

## Evaluación del efecto antioxidante y antibacteriano de extractos de *Costus pulverulentus* en modelos *in vitro*

FLORES-MONTOYA, Asdrúbal†, OLVERA-GONZÁLEZ, Vicente, REYES-MUNGÍA, Abigail y LEÓN-BUITIMEA, Angel\*

Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca-Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Recibido Agosto 13, 2015; Aceptado Enero 28, 2016

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antioxidante y antibacteriano de extractos de *Costus pulverulentus* (CP) en modelos *in vitro*. El contenido de polifenoles de los extractos fue determinado por el método de Folin-Ciocalteu. La actividad antioxidante fue determinada por el ensayo de DPPH. La actividad antibacteriana fue determinada por el método de dilución en agar en bacterias Gram-negativas obtenidas de pacientes con infecciones de vías urinarias. Los extractos del tallo de CP mostraron una fuerte actividad antioxidante. El extracto hidroalcohólico mostró el mayor efecto de inhibición del crecimiento bacteriano en las cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*. Nuestros resultados sugieren que *Costus pulverulentus* es una Fuente potencial de agentes antioxidantes y antibacterianos. Estudios adicionales son necesarios para identificar los fitoquímicos presentes en la planta que son los responsables de la actividad farmacológica.

**Medicina tradicional, *Costus pulverulentus*, antioxidantes**

### Abstract

The objective of this study was to evaluate the antioxidant and antibacterial activity of extracts from *Costus pulverulentus* (CP) stem. The total phenolic content of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu. The antioxidant activity of the extracts were determined by the DPPH assay. Antibacterial activity was determined by the agar dilution method and tested in Gram-negative bacteria obtained from patients with urinary tract infections. The methanol and ethanol/water stem extracts of CP had strong antioxidant activity against all the free radicals investigated. The high phenolic content is correlated with the antioxidant activity of the extracts. The ethanol/water extract had the greatest bacterial growth inhibition against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis*. Our results suggest that *Costus pulverulentus* is a potential source of antioxidant and antibacterial agents. Further phytochemical analysis is required to isolate the elements of the plant that show the pharmacological activity.

**Traditional medicine, *Costus pulverulentus*, antioxidant**

**Citación:** FLORES-MONTOYA, Asdrúbal, OLVERA-GONZÁLEZ, Vicente, REYES-MUNGÍA, Abigail y LEÓN-BUITIMEA, Angel. Evaluación del efecto antioxidante y antibacteriano de extractos de *Costus pulverulentus* en modelos *in vitro*. Revista de Ciencias de la Salud. 2016. 3-6: 31-43

\*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: angel.leon@uaslp.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, hongos, virus y parásitos continúan siendo un importante problema de salud pública (Duraipandiyar *et al.*, 2012), debido a la relativa falta de medicamentos disponibles y a la aparición de la farmacorresistencia generalizada a los medicamentos existentes (Okeke *et al.*, 2005).

Cuando existe la presencia y multiplicación de microorganismos con invasión de los tejidos adyacentes que conforman el aparato genitourinario se hace referencia a una infección de vías urinarias (IVUs). Este padecimiento constituye un importante problema de salud que afecta a millones de personas cada año, siendo la segunda causa de infección más frecuente en los humanos, que es solo superada por las infecciones del tracto respiratorio (Álvarez, 2007).

En más del 95% de los casos, el agente etiológico más frecuente de IVUs, en ambos sexos, es la *Escherichia coli*; además se incluyen microorganismos como: *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* (Echeverría *et al.*, 2006).

El surgimiento reciente de resistencia bacteriana a los antibióticos tanto en hospitales como en la comunidad, constituye una circunstancia grave que amenaza con interrumpir la era de los antibióticos más frecuentemente utilizados en el tratamiento de las IVUs (Caicedo *et al.*, 2009).

Así mismo, en los últimos años numerosas publicaciones sugieren que las reacciones adversas producidas por los antibióticos son responsables de una mayor proporción de casos de lesión hepática (Tejada 2010).

Existen alternativas naturales ante los fármacos convencionales como lo es la fitoterapia, ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico (Montesdeoca, 2010). El interés actual en la medicina herbolaria y la búsqueda de opciones terapéuticas alternativas tienen sus raíces en una creciente insatisfacción hacia la medicina convencional, tanto por su falta de éxito en algunas enfermedades como por los efectos colaterales que ciertos medicamentos provocan. Un ejemplo de planta medicinal lo representa *Costus pulverulentus* (caña de puerco), una especie vegetal originaria de México y Centroamérica que pertenece a la familia *Costaceae*. En la medicina tradicional se utiliza para el tratamiento asociado a complicaciones con el mal de orín. Su vía de administración es oral, a través de infusiones, té o masticada, siendo el tallo la parte más usada de la planta (Martínez *et al.*, 2001).

Con base en lo anterior, se desarrolló el presente trabajo, cuyo objetivo fue evaluar la actividad antifúngica y antibacteriana de cuatro extractos de *Costus pulverulentus* en modelos *in vitro*.

## Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó en los Laboratorios de Ciencias Básicas I, Laboratorio de Microbiología, Laboratorio de Ciencias Biomédicas y Laboratorio de Farmacología y Toxicología de la Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

La metodología se dividió en 4 partes: 1) Preparación de los extractos, 2) Evaluación del contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante, 3) Evaluación del efecto antifúngico y 4) Evaluación del efecto antibacteriano.

