodea, *Rhoeo spathacea*) Ángel (2003). En realidad no se trata de un Maguey, pero es de apariencia similar. También se le conoce bajo los nombres de Zopilotea, Cordobán, Rheo, Reo, Rhea, Roeo, Amor de hombre, Moisés en la cuna. Pertenece a la familia de las Commelinaceae (Tabla 2). Algunos estudios realizados a esta planta han demostrado su capacidad inhibitoria en el crecimiento de algunas bacterias, como es el caso de *Shigella flexneri* y *Escherichia coli*. Otros estudios han identificado la

presencia de compuestos, como cloruro de sodio, cloruro de potasio, ácido hexadecanoico e hidrocarburos saturados.

**Tabla 1.** Clasificación científica de *Rhoeo discolor*.

<i>Rhoeo discolor</i>	
Reino	Plantae
Sub reino	Angiosperme
Clase	Monocotiledoni
Orden	Commelinales
Familia	Commelinaceae
Género	Rhoeo
Especie	discolor

### Taxonomía de *Rhoeo discolor*

Es una planta de tallo corto del que salen numerosas hojas empalmadas, arrosietadas, de 30 o más cm. de largo, tienen forma de espada, el anverso es verde y el reverso violeta o morado púrpura, tiene pequeñas flores con tres pétalos de color blanco, agrupadas y protegidas por dos brácteas de color púrpura que nacen de las axilas de las hojas inferiores. El tallo de las flores es pequeño y grueso. Las flores no le añaden valor estético a la planta, figura 1.



**Figura 1.** *Rhoeo discolor* (Maguey morado) (tomado de biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana.)

El objetivo de este trabajo es realizar el estudio fitoquímico del extracto de *R. discolor* (maguey morado) y evaluar su efecto gastroprotector en un modelo animal.

### Hipótesis

*R. discolor* es una de las plantas de la familia Commenlinacea, que ha sido usada con fines medicinales en distintos lugares de México, su uso es frecuente en llagas y heridas superficiales en la piel, además de usarse para combatir enfermedades gastrointestinales. La información empírica dice que la planta es eficiente en el tratamiento de inflamación, gastritis, acidez y úlceras. De

ahí el interés de elucidar la estructura de los metabolitos secundarios que tiene actividad contra la gastritis.

### Planteamiento del problema

En México cada vez son más las personas que padecen gastritis y úlceras gástricas, esto en gran medida por los malos hábitos alimenticios, la automedicación, el estrés y otros factores por lo cual se requieren soluciones más naturales para tratar este padecimiento. Dentro de la familia Commelinaceae se ubica *R. discolor* con sinonimia *Tradescantia spathacea* Ángel (2003); abarca 44 géneros y 600 especies aproximadamente, de Ángel y cols. Reportan varios compuestos químicos del grupo de las flavonas y las cumarinas, las que tienen efectos desinflamatorios incluso hasta bactericidas.

### Reactivos, Material y Equipo

Ácido clorhídrico	Hidróxido de sodio
Cloruro de sodio	Cloroformo
Cloruro férrico	Anhidro acético
Hidróxido de amonio	Ácido acético
Magnesio	Sulfato férrico amónico
Piridina	Ácido fosfórico
Nitroprusiato de sodio	

### Cromatografías

Cloroformo	Acetato de etilo
Éter etílico	Acetona
Éter de petróleo	
Hexano	

### Análisis farmacológico

Ácido acetil salicílico	Parafina
Hematoxilina	Xilol
Eosina	Etanol

### Material de laboratorio

Tubos de ensayo	Mortero
Vasos de precipitados	Pipetas
Parrilla eléctrica	Capilares
Columna cromatográfica	Cánula
Pinzas para tubo de ensayo	Estuche de disección
Equipo soxhlet	

### Equipos

Microscopio óptico	
Espectrofotómetro IR (Perkin Elmer)	
Espectrofotómetro UV-VIS (Varian Cary 1).	
Estufa	
Balanza analítica	
Micrótomo	

## Metodología

### Recolección de *Rhoeo discolor*

Se recolecta el material vegetal, en Puebla, en la zona entre las coordenadas geográficas 17°52'-20°50' de latitud norte y 96°43'-99°04' de longitud oeste, se selecciona el material sano, se recolecta solo la parte de interés, en este caso las hojas del maguey morado.

### Lavado y secado

El lavado de las hojas se realiza con abundante agua, procediendo a una desinfección con hipoclorito de sodio a una concentración de 80 ppm. Para el secado se procederá a extender bien las hojas sin provocar dobleces colocándolas entre papel periódico, en un sitio plano, a temperatura ambiente. Colocándole prensa con un peso moderado para así eliminar por completo la humedad. Se dejaron durante 15 días en ese estado. Una vez secas se efectuó la molienda con la ayuda de un pistilo en un mortero de porcelana y se tamizará a través de un tamiz N° 44., que equivale a 354 micrometros. Se procede a pesar en balanza analítica 16.970 g de muestra vegetal de maguey morado. Siendo ésta, una cantidad representativa para la extracción.

