

# Extracto de *Costus spicatus* y su aplicación como inhibidor de microorganismos

Ma. Dolores Castañeda-Antonio<sup>1</sup>, María Guadalupe Ibarra-Cantu<sup>2</sup>, José Antonio Rivera-Tapia<sup>1\*</sup>, Roberto Portillo-Reyes<sup>2</sup>, Jesús Muñoz-Rojas<sup>1</sup>, Ricardo Munguía-Pérez<sup>1</sup> y Fernando Hernández-Aldana<sup>3</sup>

Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas<sup>1</sup>, Facultad de Ciencias Químicas<sup>2</sup>, Centro de Química<sup>3</sup>  
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
Puebla, Pue.; México  
jart70@yahoo.com\*

**Abstract**— The present investigation allowed to determine the inhibitory capacity of the extract of *Costus spicatus* against *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Extracts of *Costus spicatus* were made using extraction methods (maceration, soxhlet method and infusion-liquid-liquid extraction), the extract obtained was analyzed by the gas chromatography coupled to mass spectrometry technique that is designed to evidence the present compounds, In this way the activity of these compounds can be known from the literature, with the help of the agar diffusion method Kirby-Bauer the inhibitory effect was verified. *Costus spicatus* possesses antimicrobial property both the extract obtained by maceration and the extract obtained with hexane demonstrated the inhibitory capacity against evaluated microorganisms.

**Key words** - Extracts, *Costus spicatus*, inhibition, bacteria

**Resumen**— La presente investigación permitió determinar la capacidad inhibitoria del extracto de *Costus spicatus* contra *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Se realizaron extractos de *Costus spicatus* mediante los métodos de extracción (maceración, método soxhlet e infusión-extracción líquido-líquido), el extracto obtenido se analizó mediante la técnica cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas que es diseñada para evidenciar los compuestos presentes, de esta manera se puede conocer la actividad de dichos compuestos mediante la bibliografía, con ayuda del método de difusión en agar Kirby-Bauer se comprobó el efecto inhibitorio. *Costus spicatus* posee propiedad antimicrobiana tanto el extracto obtenido por maceración y el extracto obtenido con hexano demostraron la capacidad inhibidora contra los microorganismos evaluados.

**Palabras clave** - Extractos, *Costus spicatus*, inhibición, bacteria

## I. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas como medicina tradicional es un fenómeno incidente en el mundo, siendo necesario diferenciar las actividades empíricas de la experimentación formal, sin menospreciar ninguna de las prácticas ancestrales. Entre estas plantas encontramos a *Costus spicatus* que es originaria de México y que se presenta en climas cálidos, semi-cálidos y templados, desarrollándose y creciendo con mejor apariencia cuando está bajo la sombra, dicha planta presenta una estructura con tallos sin ramificaciones, hojas ovaladas y en forma de espiga [1-3].

Varias investigaciones han propuesto la utilización de los extractos de *Costus spicatus* como un inhibidores de microorganismos que puedan presentar resistencia hacia el principio activo de algún antimicrobiano comercial, siendo que *Costus spicatus* ha registrado efecto inhibitorio contra diferentes microorganismos a partir de distintas partes de su estructura (hojas, tallo, flor y raíz). La actividad antibacteriana ha sido probada mediante ensayos donde se evaluó el extracto contra *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli* a una concentración de 150 mg/ml. Así también se ha reportado a *Costus spicatus* con propiedad similares a la insulina, esta actividad se ha demostrado mediante el extracto acuosa de la planta que induce la secreción de la insulina sin

estimulación de glucosa *in vitro* teniendo efecto sobre las células MIN6 e islotes de Langerhans [4-6], teniendo un mayor efecto en combinación con *Solanum nigrum*, lo que permite sugerir que estas plantas se pueden utilizar como agentes suplementarios en los casos de diabetes mellitus ya que también se ha demostrado que restaura los niveles de glucosa en sangre [7]. Se ha reportado que dentro de su composición fitoquímica de esta planta contiene cianidin, camferol, delfinidin, flavonoides y quercetina, teniendo aplicaciones como antioxidante, antiinflamatorio, antiepiléptico, anticancerígeno, antiespasmódico y diurético [8].