## Material vegetal

El tallo con hojas de *Costus pulverulentus* fueron recolectados en la comunidad de Ignacio Allende (21° 37' 5" N y 99° 1' 51") perteneciente al municipio de Aquismón S.L.P. Los criterios utilizados para la selección del lugar de recolección fueron:

- A) Que fuera un lugar endémico de la planta.
- B) Que estuviera alejada de casa o jardines donde pudiese ser regada o tratada con fertilizantes químicos.

El material vegetal fue envuelto en papel absorbente y trasladado hasta la UAMZH para su posterior procesamiento. Antes de iniciar el procesamiento del material vegetal se registró el peso total del mismo. Las hojas fueron eliminadas de los tallos y éstos fueron cortados en trozos pequeños y se pesaron nuevamente. El proceso de secado consistió en someter el material vegetal a secado a la sombra, a temperatura ambiente durante 15 días. Dado el alto contenido de agua en el tallo fue necesario extender el periodo de secado por 10 días más. Una vez seco, el material vegetal se pulverizó con ayuda de una licuadora doméstica (Osterizer Classic model: 450-10) hasta obtener un polvo fino y homogéneo. Las muestras pulverizadas fueron almacenadas a temperatura ambiente en bolsas de plástico previamente rotuladas y posteriormente selladas.

## Preparación de los extractos

Se utilizó la técnica de percolación continua (modificado de Swami *et al.*, 2008). El material vegetal, previamente secado y pulverizado, fue percolado con los disolventes hexano, diclorometano, etanol y una solución hidroalcohólica al 70%. El percolador está formado por un embudo de separación el cual esta sostenido por un soporte universal. Debajo del embudo se coloca un matraz Erlenmeyer en el cual se recogerá el extracto planta/solvente.

La técnica de percolación consiste en colocar en el embudo de separación un tapón de algodón en el fondo. Después se colocan 40 g de material vegetal, previamente pulverizado. A continuación se agrega el solvente de manera continua y se deja gotear de manera lenta (20 gotas por minuto aproximadamente). La extracción termina cuando el solvente deja de tener color. Al término de la percolación la mezcla se coloca en un vaso de precipitado y se concentra a sequedad del solvente en una campana de extracción (Marca Lab Tech modelo LFH-120SCI). El extracto obtenido se mantuvo en refrigeración a 4°C hasta la evaluación biológica. El procedimiento se repite con cada uno de los solventes (en el siguiente orden: hexano, diclorometano y metanol) y con el mismo material vegetal. Para el extracto hidroalcohólico, se utilizó nuevo material vegetal previamente seco y pulverizado, empleando el mismo proceso aquí planteado.

## Determinación del contenido de polifenoles totales

El análisis se realizó conforme a la metodología de Folin-Ciocalteu. Brevemente, la prueba consiste en tomar 1 mL de la muestra, la cual se coloca en un tubo de ensayo, posteriormente se agregan 5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10, se dejó reposar durante 7 min y se adicionaron 4 mL de la solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7.5 %, cubriendo los tubos con papel aluminio para protegerlos de la luz y se incubó durante 2 h a temperatura ambiente. Enseguida se leyeron las absorbancias de las soluciones a 740 nm en un espectrofotómetro UV/visible de mono haz Thermo Scientific Aqua Mate Plus. Los resultados fueron expresados como miligramos de equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG/L).

## Evaluación de la capacidad antioxidante

### Porcentaje de inhibición de radicales libres (DPPH•)

La actividad antioxidante de los extractos se midió de acuerdo con la metodología descrita por Brand, *et al.*, (1995) a través de la inhibición del radical estable 2, 2 difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) que en soluciones etanólicas presenta una coloración violeta con una absorbancia máxima a una longitud de onda de 515 nm y que una vez que reacciona con un antioxidante, éste se reduce y su absorción desaparece. Se colocaron 3 mL de una solución metanólica de DPPH•  $6.1 \times 10^{-5}$  M y se hizo reaccionar con 0.1 mL del extracto de cada una de las muestras en estudio; la mezcla se dejó reaccionar en oscuridad y se monitoreó el cambio en la absorbancia en un espectrofotómetro UV/visible de mono haz (Thermo Scientific Aqua Mate Plus), de las muestras por un periodo de 30 minutos cada 5 minutos a 25°C. El porcentaje de inhibición DPPH• se obtuvo con ayuda de los datos obtenidos durante la reacción; para esto se usó la ecuación 1). Donde A: es la absorbancia medida.

$$\% \text{ inhibición de DPPH} \bullet = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (1)$$

### Evaluación antibacteriana

Para la evaluación bactericida, las cepas utilizadas fueron de *E.coli*, *P. mirabilis* y *K pneumoniae*. Las bacterias fueron donadas por el Laboratorio Clínico del Hospital B ISSSTE de Cd. Valles, S.L.P., las cuales fueron aislados clínicos de urocultivos de pacientes con IVUs. Las bacterias fueron cultivadas en caldo Muller Hinton a una temperatura de 37°C a una agitación de 150 rpm durante 24 horas.

Previo al ensayo, las cepas fueron cultivadas en placas de agar McConkey. Se incubaron a 37°C durante 24 horas.