**Preparación de la infusión para el análisis farmacológico.** En medio litro de agua se agregan 15 gramos de la hoja de la planta, se pone a calentar en una parrilla a una temperatura de 86 °C; se deja enfriar y se recolecta por decantación el líquido obtenido.

**Extracción alcohólica.** Mediante el método Soxhlet se lleva a cabo la extracción a 80 g del maguey morado. Finalmente se dejó enfriar y el extracto se almacena en frascos protegidos de la luz.

### Pruebas fitoquímicas

**Ensayo de Mayer- Wagner:** Utilizado para detectar la presencia de alcaloides, a 1 mL del extracto se le añaden 0.5 mL de ácido clorhídrico al 5%, se satura con cloruro de sodio y se filtra, se pasa el líquido claro a otro tubo de ensayo y se añade una gota de reactivo de Mayer. Si se forma un precipitado o turbiedad, se confirma la presencia de alcaloides. A 1 mL del extracto obtenido se le añaden 5 gotas de reactivo de Wagner, si se forma un precipitado es indicativo de la presencia de alcaloides

**Ensayo del cloruro férrico:** Permite reconocer la presencia de compuestos taninos en un extracto vegetal. Se coloca 1 mL de solución de cloruro férrico al extracto obtenido, si se observa una coloración naranja se confirma la presencia de taninos en la muestra

**Ensayo de Borntrager:** Es útil para detectar la presencia de quinonas. Se colocan 3 gotas de hidróxido de amonio

al extracto obtenido, se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++), ó, rojo para lo cual se reporta (+++).

**Ensayo de Shinoda:** Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. A un tubo con 1 mL de extracto se le agrega un trozo pequeño de magnesio y 5 gotas de HCl concentrado. La aparición de colores que van desde el rojo al naranja indican la presencia de un flavonoide, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 2. Identificación de flavonoides.

Tipo de flavonoides	Coloración de la reacción de shinoda	Estructura química del flavonoide
Chalconas	No hay coloración	
Auronas	No hay coloración	
Isoflavonas	Amarillo rojizo	
Flavanonas	Azul magenta, violeta, rojo	
Flavanonoles	Rojo a magenta	
Flavonas	Amarrillo a rojo	
Flavonoles	Amarrillo a rojo	

**Ensayo de Baljet.** Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamientos lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultado positivo. A 1 mL del extracto a analizar se le agregan de 2 a 3 gotas de piridina, posteriormente se añade una gota de solución al 5% de nitroprusiato de sodio en agua y 3 gotas de NaOH al 2 N, se considera positiva cuando aparece un color rojo intenso.

**Ensayo de Liberman:** Permite reconocer en un extracto la presencia de terpenos el producto debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Se disuelve en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto obtenido en 1 mL de cloroformo. Se agrega resbalando por las paredes 1 mL de anhídrido acético y se deja reposar, se agregan 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de

colores rojos, rosa, verde, púrpura o azul en la interface se considera positivo.

**Ensayo de Buchard:** Al igual que el ensayo de Liberman, permite reconocer en un extracto la presencia de esteroides el cual debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. A 1 mL del extracto obtenido se le agregan de 2 a 3 gotas de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético-ácido sulfúrico (50:1), si aparece una coloración verde o azul se considera una prueba positiva.

**Prueba de Vincristina:** Disolver 10 mg de sulfato férrico amónico en 1 mL de ácido fosfórico (SR). Transferir 3 gotas de esta solución a un tubo de ensayo, agregar 0.5 mL del extracto obtenido y caliente en baño maría durante 10 minutos, la aparición de un color rosa es positiva, nos indica la presencia de vincristina.

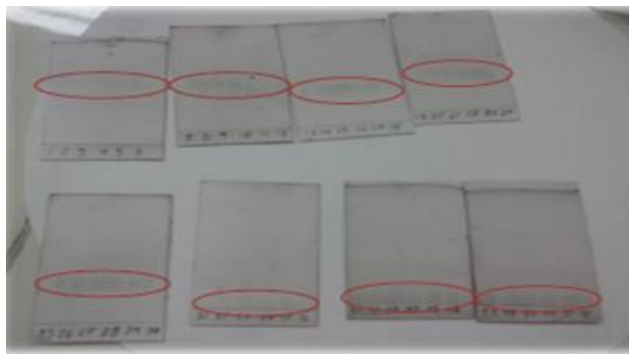
### Cromatografía de capa fina (CCF)

Una vez analizados los metabolitos secundarios por medio de las pruebas fitoquímicas se procede a la confirmación de los metabolitos presentes en el extracto alcohólico por medio de su fragmentación en las cromatografías y su análisis en espectroscopia en IR y UV-VIS, Para la selección de la fase móvil utilizada en la técnica de cromatografía se empleó el método rutinario observando las series eluotrópicas de los disolventes comenzando con los menos polares (cloroformo, éter etílico, hexano) a los más polares (acetato de etilo, acetona, metanol) y luego realizar las mezclas con los anteriores disolventes. Al extracto alcohólico se le realiza el estudio de CCF de la siguiente forma: disolver una pequeña cantidad de muestra en 0.5 mL de disolvente y mediante un capilar de vidrio aplicar en la parte inferior de la placa a 1 mm del borde inferior, se deja secar al aire libre. Se prepara la cámara donde está la mezcla de los disolventes necesario para la separación con 2.5 mL de mezcla de solvente. Se coloca la placa de CCF en la cámara que no sobrepase a la muestra aplicada, se cierra el recipiente y se deja que el líquido ascienda por capilaridad. Se saca la placa de CCF de la cámara de cromatografía cuando el eluyente llegue a 15 mm de la parte superior de la placa, se deja secar al aire libre y se revela con la técnica de quema con ácido, se leen la presencia de manchas y se mide las distancias de las manchas separadas.