Los extractos se realizan por medio de los métodos de maceración, método soxhlet e infusión-extracción líquido-líquido, siendo la técnica cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas la destinada para evidenciar los compuestos presentes en dichos extractos y de esta manera se ha facilitado conocer su actividad, y por medio del método de dilución en agar (Kirby-Bauer) se comprueba el efecto inhibitorio. La caracterización de los diferentes extractos de *Costus spicatus* ha permitido la identificación de compuestos como N-[4-bromo-n-butil]-2-piperidona y 4-nitro-1H-Imidazol que poseen actividad antimicrobiana, así como compuestos con actividad antifúngica como son 2H-piran-2-ona y 5-metil-2-furfural; a los que pueden atribuir la capacidad inhibitoria de *Costus spicatus* [9-12]. La presente investigación tuvo como objetivo determinar la capacidad inhibitoria del extracto de *Costus spicatus* contra *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### Obtención de extractos

La planta *Costus spicatus* se obtuvo en el municipio de Huauchinango, Puebla y fue identificada por el curador del Jardín Botánico de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (No. de identificación 62937). La obtención del extracto se llevó a cabo mediante los métodos de maceración, método soxhlet e infusión-extracción líquido-líquido, exponiendo el material vegetal hacia los solventes metanol, hexano y diclorometano, evaluando diferentes concentraciones del extracto (Tabla I).

### Análisis cromatográfico

Los extractos obtenidos se analizaron en el cromatógrafo de gases 7890 Agilent Technologies, acoplado a un espectrómetro de masas. Para lo cual se inyectó 1 µL de cada extracto bajo las siguientes condiciones cromatográficas: uso de una columna DB-5MS, de 0.5µm\*30m\*0.25µm DI, temperatura del inyector 180°C, temperatura del detector 220°C, con una rampa que inicia 56°C/1 min, 10°C/1 min, 196°C/1 min, 20°C/1 min, 260°C/5 min.

### Evaluación antimicrobiana del extracto

*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* fueron los microorganismos utilizados para evaluar la actividad inhibidora del extracto mediante el método de difusión en agar Kirby-Bauer.

Tabla I. Concentración de diluciones del extracto.

Diluciones	Concentraciones		
	Extracto metanólico	Extracto hexánico	Extracto por infusión
Extracto directo	26.9g/l	0.841g/l	3.533g/l
1:2	13.45g/l	0.42g/l	1.76g/l
1:4	6.72g/l	0.21g/l	0.883g/l
1:8	3.36g/l	0.105g/l	0.44g/l
1:16	1.68g/l	0.052g/l	0.22g/l
1:32	0.84g/l	0.026g/l	0.11g/l
1:64	0.42g/l	0.013g/l	0.055g/l

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas confirmó la presencia de compuestos en el extracto de *Costus spicatus* con propiedad antimicrobiana entre otras propiedades que podrían proporcionar diversos beneficios en salud pública. Entre estos compuestos se presentó N-2-(4-bromo-n-butil) y 4-nitro-1H-imidazol con actividad antibacteriana, también se detectó H-2-piranona, 5-metil-2-furfural que han sido reportado con propiedad antifúngica [10-12]. Estas propiedades fueron observadas tanto con el extracto metanólico y hexánico (Tabla II).

Hola

En las pruebas de inhibición se observó que *Proteus vulgaris* con la concentración directa de ambos extractos y sus respectivas diluciones se inhibió su crecimiento (Figura 1), atribuyendo el efecto a la presencia de compuestos con propiedad antibacterial como 4-nitro-1H-Imidazol, 1-nitropirazol, 5-metil-2-furfural que se monitorearon durante la caracterización de *Costus spicatus*.

Tabla II. Caracterización de los metabolitos presentes en *Costus spicatus*.