En tubos de ensayo se colocaron 900 µl de caldo Mueller Hinton, posteriormente se agregó el tratamiento con las diferentes concentraciones (1000 µg/ml, 100µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml, 0.1 µg/ml y 0.01 µg/ml), de los extractos a probar. Se incluyó un control negativo sin tratamiento y un control positivo de Trimetoprim/sulfametoxazol (10 µg/ml) para *E. coli* y (16 µg/ml) para *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*. Las colonias crecidas en el medio se transfirieron a un tubo con 3 mL con solución salina al 0.85% hasta alcanzar una turbidez similar al 0.5 de la escala de Mac Farland. Posteriormente se agregaron 10 µl de la suspensión bacteriana a cada tubo de ensayo con el medio de cultivo y el tratamiento correspondiente. Los tubos fueron incubados a 37°C durante 18-24 horas. El experimento se realizó por triplicado. Después del periodo de incubación, se sembraron 50µL de cada suspensión bacteriana en placas de agar McConkey mediante estriado continuo y se incubaron nuevamente durante 24 horas más a 37°C; se incluyó un control de esterilidad. Finalizada la incubación se cuantificaron las UFC en cada caja.

### Análisis estadístico de los resultados

Los resultados obtenidos en cada experimento fueron analizados mediante los programas estadísticos SigmaPlot 12.0 y Statistica 8. Las diferencias estadísticas fueron determinadas mediante un análisis de varianza de una vía (ONE-WAY ANOVA) seguido por un prueba post hoc de Tukey. Un valor de  $p \leq 0.05$  se consideró como estadísticamente significativo.

### 3. Resultados y discusión

Para la obtención de los extractos de *Costus pulverulentus* fue utilizado el método de percolación. Del material vegetal recolectado sólo se utilizó el tallo, el cual fue secado y pulverizado como se describió anteriormente.

Los pesos obtenidos del material vegetal se muestran a continuación:

Material vegetal	Peso (g)
Planta con hojas	5200
Tallo	3630
Material seco	430

**Tabla 1** Pesos (g) de *Costus pulverulentus* después de la recolección, secado y pulverizado

Después de la extracción con los diferentes solventes, éstos fueron evaporados hasta sequedad en una campana de extracción. Los pesos de cada uno de los extractos se muestran a continuación:

Extracto	Peso (g)	Rendimiento
Hexánico	0.8	1%
Diclorometánico	1.6	2%
Metanólico	2.8	3.5%
Hidroalcohólico	5.2	6.5%

**Tabla 2** Pesos (g) de cada extracto de *Costus pulverulentus* después de la extracción y evaporación de cada solvente a partir de 80 g de material seco

De acuerdo con la Tabla 2, el extracto hidroalcohólico tuvo mayor rendimiento después de la extracción. Esto se debe a que este extracto se constituye de una combinación de solventes (agua-etanol) lo que permite extraer metabolitos con polaridad intermedia y alta. (Sepúlveda *et al.*, 2014).

El extracto metanólico, diclorometánico y hexánico obtuvieron menores rendimientos respectivamente en comparación del extracto hidroalcohólico.

Diversos reportes indican que los metabolitos secundarios constituyen una fuente de compuestos con propiedades medicinales importante en las preparaciones farmacéuticas los cuales han sido aislados a partir de diferentes partes de las plantas (Adeshina *et al.*, 2012).

Una vez obtenidos los diferentes extractos de *Costus pulverulentus*, y con la finalidad de conocer el contenido de los posibles principios activos presentes, se determinó el contenido de polifenoles totales, dado que se ha reportado su gran potencial como antioxidante, antidiabético, anticancerígeno, antimicrobiano, antialérgico, y antiinflamatorio (Prabhu *et al.*, 2011).

La capacidad de los polifenoles para modular la actividad de diferentes enzimas, para interferir en mecanismos de señalización y en distintos procesos celulares, fundamentan sus atribuciones farmacológicas. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario (Quiñonez, 2012); y según los solventes utilizados durante la extracción estaría presentes en los diferentes extractos.

En la Tabla 3 se observa el contenido de polifenoles totales en diversos extractos del tallo de *Costus pulverulentus*. El valor obtenido en el extracto hexánico fue de 199.13 mg EAG/L; en el extracto metanólico de 358.78 mg EAG/L; y en el extracto hidroalcohólico se obtuvo un valor de 335.31 mg EAG/L. Todos los extractos de *Costus pulverulentus* presentaron un valor por debajo de lo reportado con el té verde y el té negro (2083 y 1844 mg EAG/L respectivamente) por Almajó y col. (2008).

Los compuestos químicos de las hojas de té incluyen polifenoles, alcaloides, lípidos y elementos inorgánicos, sin embargo, lo polifenoles son los principales responsables de actividades beneficiosas como antiinflamatorias, antialérgicas y antimicrobianas (Sharangi, 2009). El té ya sea verde o negro es una bebida de gran consumo y muchos de sus componentes se asocian con beneficios para la salud, al contener una alta concentración de catequinas y de polifenoles.

Los efectos del té se asocian principalmente a la acción antioxidante de sus componentes, los que al actuar como atrapadores de especies reactivas del oxígeno protegen la estructura de los ácidos nucleicos, de las proteínas y de los lípidos (Valenzuela, 2004), por lo que se utilizó como parámetro de comparación con los extractos de *Costus pulverulentus*.