### Cromatografía de columna CC

Una vez que se encuentre la mejor mezcla de disolventes para la separación de los compuestos se sigue con la cromatografía en columna con la fase estacionaria de gel de sílice. Una vez armada la columna cromatografía se coloca la muestra y se cubre con algodón, luego se

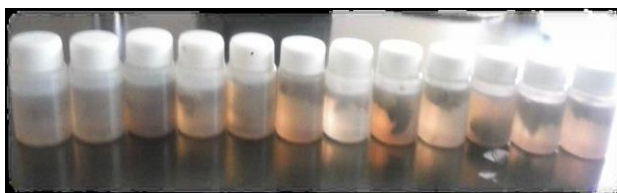
agregara la mezcla de disolventes y se deja correr la fase móvil, posteriormente se van recolectando las fracciones en tubos de ensayo. A las fracciones obtenidas se les realiza cromatografía en capa fina con el mismo disolvente que se corrió figura 2.



**Figura 2.** Cromatografías de capa fina, reveladas con el método de quema con ácido, donde se pueden apreciar las diferentes bandas obtenidas en la recolección efectuada en la Cromatografía en Columna.

### Preparación de los tejidos estomacales para las técnicas histológicas

Finalizados los tiempos establecidos como administración crónica, esto es en dosis de 50mg/kg por vía oral cada 4 h, durante 10 días, pasado este tiempo las ratas se anestesiaron, con ketamina (13 mg/kg) y xilacina (100 mg/kg) por vía intraperitoneal y fueron sacrificados se les abrió el abdomen por su curvatura mayor, se expuso el estómago, lavándose con solución salina, y se procedió a cuantificar las úlceras gástricas, realizando cortes que dejaron expuestas las regiones internas, posteriormente se colocaron en paraformaldehído al 4% durante cuarenta y ocho horas para después iniciar el proceso de deshidratación, aclaración, infiltración e inclusión en parafina figura 3.



**Figura 3.** Estómagos cortados colocados en p-formaldehído al 4%.

Para el proceso de deshidratación, los estómagos se colocaron durante una hora en agua destilada y posteriormente en porcentajes crecientes de etanol (80, 96 y 100%). La aclaración de los estómagos se desarrolló con soluciones de etanol (100%) - xilol (1:1) y xilol (una

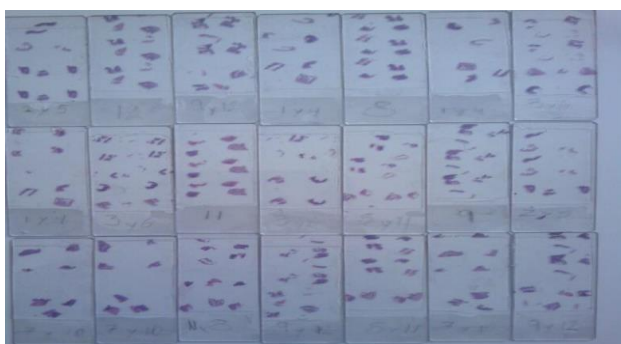
hora cada solución). En la etapa de infiltración, los estómagos se colocaron en parafina líquida a 48°C durante dos horas y finalmente los tejidos se incluyeron en bloques de parafina, se realizaron cortes de 5 µm de grosor, haciendo uso de un micrótopo de toración, marca Lerica RM223; los cortes fueron montados en portaobjetos figura 4.



**Figura 4.** Tejidos de la mucosa estomacal cortados (5 µm) y montados en portaobjetos.

#### Tinción de Hematoxilina y Eosina

El método de hematoxilina y eosina (H&E) es el procedimiento de tinción más comúnmente usado, tanto en el estudio histológico como en el patológico; consiste en la aplicación de hematoxilina de Mayer que tiene un carácter básico y tiñe a los núcleos (carácter ácido) y la eosina que es un colorante ácido y tiñe el citoplasma y las fibras colágenas que tiene un carácter básico. El protocolo consistió en desparafinar e hidratar los tejidos hasta llegar al agua destilada. Se tiñeron durante quince minutos en hematoxilina de Mayer, y posteriormente se lavaron en agua corriente durante cinco minutos. Posteriormente los tejidos fueron colocados en etanol al 80 % durante dos minutos, para luego ser contrastados en solución eosina durante dos minutos. Finalmente, los tejidos fueron deshidratados, aclarados a través de etanol 96%, etanol 100 % xilol, con dos cambios de dos minutos cada uno y montados con resina figura 5.