RT (min)	Area %	Nombre del compuesto	Uso
3.643	2.371	Furfural	Base para fungicidas
4.713	4.04	2H-piran-2-ona	Antifúngico
4.964	1.90	5-metil-2-furfural	Antifúngico
12.024	6.3	N-[4-bromo-n-butil]-2-2piperidona	Antimicrobiano
3.520	1.81	1-Nitropirazol	Agente antiparasitario
5.692	4.54	D-limoneno	Anticancerígeno
3.322	2.17	4-nitro-1H-Imidazol	Antibacterial

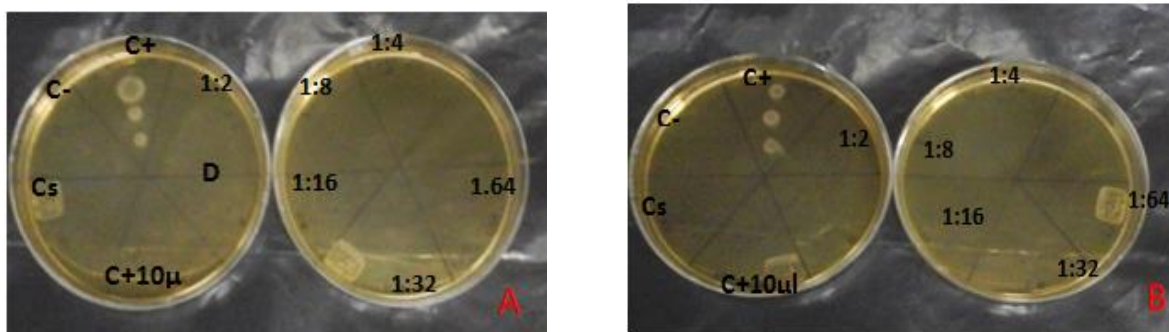


Fig. 1. Se muestra la inhibición de *Proteus vulgaris* al contacto con extracto metanólico de *Costus spicatus* (panel A) y extracto hexánico de *Costus spicatus* (panel B). D: concentración sin dilución, Cs: control del solvente, C-: control negativo (sin cepa), C+: control positivo (cepa sin extracto).

*Escherichia coli* presentó ausencia de crecimiento al contacto con la concentración directa y dilución 1:2 del extracto metanólico y frente al extracto hexánico al contacto con la concentración directa, mediante el método de dilución en agar. En cambio por el método de Kirby-Bauer presenta halo de inhibición en el extracto metanólico en concentración directa y diluciones 1:2 y 1:4 del extracto.

*Staphylococcus aureus* presenta ausencia de crecimiento al contacto con la concentración directa y en diluciones 1:2 y 1:4 del extracto metanólico (Figura 2), observando un efecto bacteriostático en las diluciones posteriores en el método de dilución en agar, por su lado el método de Kirby-Bauer se mostró halo de inhibición con la concentración directa y concentración correspondientes a la dilución 1:2 y 1:4. Diversos extractos de origen natural muestran un efecto similar o mayor al contacto con *Staphylococcus aureus* como es el caso de *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Cenchrithis muricatus* [13,14], ya que dicho extracto reportado en *Costus spicatus* posee compuestos con propiedad antimicrobiana como es N-[4-bromo-n.butil]-2-peiperidona.

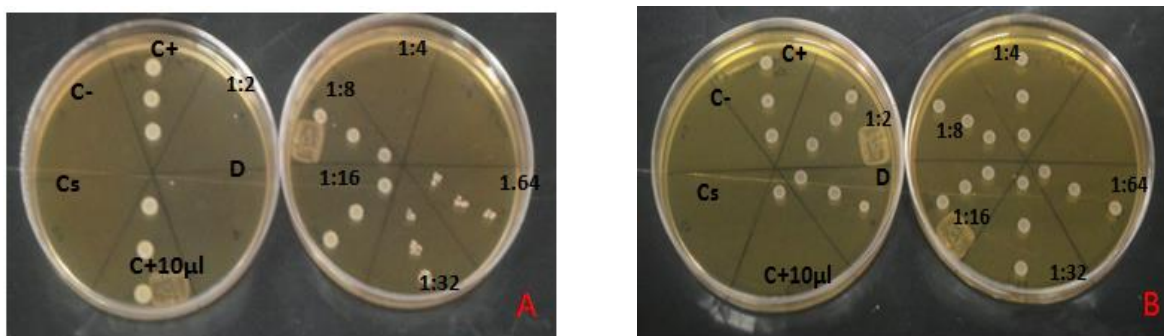


Fig. 2. Se presenta la inhibición de *Staphylococcus aureus* al contacto con extracto metanólico de *Costus spicatus* (panel A) y del extracto hexánico de *Costus spicatus* (panel B). D: concentración sin dilución, Cs: control del solvente, C-: control negativo (sin cepa), C+: control positivo (cepa sin extracto).