Extracto	Contenido de fenoles (mg EAG/L)	Referencia
Hexánico (10mg/ml)	199.13	Presente estudio
Metanólico(10mg/ml)	358.78	
Hidroalcohólico(10mg/ml)	335.31	
Diclorometánico	No ensayada	
Té verde	2083	Almajo <i>et al.</i> , 2008
Té negro	1844	Almajo <i>et al.</i> , 2008

**Tabla 3** Contenido de polifenoles totales (Folin-Ciocalteu) en los extractos de *Costus pulverulentus*

A pesar de no encontrarse reportes en la literatura del contenido de polifenoles totales de *Costus pulverulentus*, existen estudios sobre el uso de otras plantas del mismo género, como lo reportado Majumdar y Parihar, (2012) al evaluar los extractos metanolicos de hoja, tallo, raíz y flor de *Costus pictus* y obteniendo valores de 148.67, 148.33, 228.33 y 233.83  $\mu\text{g}$  EAG/g., Anyasor *et al.*, (2010) reportó que el contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico de las hojas de *Costus afer* fue de 0.54 mg EAG/L, respectivamente. Jha *et al.*, (2010) evaluó el extracto metanólico del rizoma de *Costus speciosus* y determinó que el contenido de polifenoles totales fue de 93.95 mg EAG/g. Jeetendra *et al.*, (2010) estudió el extracto de ciclohexano del rizoma de *Costus speciosus*, en donde se reportó que el contenido de polifenoles totales fue de 0.66 % EAG. Además, Anyasor *et al.*, (2010) determinó que el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de las hojas de *Costus afer* era de 0.66 mg EAG/L.

Las diferencias entre la cantidad de compuestos polifenólicos presentes en cada extracto son probablemente debidas a la polaridad de cada solvente con el que fue extraído. Sin embargo, los resultados de la presente investigación sugieren que *Costus pulverulentus* puede ser utilizado como una fuente alternativa de antioxidantes. Los compuestos fenólicos son considerados como los antioxidantes más importantes de la materia vegetal (Sulaiman *et al.*, 2011). Como antioxidantes, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causado por los radicales libres (Martinez *et al.*, 2002); de ahí la importancia de evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de *Costus pulverulentus*.

Extracto	Inhibición del radical DPPH (%)	Referencia
Hexánico (10mg/ml)	18.36	Presente estudio
Metanólico(10mg/ml)	62.54	
Hidroalcohólico(10mg/ml)	72.94	
Diclorometánico	No determinada	
Té verde	90.8	
Té negro	81.7	Von Gadow <i>et al.</i> , 1997

**Tabla 4** Porcentaje de inhibición del radical DPPH de los extractos de *Costus pulverulentus*

El ensayo de DPPH es conocido por dar información fiable sobre la capacidad antioxidante de los compuestos ensayados (Majumdar y Parihar, 2012). Durante los ensayos con *Costus pulverulentus*, en el extracto hexánico el valor observado fue de 18.36 %; en el extracto metanólico de 62.54 %; y en el extracto hidroalcohólico se obtuvo un valor de 72.94%. Por otro lado, el valor observado por Von Gadow *et al.*, (1997) para el té verde comercial fue de 90.8% y 81.7% para el té negro.

Los extractos hidroalcohólico y metanólico tuvieron un mayor porcentaje de inhibición del radical de DPPH, esto podría ser debido a su mayor contenido de polifenoles en comparación con el extracto hexánico.

Existen estudios donde se observó la capacidad antioxidante de otras plantas del género *Costus*. Jeetendra *et al.*, (2010) evaluaron la capacidad antioxidante del extracto ciclohexánico del rizoma de *Costus speciosus* y mostraron que tuvo un 50% de inhibición del radical DPPH. Majumdar y Parihar, (2012) determinaron las propiedades antioxidantes del extracto metanólico de tallo de *Costus pictus* y obtuvieron un 69% de inhibición del radical; Anyasor *et al.*, (2010) obtuvieron una inhibición del 67.14% del radical con el extracto metanólico de las hojas de *Costus afer* 100 µg/ml. Jha *et al.*, (2010) obtuvieron con el extracto metanólico del rizoma de *Costus speciosus* una inhibición del radical del 82.88%. Además Jayasri *et al.*, (2008) reportaron el porcentaje de inhibición del radical DPPH, con el extracto acuso de hoja y rizoma de *Costus pictus* a la concentración de 400 µg/ml del 78.2% y 76.1%, respectivamente, así mismo, con el extracto etanólico de las mismas partes de la planta y a la misma concentración, los resultados fueron de 64% y 66%, respectivamente. Jagtap y Satpute (2014) observaron que la inhibición del radical con el extracto acuoso del rizoma de *Costus speciosus* fue de 9.98%; y Anyasor *et al.*, (2010) con el extracto acuso de las hojas de *Costus afer* (100 µg/ml) obtuvo un 68.04% en la inhibición del radical DPPH.