**Figura 5.** Tejidos estomacales montados en portaobjetos y teñidos con hematoxilina y eosina.

La tinción de H&E se utilizó para analizar y cuantificar el número de células no dañadas en las regiones de la mucosa estomacal. El daño en las células fue reconocido en el caso de existir por las alteraciones morfológicas en el citoplasma.

#### Resultados y Discusión

**Características fisicoquímicas del extracto acuoso de *Rhoeo discolor*.** El análisis fisicoquímico partió de la obtención del extracto acuoso de *Rhoeo discolor* reportando humedad de 93.53% de la masa total fresca; un valor de pH de ligera acidez (pH 5.93 ± 0.3) lo que supone un no muy marcado efecto antiácido. La densidad relativa (1.00149 a 25 °C) figura 6.



**Figura 6.** Extracto acuoso de *Rhoeo discolor*










#### Características organolépticas

Corresponde con las características organolépticas reportadas para la familia Commelinaceae, entre otras, un olor a madera, debida a la presencia de terpenos.

#### Caracterización fitoquímica del extracto alcohólico

Resultados obtenidos en las pruebas fitoquímicas realizados en el extracto alcohólico de *R. discolor* Dónde:(-) Ausencia del metabolito analizado, (+) Presencia del metabolito analizado, (++) Turbidez definida, reacción positiva, (+++) Precipitado, reacción positiva como se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4.** Resultados fotoquímicos del extracto alcohólico de *R. discolor*.

Metabolito	Ensayo	Res ulta do	Figura
Alcaloides	Mayer	++	
Alcaloides	Wagner	+++	
Taninos	Cloruro férico	+++	
Quinonas	Boritrager	+	
Flavonoides	Shinoda	++	
Lactonas	Baljet	+	
Terpenos	Lieberman	+	
Esteroides	Buchard	-	
Vincristina	Vincristina	-	

El estudio fitoquímico del extracto alcohólico de *Rhoeo discolor* determinó la presencia de alcaloides, taninos, quinonas, flavonoides, lactonas, terpenos y esteroides y dejando descartada la presencia de los metabolitos esteroides y Vincristina. La presencia de los compuestos fenólicos en el extracto hace pensar que son los responsables en el mecanismo de protección contra la gastritis ya que en la última década han sido objeto de atención por sus efectos protectores sobre la salud, según lo reportado por Ángel y col, en el trabajo "Actividad antimicrobiana y elucidación estructural de los metabolitos presentes en "maguey morado" (*R. discolor*) , estos compuestos fenólicos han demostrado que contribuyen a la prevención de diversos tipos de enfermedades: cardiovasculares, oncológicas, neurodegenerativas, diabetes, osteoporosis, padecimientos gastrointestinales, etc., en cuanto al área gastrointestinal los polifenoles han demostrado ejercer efectos antioxidantes, anti ulcerosos y protectores de la integridad celular en tubo gastrointestinal. Debido, en parte, al fracaso del uso masivo de antibióticos y antiácidos en la lucha contra las gastritis y las úlceras, diversos centros de investigación han puesto su atención en los polifenoles como agentes anti ulcerosos, que

además pueden ser utilizados tanto preventiva como terapéuticamente. Algunos de ellos también combaten al *H. pylori* (Mota et al., 2009; Pharm et al., 2011)

### Espectroscopia Infrarrojo (IR)

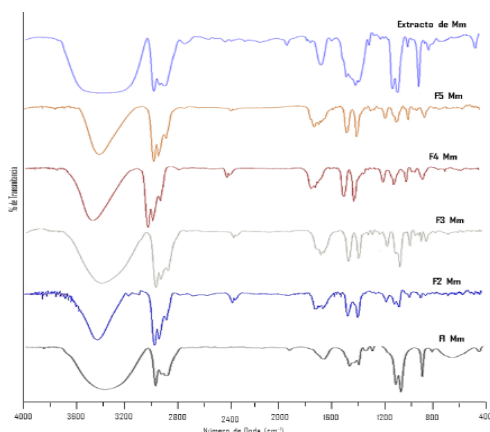
El extracto etanólico de *Rhoeo discolor*, se analizó a través de IR con Transformada de Fourier en un espectrofotómetro FT-IR MB3000 , el mismo análisis se practicó para las fracciones 1 Maguey morado (F1 Mm), fracción 2 Maguey morado (F2 Mm), fracción 3 Maguey morado (F3 Mm), fracción 4 Maguey morado (F4 Mm) y fracción 5 Maguey morado (F5 Mm) mismas que se obtuvieron a través del análisis de 5 mg de extracto etanólico analizado con equipo HPLC de la marca Agilent Technologies 1200 series Binory SL, empleando una columna cromatográfica RP-C18 de la marca Zorba X Bonus 100x2.1 mmd, 3.5 micrones.

En la gráfica del espectro de FTIR del extracto de maguey morado (curva azul cielo), muestra una banda de absorción ubicada en  $3\ 386.0\ \text{cm}^{-1}$  se observa una banda de absorción ancha, que identifica al modo de vibración tipo alargamiento de los grupos hidroxilos ( $\nu\text{O-H}$ ) asignados a los grupos hidroxilos ( $\text{OH}^-$ ) del agua ( $\text{H-OH}$ ) y al modo de vibración ( $\nu\text{N-H}$ ) del extracto de *R. discolor*.