Al evaluar a *Candida albicans* se observó ausencia de crecimiento al entrar en contacto con la concentración directa y la dilución 1:2 del extracto metanólico, y al evaluar la actividad del extracto hexánico se presentó ausencia de crecimiento en la concentración directa y en las diluciones 1:2 y 1:4.

En cambio por el método de Kirby-Bauer la actividad de inhibición que se observó fue solo con la concentración directa del extracto hexánico, presentando un diámetro de 20 mm (Figura 3).

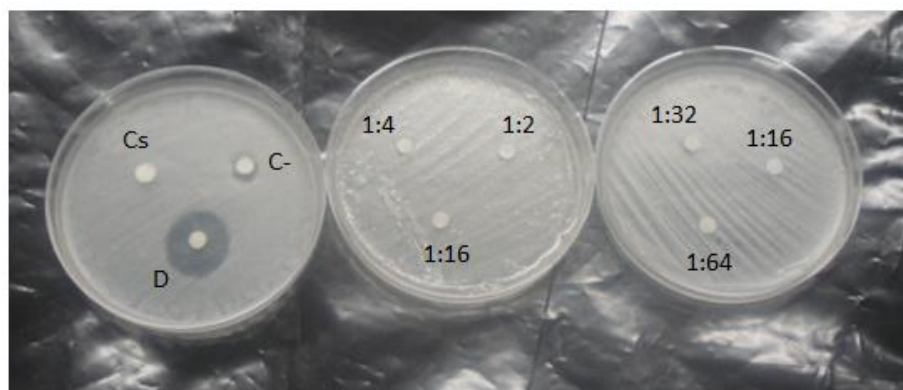


Fig. 3. Inhibición de *Candida albicans* producida con el extracto hexánico de *Costus spicatus*.

De tal forma se ha establecido que *Candida albicans* ha presentado sensibilidad a la exposición a extractos etanólicos de propoleos a concentraciones de 3 a 7 mg/mL y al sulfato de zinc a concentración de 7%, destacándose la importancia de este tipo de investigaciones, debido a que los extractos de *Costus spicatus* se han evaluado en diversos estudios, demostrando una amplia gama de aplicaciones como en el desarrollo de nuevas drogas, reduciendo la actividad del veneno de *Bothrops atrox* y sus efectos en la hipoglucemia, entre otros [15-19].

#### IV. CONCLUSIÓN

*Costus spicatus* presentó efecto inhibitor principalmente para *Proteus vulgaris*, siendo el extracto con mayor efecto inhibitorio el metanólico. La técnica de dilución en agar aporta a los extractos las condiciones para evidenciar el efecto inhibitor más eficiente *in vitro*.