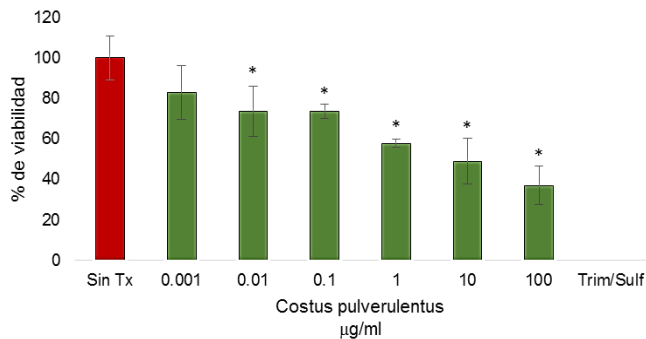
Los resultados de este estudio sugieren que el extracto de *Costus pulverulentus* contiene constituyentes fitoquímicos tales como los polifenoles que son capaces de donar hidrógeno a un radical libre para captar el daño potencial (Saeed *et al.*, 2012).

La mayoría de los compuestos antioxidantes de las plantas son metabolitos secundarios como compuestos fenólicos que han sido reportados como eliminadores potentes de radicales libres (Mathew y Abraham, 2006); además de poseer otros atributo funcionales como antimicrobiano, antiinflamatorio, antimutagenico, hipocolesteremio y antiplaquetario (Bhatt y Negi, 2012). Debido a lo anterior, se evaluó la actividad antifúngica y antibacteriana de los extractos de *Costus pulverulentus* en modelos *in vitro*.

De acuerdo a su uso etnomédico, *Costus pulverulentus* es empleado para el mal de orin cuyas principales manifestaciones son la micción frecuente, dolorosa y con ardor, según la biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana, (2009). A pesar de que no existen estudios en la literatura donde se reporte la actividad bactericida de *Costus pulverulentus*, se encuentran investigaciones de plantas de su mismo género en donde se reportan las actividades antimicrobianas de sus extractos, el cual está relacionado con el contenido de compuesto polifenolicos, por lo que su naturaleza polar sugiere que se encontrarían en mayor proporción en los extractos metanólico e hidroalcohólico, por lo cual se llevó a cabo la determinación de la actividad bactericida sólo para estos extractos.

La evaluación del efecto antibacteriano del extracto metanólico de *C. pulverulentus* se realizó en las enterobacterias: *E. coli*, *P. mirabilis*, y *K. pneumoniae* mediante el método de microdilución en tubo. El control positivo de trimetoprim/sulfametoxazol (10 µg/ml) para *E. coli* y (16 µg/ml) para *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*, como se esperaba, inhibió aproximadamente el 100% del crecimiento bacteriano.

Los resultados obtenidos se muestran en el Gráfico 1. El extracto metanólico de *C. pulverulentus* inhibió la viabilidad de la cepa de *E. coli* un 27% en la concentración de 0.01 µg/ml, 27% en 0.1 µg/ml, 43% en 1 µg/ml, 52% en 10 µg/ml y 63% en 100 µg/ml, comparado con el grupo control sin tratamiento ( $p < 0.05$ ), observándose un efecto concentración-dependiente.



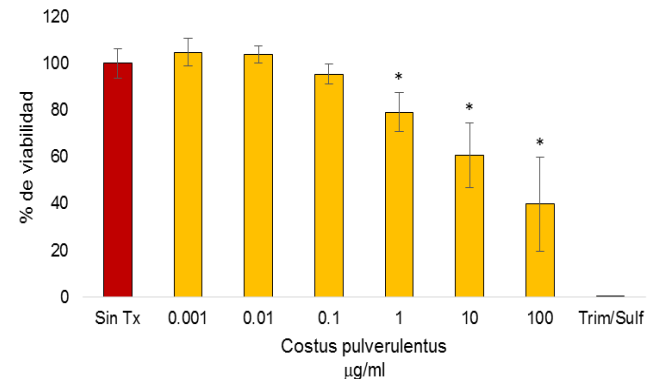
**Gráfico 1** Efecto del extracto metanólico de *C. pulverulentus* sobre la bacteria de *E. coli*. El análisis del porcentaje de viabilidad se realizó 24 horas después de la siembra. \*  $p \leq 0.05$  comparado con el control sin tratamiento

La evaluación antibacteriana del extracto metanólico de *C. pulverulentus* sobre la enterobacteria *P. mirabilis* se muestra en el Gráfico 2.

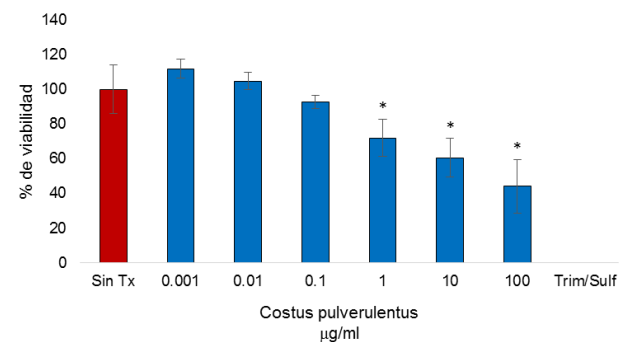
Como se puede observar, el extracto no mostró efecto sobre la viabilidad bacteriana en las concentraciones de 0.001 a 0.1 µg/ml; sin embargo, a partir de 1 µg/ml se observó una disminución de la viabilidad de manera concentración dependiente.