Hacia  $2\ 975.0\ \text{cm}^{-1}$ , se localizan los modos de vibración tipo alargamiento ( $\nu\text{Csp}^2\text{-H}$ ) de los grupos C-H metilos y metilenos, además del modo de vibración del  $\text{CH}_3$  fuera de fase degenerada  $\delta\text{CH}_3$ . La banda de absorción en  $1\ 647.0\ \text{cm}^{-1}$ , representa a los modos de vibración ( $\nu\text{C=N}$ ), del tipo flexión ( $\nu\text{OH}$ ), y a la deformación  $\delta\text{HOH}$  del agua coordinada, así como el modo de vibración ( $\nu\text{C-C}$ ) y el modo de vibración ( $\nu\text{C=O}$ ) de las quinonas.

A  $1\ 456.0\ \text{cm}^{-1}$  se localizan las vibraciones de tipo alargamiento simétricas ( $\nu\text{COO}^-$ ) y el modo de vibración de doblaje de deformación fuera de fase degenerado  $\delta\text{asCH}_3$ . En  $1\ 379.0\ \text{cm}^{-1}$  se ubican los modos de vibración de formación en fase  $\delta\text{CH}_3$  tipo torsión y en  $1322.0\ \text{cm}^{-1}$ , el modo de vibración de doblaje de deformación  $\delta\ \text{CH}_3$  y el modo de vibración de ( $\nu\text{C-CO-C}$ ). La banda localizada en  $1\ 157.0\ \text{cm}^{-1}$  de absorción es asignada al modo de vibración tipo alargamiento de los grupos C-C ( $\nu\text{C-C}$ ), y C-O ( $\nu\text{C-O}$ ) asignada al monómero. La banda ubicada en  $1068.0\ \text{cm}^{-1}$  corresponde al modo de vibración ( $\nu\text{CH}_2$ ) tipo balanceo, así como también se le asocia al modo de vibración ( $\nu\text{O-C-C}$ ) y en  $1049.0\ \text{cm}^{-1}$  se ubica el modo de vibración ( $\nu\text{O-C-C}$ ). Hacia regiones de baja energía del espectro infrarrojo en  $631.6\ \text{m}^{-1}$ , se ubican los modos de vibración de doblaje fuera del plano ( $\gamma\text{C.H}$ ) de las olefinas. Los espectros de infrarrojo de las fracciones obtenidas en la cromatografía en columna del extrato, expresados en la figura 7, presentan los mismos modos de vibración respecto a la maguey morado, cuyas

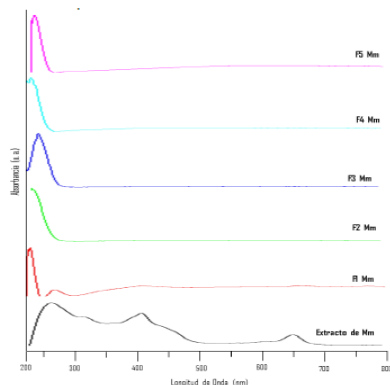
intensidades se ven disminuidas, posiblemente porque la concentración de cada sustancia activa presentes en el extracto disminuye por el paso en la cromatografía en columna.



**Figura 7.** Espectros de IR del extracto de *R. discolor* y de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna.

### Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS)

La figura 8, muestran el espectro de UV-VIS del extracto de *Rhoeo discolor* solo presentan el pico de máxima absorción de 265.1 nm, y de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna, etiquetadas de la misma forma que en el IR.



**Figura 8.** Espectros de UV-VIS del extracto de Mm y de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna.

En el espectro de UV-VIS del extracto de *R. discolor*, se observan tres picos de máxima absorción. Uno en la región del espectro visible cuyo valor de longitud de onda se encuentra en 664.4 nm el cual corresponde a los oxipolienatos:  $O=CH-(CH=CH)_n-O-$  de los terpenos.

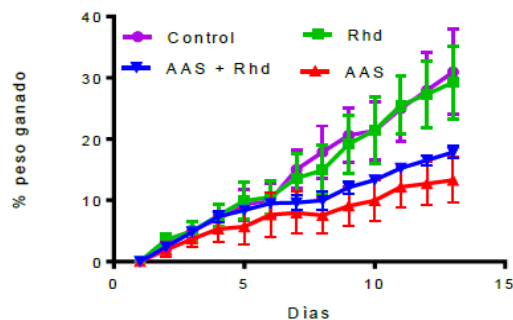
En 406.8 nm se ubica el segundo pico de máxima absorción (en los límites del espectro ultravioleta y visible) correspondiente a las cianinas:  $(CH_3)_2N-(CH=CH)-n-CH=N+(CH_3)_2$  de los alcaloides.

El tercer pico de máxima absorción localizado en la región del espectro ultravioleta de longitud de onda igual a 265.1 nm. auxóchromos o cromóforos de los heterociclos aromáticos de cinco miembros, al dieno homoanular, a los bencenos monosustituidos por grupos auxóchromos y a los derivados bencénicos del tipo YArCOX.