#### REFERENCIAS

- [1] Gómez, AR. (2012) Plantas medicinales en una aldea del Estado de Tabasco, México. Rev Fitotec Mex 35: 43-49.
- [2] Pereira da Silva, B., Pas Parente, J. (2003) Bioactive polysaccharides from *Costus spicatus*. Carbohydrate Polymers 51: 239-242.
- [3] Keller, AC., Vanderbroek, I., Liu, Y., Balick, MJ., Kronenberg, F., Kennelly, EJ., Brillantes, AMB. (2009) *Costus spicatus* tea failed to improve diabetic progress in C57BLKS/Jdb/db mice, a model of type 2 diabetes mellitus. Journal of Ethnopharmacology 121: 248-254.
- [4] Jayasri, M., Gunasekaran, S., Radha, A., Mathew, T. (2008) Anti-diabetic effects of *Costus spicatus* leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Int J Diabetes & Metabolism 16: 117-122.
- [5] Remya, R., Daniel, M. (2012) Investigación fitoquímica y farmacognosia del antidiabético *Costus spicatus*. Pharm Biomed Res 3: 30-39.
- [6] Al-Romaiyan, A., Mangalam, A., Lazar, M., Huang, GC., Stephanie, A., Jones, PM., Persaud, SJ. (2010) *Costus spicatus* extracts stimulate insulin secretion from mouse and human islets of Langerhans in vitro. Cell Physiol Biochem 26:1051-1058.
- [7] Ranjitha, VH., Arayanaswamy, M., Krishnaswamy, A., Satyanarayana, ML., Upendra, HA. (2013) Effect of aqueous extracts of *Costus spicatus* and *Solanum nigrum* leaves on blood glucose levels and histo-architecture of pancreatic islets in alloxan induced diabetic rats. Journal of Cell and Tissue Research 13: 3983-3988.
- [8] Singh, P., khosa, RL., Srivastava, S., Mishra, G., Jha, KK., Srivastava, S., Sangeeta, Verma, RK, Tahseen, MA. (2014) Pharmacognostical study and establishment of quality parameters of aerial parts of *Costus speciosus*-a well known tropical folklore medicine. Asian Pac J Trop Biomed 4: 486-491.
- [9] Gutiérrez, MC., Droguet, M. (2002) Identificación de compuestos volátiles por CG-MS, Boletín Intexter (U.P.C.) 122: 35-41.
- [10] Sirinivasan, V., Panneerselvam, R., Gunasekaran, S., Palani, S. (2014) Ethanolic extract of *Melia azadirachta* against Acetaminophen induced Nephrotoxicity. International Journal of PharmTech Research 6: 70-79.
- [11] Letafat, B., Emaml, S., Aliabadi, A., Mohammadhosseini, N., Mohammad, HM., Ali, A., Abbas, S., Alireza, F. (2008) Synthesis and in vitro antibacterial activity of 5-substituted 1-methyl-4-nitro-1H-imidazoles. Arch Pharm Chem Life Sc 341: 497-501.



- [12] Schiller, R., Tichotova, L., Pavlik, J., Buchta, V., Melichar, B., Votruba, I., Kunes, J., Spulak, M., Pour, M. (2010) 3,5-disubstituted pyranone analogues of highly antifungally active furanones: conversión of biological effect from antifungal to cytostatic. *Bioorg Med Chem Lett* 20: 7358-7360.
- [13] Lagunes-Castro, MS., López, MA., Ramos, LA., Trigos, A., Salinas, A., Espinoza, C. (2014) Actividad antibacteriana de extractos metanol:cloroformo de hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 87-94.
- [14] Menéndez, AA., López, AC., Vázquez, PA., Otero, GA. (2011) Optimización de la solución de extracción de moléculas antibacterianas de *Cenchrus muricatus* (Gastropoda: Littorinidae) *Rev Cubana Med Trop* 63: 171-176.
- [15] Quintero-Mora, ML., Londono-Orozco, A., Hernández-Hernández, P., Manzano-Gayosso, P., López-Martínez, R., Soto-Zarate, CI., Carrillo-Miranda, L., Penieres-Carrillo, G., García-Tovar, CG., Cruz-Sánchez, TA. (2008) Efecto de extractos de propoleos mexicanos de *Apis mellifera* sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol* 25: 22-26.
- [16] Castañeda-Antonio, D., Rivera, A., Islas-Rodríguez, E., Portillo-Reyes, R., Muñoz-Rojas, J., Hernández-Aldana, F. (2015) Chemical properties and bactericidal activity of *rosmarinus officinalis* and *origanum x majoricum*. *Journal of Agricultural and Biological Science* 10(10): 390-393.
- [17] Azevedo, LFP., Faria, TSA., Pessanha, FF., Araujo, MF., Lemos, GCS. (2014) Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w. *Rev Bras PI Med Campinas* 16: 209-215.
- [18] dos Santos, PLC., Machado, BJA., Correia, HVC., da Silva, JS., da Silva, OJ., Ribeiro, JR., Sanjay, AB., Tavares, CJC., Stien, D., da Silva, JO. (2016) Pharmacological activity of *Costus spicatus* in experimental *Bothrops atrox* envenomation. *Pharmaceutical Biology* 54: 2103-2110.
- [19] Nascimento, CCH., Azevedo, LAC., Camacho, ACL., Oliveira, JFF., Gomes, ML., Nascimento, SF., Vasconcelos, SDD., Nogueira, RI., Barreto, AS., Dire, GF. (2016) Analysis of hypoglycemic effect of an aqueous extract of *Costus spicatus* on F1 mice subjected to hyperglycemic diet. *Int J Adv Res Biol Sci* 3: 99-107.