En 1 µg/ml el efecto inhibitorio fue del 21%; en 10 µg/ml del 40% y en 100 µg/ml del 61% ( $p < 0.05$ ). En el Gráfico 3 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación del efecto antibacteriano del extracto metanólico de *C. pulverulentus* contra la cepa de *K pneumoniae*.

Como se puede observar, el extracto inhibió la viabilidad de la bacteria en un 56% en la concentración de 100 µg/ml, 40% en 10 µg/ml, y 28% en 1 µg/ml; sin embargo, en las concentraciones más bajas (0.1, 0.01, 0.001 µg/ml) no se observó inhibición del crecimiento en comparación con el grupo control sin tratamiento ( $p < 0.05$ ).



**Gráfico 2** Efecto del extracto metanólico de *C. pulverulentus* sobre la bacteria de *P. mirabilis*. El análisis del porcentaje de viabilidad se realizó 24 horas después de la siembra. \*  $p \leq 0.05$  comparado con el control sin tratamiento

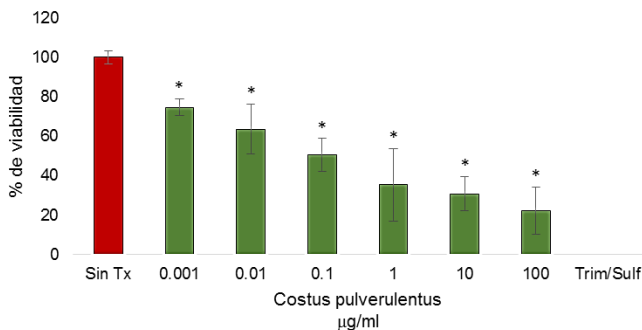


**Gráfico 3** Efecto del extracto metanólico de *C. pulverulentus* sobre la bacteria de *K. pneumoniae*. El análisis del porcentaje de viabilidad se realizó 24 horas después de la siembra. \*  $p \leq 0.05$  comparado con el control sin tratamiento

La evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* se realizó en las enterobacterias de *E. coli*, *P. mirabilis*, y *K. pneumoniae* mediante el método de microdilución en tubo.

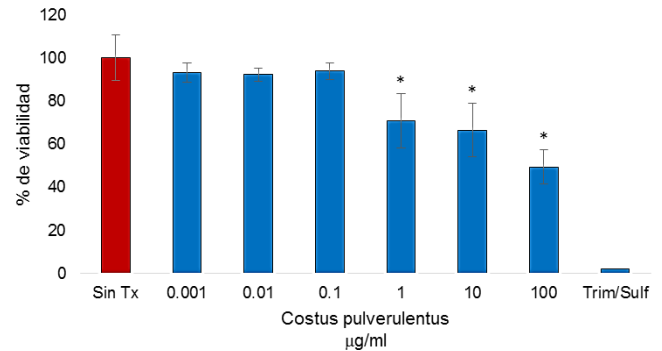


El control positivo fue trimetoprim/sulfametoxazol a 10 µg/ml para *E. coli* y 16 µg/ml para *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*. Como se esperaba, el fármaco inhibió aproximadamente el 100% la viabilidad de las bacterias. Los resultados obtenidos de la evaluación antibacteriana con el extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* sobre la bacteria *E. coli* se muestran en el Gráfico 4. Como se puede observar, el extracto inhibió la viabilidad de la cepa de *E. coli* de manera concentración dependiente. Desde la concentración más baja (0.001 µg/ml) se observó una disminución de la viabilidad de un 26%. Así mismo, en las concentraciones de 0.01, 0.1, 1, 10 y 100 µg/ml el efecto observado fue de 37, 50, 65 y 70%, respectivamente, ( $p < 0.05$ ), comparado con el grupo control sin tratamiento.



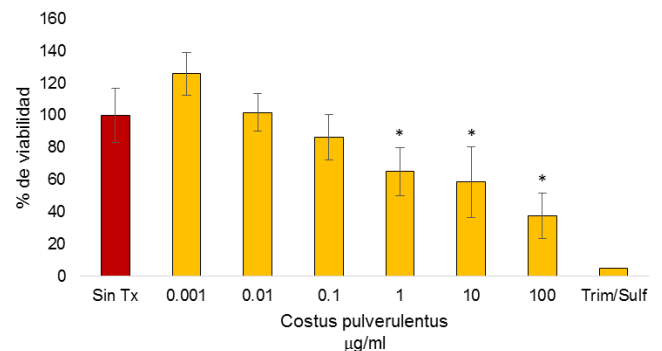
**Gráfico 4** Efecto del extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* sobre la bacteria de *E. coli*. El análisis del porcentaje de viabilidad se realizó 24 horas después de la siembra. \*  $p \leq 0.05$  comparado con el control sin tratamiento

En el Gráfico 5 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* contra *P. mirabilis*. Los resultados mostraron que el extracto inhibió la viabilidad de la bacteria en un 51% en la concentración más alta (100 µg/ml). Las concentraciones de 0.1, 0.01 y 0.001 µg/ml, no mostraron efecto antibacteriano, comparado con el grupo control sin tratamiento ( $p < 0.05$ ).