### Efecto del consumo de AAS + Rhd sobre el parámetro de peso en rata

Los animales fueron divididos en cuatro grupos experimentales ( $n= 3$  / por grupo) a los cuales, se les administró durante 15 días por vía oral agua "ad libitum", extracto acuoso de *R. discolor*, ácido acetilsalicílico (AAS) 50 mg/kg y AAS + Rhd, respectivamente, pesándolos diariamente, la administración se llevó a cabo por las mañanas a intervalos de 9 a 12 horas. Los animales fueron pesados diariamente, en balanza analítica a la misma hora (8 am). Los resultados muestran que el grupo control presentó un incremento en el peso promedio del 30.94% para el final del experimento, el grupo tratado con Rhd registró un aumento de peso del 29.24%, por otra parte el grupo con AAS incremento su peso solo en un 13.27%, por último el grupo de AAS + Rd obtuvo un peso de 17.85% figura 9.

El análisis estadístico indicó que no existe una diferencia significativa de cada uno de los grupos experimentales con respecto al grupo control en relación al peso de los animales. Sin embargo, se observa que el grupo administrado con AAS muestran un aumento deficiente en su porcentaje de peso mientras que el grupo con AAS + Rhd aumenta progresivamente. Los datos graficados, corresponden a la media  $\pm$  ESM. (ANOVA de una vía).

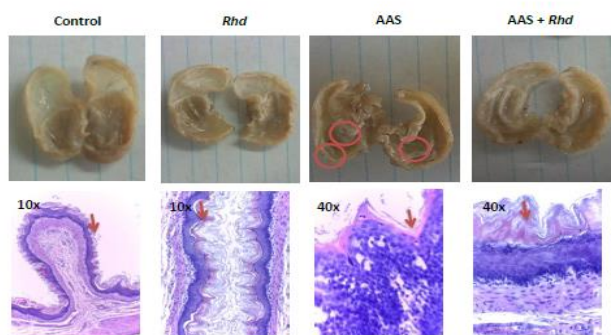


**Figura 9.** Evaluación del curso temporal del peso de los animales tratados con AAS y Rd.

### Efecto del consumo de la infusión de *Rhoeo discolor* en combinación con AAS sobre la apariencia de la mucosa estomacal

Finalizado el tiempo de tratamiento los animales fueron sacrificados para extraer los estómagos, los cuales fueron lavados y examinados en busca de anomalías morfológicas y la presencia de úlceras gástricas en los grupos III Y IV principalmente.

El grupo control presenta una apariencia limpia, uniforme y firme en los 2 sectores que conforman el estómago de la rata (cuerpo y fondo), de igual manera se puede observar en el grupo II al cual se le administro la infusión de *R. discolor* presenta una apariencia limpia y sin efectos adversos en la mucosa estomacal, por otro lado el grupo III (control úlcera inducida con AAS) muestra una clara deformidad en la estructura normal del estómago, además de presentar las respectivas úlceras producidas por el AAS, por último tenemos el grupo IV (AAS + Rd) el cual muestra una aparente mejora en la estructura general del estómago y no muestran las úlceras producidas por el AAS lo que supone una mejora efectiva gracias a la administración del extracto acuoso de *R. discolor*. El análisis histológico realizado a la mucosa estomacal revela en las microfotografía un incremento en el grosor del moco del cuerpo y fondo del estómago en los grupos en los que se les administro la infusión de *R. discolor* en comparación con el grupo control; lo que hace pensar que la generación de más moco a nivel estomacal es el responsable de la protección contra las úlceras inducidas por el AAS. En cambio el grupo III (AAS) muestra una clara disminución en el grosor de la mucosa estomacal y un daño en las células superficiales. Figura 10.



**Figura 10.** Efecto del consumo de la infusión de *Rhoeo discolor* en combinación con AAS sobre la apariencia de la mucosa estomacal.

### Efecto de la infusión de *Rhoeo discolor* sobre la viabilidad de las células de la mucosa estomacal en ratas con úlcera gástrica

Los resultados indican que las células viables en el grupo tratado con AAS muestran una alteración en su estructura denotada por el incremento en la afinidad de la hematoxilina (eosinofilia) en el núcleo celular, la figura 11 (A), nos muestra la celularidad general de los 4 grupos experimentales revelando una disminución en de la viabilidad celular en el grupo de AAS.

Con respecto al grupo control al cual se le administro SSI (10uU/100g) no muestra una alteración en su estructura lo cual nos indica que la SSI no influye en la viabilidad celular. Así mismo el grupo tratado con Rhd en condiciones inocuas nos revela que no causa daño en la morfología celular del estómago de las ratas tratadas.