**Gráfico 5** Efecto del extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* sobre la bacteria de *P. mirabilis*. El análisis del porcentaje de viabilidad se realizó 24 horas después de la siembra. \*  $p \leq 0.05$  comparado con el control sin tratamiento

La evaluación antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* sobre la cepa de *K. pneumoniae* se muestra en el Gráfico 6. Como se observa, el extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* inhibió la viabilidad de la bacteria un 63% en la concentración de 100 µg/ml, 42% en 10 µg/ml, y 36% en 1 µg/ml. No se observó efecto antibacteriano en las concentraciones de 0.1, 0.01 y 0.001 µg/ml comparado con el grupo control sin tratamiento ( $p < 0.05$ ).



**Gráfico 6** Efecto del extracto hidroalcohólico de *C. pulverulentus* sobre la bacteria de *K pneumoniae*. El análisis del porcentaje de viabilidad se realizó 24 horas después de la siembra. \*  $p \leq 0.05$  comparado con el control sin tratamiento.

Como se observó, el extracto metanólico de *Costus pulverulentus* fue activo contra las cepas bacteriana ensayadas a partir de la concentración de 1 µg/ml en *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*; y en todos los grupos tratados de *E. coli*; por otro lado, el extracto hidroalcohólico inhibió la viabilidad de las cepas a partir de la concentración de 0.1 µg/ml para *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*, mientras que para *E. coli* se observó este efecto en todos los grupos de manera concentración-dependiente.

Las actividades antibacterianas de los extractos de plantas han sido relacionados con la presencia de algunos compuestos bioactivos o metabolitos secundarios como puede ser lo compuestos fenólicos. Estos metabolitos secundarios proporcionan protección a las mismas plantas contra bacterias, infecciones fúngicas y virales (Wintola y Afolayan, 2015). Los mecanismos por los que se pueden inhibir el crecimiento de microorganismos son variados tales como la inhibición de la síntesis de proteínas o ácidos nucleicos; y pueden ser debido en parte a la naturaleza hidrófoba de algunos componentes extraídos. Estos compuestos pueden interactuar con la bicapa lipídica de la membrana celular y afectar a la cadena respiratoria y la producción de energía (Nicholson *et al.*, 1999), o incluso hacer que la célula sea más permeable a los antibióticos, lo que conduce a la interrupción de la actividad celular vital (Burt, 2004). El efecto en la inhibición de la viabilidad de las cepas puede estar asociado al tipo de solvente utilizado para este ensayo, ya que etanol tiende a arrastrar gran cantidad de compuestos polares como compuestos polifenólicos, por ejemplo, los taninos y flavonoides, en los que se han reportado propiedades antimicrobianas, destacándose la acción de inhibir la síntesis de la pared celular o a su vez inhibir la síntesis de ADN o ARN (Villacís, 2009).

Existen diversos estudios en los que se ha evaluado el efecto antibacteriano de otras especies del género *Costus*; sin embargo, no hay reportes en la literatura sobre *Costus pulverulentus*. Majumdar *et al.*, (2012) evaluaron la capacidad antibacteriana del extracto metanólico del tallo de *Costus pictus*, observando una concentración mínima inhibitoria de 30 y 35 µg/ml para las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* respectivamente. Cunha *et al.*, (2011) reportó una concentración mínima inhibitoria para los extractos etanólicos de tallo y hoja de *Costus arabicus* mayor a 1024 µg/ml y 512 µg/ml respectivamente contra la cepa de *E. coli*. Por lo tanto, este es el primer reporte en donde se muestra la capacidad antibacteriana de los extractos polares de *Costus pulverulentus* en bacterias de interés clínico.

## Conclusiones

El contenido total de polifenoles en los extractos de *Costus pulverulentus* fue mayor a lo reportado para otras especies del genero *Costus* y su capacidad antioxidante estuvo relacionada con el contenido de dichos polifenoles.

Los extractos polares de *Costus pulverulentus* mostraron una buena actividad antibacteriana en enterobacterias de interés clínico lo cual representa un alto potencial para el desarrollo de alternativas terapéuticas de infecciones producidas por dichos agentes patógenos.

## Agradecimientos

Al personal de apoyo técnico del Laboratorio de Desarrollo de Productos Alimenticios y Laboratorio de Ciencias Básicas I.

## Referencias

- Adeshina GO, Kunle OF, Onaolapo JA, Ehinmidu JO, Odama LE. (2012). Phytochemical and antibacterial studies of the hexane extract of *Alchornea cordifolia* leaf, phytochemicals as nutraceuticals - global approaches to their role in nutrition and health. Dr. Venketeshwer (Ed). ISBN: 978-953-51-0203- 8.
- Almajo MP, Carbo R, Lopez JJA, Gordon MH. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*. 108:55–63.
- Alvarez-Barranco BLC. (2007). Infecciones de vías urinarias en el Hospital Universidad del Norte. *Salud Uninorte*. Barranquilla (Col). 23(1):9-18.
- Anyasor GN, Ogunwenmo KO, Oyelana OA, Akpofunure BE. (2010). Phytochemical constituents and antioxidant activities aqueous and methanol stem extracts of *Costus afer* Ker Gawl. (Costaceae). *Afr. J. Biotechnol.* 9(31): 4880-4884.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). UNAM. México.
- Bhatt P, Negi PS. (2012). Antioxidant and Antibacterial Activities in the Leaf Extracts of Indian Borage (*Plectranthus amboinicus*). *Food and Nutrition Sciences*. 3:146-152.
- Brand WW, Cuvelier ME, Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28, 25-30.
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol.* 94:223–253.
- Caicedo PS, Martinez MT, Meneses DE, Joaqui Wilson G, Imbachí IR, Mahe PDA, Ramirez E. (2009). Etiología y resistencia bacteriana en infección de vías urinarias en el Hospital Universitario San José de Popayán, Colombia entre enero y diciembre de 2008. *Revista Urología Colombiana*. 18(3):45-52.
- Cunha BF, Matias EF, Brito SV, Ferreira, FS, Braga JM, Costa JG, Coutinho HD. (2011). In vitro antibacterial, phototoxic, and synergistic activity of ethanol extracts from *Costus cf. arabicus* L. *J Med Food*. 14 (9):964–968.
- Duraipandiyar V, Abdullah Al-Harbi N, Ignacimuthu S, Muthukumar C. (2012). Antimicrobial activity of sesquiterpene lactones isolated from traditional medicinal plant, *Costus speciosus* (Koen ex.Retz.) Sm. *BMC Complement Altern Med*. 7;12.13.
- Echevarría, Z. J., Sarmiento, A. E., Osoreo, P. F. (2006). Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta Med Per*. 23(1):26-31.
- Jayasri MA, Gunasekaran S, Radha A, Mathew TL. (2008). Anti-diabetic effect of *Costus pictus* leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Diabetes & Metabolism*.6:117-122.
- Jha MK, Alam MB, Hossain MS, Islam A (2010). In vitro antioxidant and cytotoxic potential of *Costus speciosus* (Koen.) Smith rhizome. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 1(10):138-144.
- Jagtap S, Satpute R. (2014). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Rhizome Extracts of *Costus speciosus* (Koen.) J.E. Smith. *J. Acad. Indus. Res (JAIR)*. 3:40-47.
- Jeetendra N, Bhatia M, Narkhede M. (2010). In-vitro Evaluation of Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Costus speciosus* (Koen) J.E. Sm. *Iran J Pharm Res*. 9 (3): 271-277.

- Majumdar M, Parihar PS. (2012). Antibacterial, antioxidant and antiglycation potential of *Costus pictus* from Southern region, India. *Asian J. Plant Sci. Res.* 2(2):91-101.
- Martínez MA, Evangelista OV, Mendoza CM, Morales GG, Toledo OG, Wong LA. (2001). Catálogo de plantas útiles de la sierra norte de Puebla, México. Instituto de Biología. Universidad Autónoma de México. México.
- Martínez FS, González GJ, Culebras JM, Tuñón MJ. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp.* 17(6):271-278.
- Mathew S, Abraham TE. (2006). In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chemistry and Toxicology.* 44(2):198-206.
- Montesdeoca RVG. (2010). Elaboración y control de calidad de comprimidos fitofarmacéuticos de ajeno (*Artemisia absinthium L.*), romero (*Rosmarinus officinalis L.*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*) para combatir la menstruación dolorosa. Tesis de grado previa la obtención del título de bioquímico farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.
- Nicolson K, Evans G, O'Toole PW. (1999). Potentiation of methicillin activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by diterpenes. *FEMS Microbiol Lett.* 179:233-239.
- Okeke IN, Laxmaninarayan R, Bhutta ZA, Duse AG, Jenkins P, O'Brien TF, Pablos-Mendez A, Klugman KP. (2005). Antimicrobial resistance in developing countries. Part 1: recent trends and current status. *Lancet Infect Dis.* 5:481-493.
- Prabhu K, Karar PK, Hemalatha S, Ponnudurai K. (2011). A comparative preliminary phytochemical screening on the leaves, stem and the roots of three *Viburnum Linn. Species.* *Der Pharmacia Sinica.* 2 (3): 81-93.
- Quiñonez M, Miguel M, Aleixandre A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* 27(1):76-89.
- Saeed N, Khan MR, Shabbir M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla L.* *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 12:221.
- Sepúlveda RB, Haro IR, Castillo MS. (2014). Efecto del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa in vitro.* *REBIOLEST.* 2(1):e22.
- Sharangi AB. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis L.*) – A review. *Food Research International.* 42:529-535.
- Sulaiman SF, Yusoff NAM, Eldeen IM, Seow EM, Sajak AAB, Supriatno OKL. (2011). Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa sp.*). *J Food Compost Anal.* 24:1-10.
- Swami, H. S., Singh, K. S. P., Longo, G., Dutt, R. D. (2008). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Center for Science and High Technology.
- Tejada CF. (2010). Hepatotoxicidad por fármacos. *Rev Clin Med Fam.* 3(3):177-191.
- Valenzuela BA. (2004). El consumo té y la salud: características y propiedades beneficiosas de esta bebida milenaria. *Rev Chil Nutr.* 31(2):72-82.

Villacís, J. (2009). Temas de Medicina Natural: Fitomedicina. Ambato: Ed. Universidad Técnica de Ambato.

Von Gadow, A., Joubert, E., Hansmann, C. F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with Green, oolong and black tea. Food Chemistry. 60(1):73-77.

Wintola OA, Afolayan AJ. (2015). The antibacterial, phytochemicals and antioxidants evaluation of the root extracts of *Hydnora africana* Thunb used as antidysenteric in Eastern Cape Province, South Africa. BMC Complementary and Alternative Medicine.15:307.