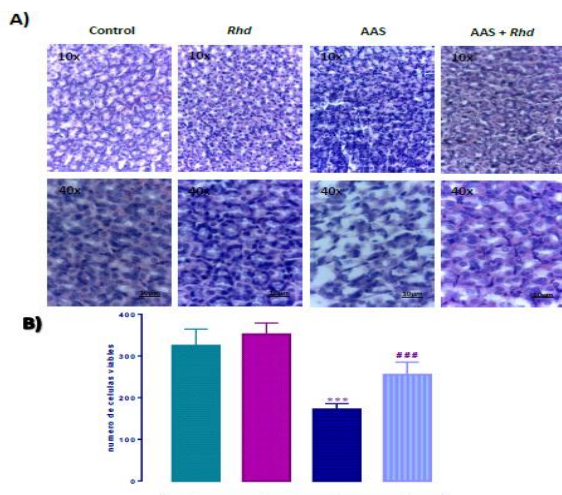
En cuanto al grupo III (AAS), se observa a nivel histológico un cambio en la estructura celular, esto evidenciado por la tinción H&E en el cual se exponen los núcleos de las células pero sin estar rodeados por su citoplasma correspondiente, todo lo anterior ocasionado por la gastritis ulcerosa producida en este grupo, pudiéndose apreciar mejor en la figura 11 (A) en el campo 40x correspondiente al control AAS.

En cuanto a las observaciones hechas al grupo IV - grupo al que se le indujo úlceras gástricas y al que posteriormente se le administro la infusión de *R. discolor* revelan una relación núcleo-citoplasma normal, esto denotado por la morfología celular uniforme y similar a las células del grupo control como se muestra en la figura 11 (A) en las microfotografías referentes a este grupo.

En cuanto al conteo de células para determinar el promedio de células viables de cada grupo, confirman la disminución de las células en el grupo con gastritis ocasionada por AAS al cual se le calculo un promedio de 163 células, comparándolo con el grupo control el cual obtuvo un promedio de las células viables de 335. En cuanto al conteo promedio del grupo IV (Rhd) el promedio de células vivas fue de 352, por último el grupo al que se le administro AAS + Rhd obtuvo un conteo promedio de 255 células lo que equivale a un 47% más de células viables que el grupo con AAS. El análisis estadístico indica que el grupo de AAS + Rd presenta una diferencia significativa en comparación con el grupo control úlcera (AAS) figura 11(B).

La figura 11 (B) muestra la gráfica del número de células viables en los cuatro grupos, donde \* representa la diferencia significativa entre el grupo control con respecto al grupo AAS, y # representa al grupo AAS contra el grupo AAS + Rhd. Los datos graficados,

corresponden a la media  $\pm$  ESM. (ANOVA de una vía, \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ).



**Figura 11.** Efecto del consumo de la infusión de *R. discolor* en combinación con AAS.

Varios investigadores apoyan el hecho de que el consumo de antioxidantes, son útiles para el tratamiento del estrés oxidativo relacionados con algunas enfermedades y la ingesta regular de antioxidantes provenientes de plantas medicinales pueden prevenir la progresión de las enfermedades. (Sen, 2011).

Tomando esto en consideración el estudio fue diseñado para comprobar la utilidad terapéutica del tratamiento con la infusión de *R. discolor*. La administración crónica del ácido acetilsalicílico (aspirina, disprina, etc.) y la gran mayoría de los medicamentos antiinflamatorios y analgésicos (naproxeno, ibuprofeno, indometacina, piroxicam, etc.) causan un deterioro de la barrera protectora del estómago, porque disminuyen la producción de prostaglandinas, que son uno de los elementos primordiales de dicha barrera, así pues al consumir este tipo de medicamentos y privar al estómago de su "barniz anticorrosivo", se puede llegar a desarrollar gastritis o úlceras pépticas (Bielsa, 2012).

El estudio anterior mostro que la infusión de *R. discolor* exhibió un efecto protector y actividades contra la ulcera gástrica inducida por AAS. El efecto gastroprotector producto de los metabolitos secundarios presentes en la infusión de *R. discolor* sugieren que los flavonoides parecen ser los metabolitos determinantes en la protección de la mucosa gástrica.

Las flavonas y flavonoles muestran dos bandas definidas: La banda I, de mayor longitud de onda en el rango 300-390 nm asociada con la funcionalidad cinamoilo, y la banda II, entre 250-280 nm debida al anillo aromático A (funcionalidad benzoilo), aunque a veces se observan

otras bandas de absorción. La posición de la banda I depende del tipo de flavonoide: las flavonas la muestran en 310-350 nm, los flavonoles 3-O-sustituídos en 330-360 nm, y los flavonoles en 350-385 nm. (Carnat et al., 1998).

Numerosos mecanismos han sido propuestos para explicar el efecto gastroprotector de los flavonoides, como por ejemplo el aumento del contenido mucoso de prostaglandinas, disminución de la secreción de histamina, eliminación de radicales libres, aumento de la perfusión vascular y reducción de la adherencia leucocitaria (Wolfe et al., 1999; Sánchez, 2006). Algunos de ellos, reducen la motilidad gastrointestinal prolongado el tiempo de contacto de los extractos con las paredes del estómago y aumentando de esta manera el efecto gastroprotector. Por tanto previenen lesiones en la mucosa gástrica inducida por diferentes métodos y la protegen contra distintos agentes necróticos. (Sharapin et al., 2000).

El modelo de ulcera inducida por AAS, produce auto digestión de la mucosa gástrica, que induce a la producción de una ulcera péptica, además de elevar la acidez y disminuir la resistencia de la mucosa gástrica, produciendo así un daño extenso de la región glandular del estómago (Asokkumar et al., 2014).

Se comprueba que *R. discolor* tiene actividad gastroprotectora, este hecho, resalta el aporte científico que se ha obtenido como resultado del presente estudio ya que dará a la población mayor seguridad en el uso de esta especie vegetal como medicina tradicional preventiva y como posible tratamiento complementario al uso de anti ulcerosos; dado que estos al producir efectos adversos (fundamentalmente gastrointestinales) aumentan el riesgo de daño gástrico a largo plazo, ante esta situación, se hace necesaria la búsqueda de tratamientos preventivos.

El efecto gastroprotector de la infusión de *R. discolor* fue evidenciado por la disminución del índice de ulcera, el aumento en la viabilidad de las células de la mucosa estomacal, y el aumento del moco protector observado en el análisis histológico.

## Conclusiones

1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto de *R. discolor*, son principalmente alcaloides, taninos, quinonas, flavonoides, lactonas y terpenos.
2. El análisis histológico demostró que la ingesta de la infusión de *Rhoeo discolor* no causa daño a nivel estomacal además de que ayuda al aumento de la mucosa gástrica.



### Perspectivas

1. Se deben realizar estudios sobre los posibles efectos sinérgicos entre *Rhoeo discolor* y anti ulcerosos; así como interacciones medicamentosas.
2. Analizar los factores por los cuales los sujetos de experimentación bajaron de peso.
3. Se requieren más estudios con el objetivo de determinar y aislar los principios activos responsables de la actividad gastroprotectora; así como su mecanismo de acción.

### Referencias

- Gaibor D.V. (2014). Determinación de la actividad gastroprotectora de savia de Sande (*Brosimum utile*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con lesiones gástricas inducidas. Tesis de licenciatura para obtener el título de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
- Ángel D.O. (2003). Elucidación y Actividad Antimicrobiana de los Metabolitos Presentes en Maguey morado (Roheo discolor L. Hér Hance). Universidad de Colima. Tecomán Colima.
- Asokkumar K., Saikat S., Umamaheswari M., Sivashanmugam A. T., Subhadradevi V. (2014). Synergistic effect of the combination of gallic acid and famotidine in protection of rat gastric mucosa. *Pharmacological Reports* 66. 594–599
- Reyes-Munguía A., Azúara-Nieto E., Beristain C. I., Cruz-Sosa F., Vernon-Carter E. J. (2009). Propiedades antioxidantes del maguey morado (*Rhoeo discolor*) Purple maguey (*Rhoeo discolor*) antioxidant properties. *CyTA–Journal of Food*, 7: 209-216.
- Bielsa F.M. (2012). Aspirina y antiinflamatorios y sus efectos en el estómago. Asociación mexicana de gastroenterología.
- Carnat, A.P., Carnat, A., Fraisse, D., Lamaison, J. L., Heitz, A., Wylde, R., Teulade, J. C. (1998). Violarvensin, a New Flavone Di-C-glycoside from *Viola arvensis*. *J. Nat. Prod.*, 61: 272-274.
- Mendieta R.M., Amo Rodríguez Amo R. (1981). Plantas medicinales del estado de Yucatán (No. 1). Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Editorial CECSA, pag 423.
- Mota K. S., Días G. E., Pinto ME, Luiz F. A., Souza B.A., Hiruma L. C., Barbosa F. J., Batista L.M. (2009). Flavonoids with gastroprotective activity. *Molecules* 14: 979-1012.
- Pharm B. S, Ahmad M. A., Mohd A. (2011). Mohd Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview. *J.Pharm Bioallied. Sci.*, 3: 361-7.
- Sen S, Chakraborty R. (2011). The role of antioxidants in human health. In: Silvana, Hepel M, editors. *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy*. Washington DC: American Chemical Society; 1–37.
- Sharapin N. y col., (2000). Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá D.C.: Convenio Andrés Bello (CAB) y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). 7ª. ed., Bogotá-73 Colombia., En Pinzón S, editor. 248.
- Wolfe M.M., Lichtenstein D.R., Singh G. (1999). *Gastrointestinal Toxicity of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs*. 13ª. ed., *N Eng. J Med*. 1888-1889
- Miranda M. A. O., Velázquez D., Bermúdez, A. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 30: 453-459.
- Sánchez J. (2006). Tres esquemas terapéuticos para erradicar *Helicobacter pylori*, en un grupo de pacientes con gastritis crónica y dispepsia. *Revista Científica*, 73 No 1. *Rev. Hosp. Jua. Mex.* 16-21.
- Valenzuela M. B.; M. Mendiúña Guillen. Maghidman, S. Bussalleu, A. (2001). GASTRITIS. Principales Desórdenes. 497-506 [20 Hallazgos histopatológicos en la gastritis nodular: Experiencia en el Hospital Nacional Cayetano Heredia. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 21: 261-270.
- Ramirez R. A.; Gilman R. H. (2000). *Helicobacter pylori* en el Perú. Capítulo VIII. B. Gastritis, pp. 129-134.