

**Título: Tamizaje fitoquímico, actividad analgésica y antiinflamatoria de decocción de *Costus pictus* D. Don.**

**Autores:** Francisco Morón Rodríguez; María del Carmen Victoria Amador; Zulema Morejón Rodríguez; Marisol López Barreiro; Ana Ibis García Hernández; Víctor Fuentes Fiallo; Lionel Robineau; Carlos Campo Epalza.

**E-mail:** [moron@infomed.sld.cu](mailto:moron@infomed.sld.cu)

## **Introducción**

*Costus pictus* D. Don. pertenece a la familia Zingiberaceae,<sup>1</sup> son sinónimos *Costus congestus* Rowlee y *Costus mexicanus* Liebm. ex Petersen y se consideran, más recientemente, que pertenecen a la familia Costaceae.<sup>2</sup> Las descripciones botánicas disponibles de esta especie son poco precisas y en el presente estudio se puede sintetizar como: "hierba perenne de 1 a 4 m de altura, rizomatosa. Hojas alternas, estrechamente elípticas, glabras a muy pubérulas, acuminadas en el ápice, cuneadas, redondeadas o algo cordadas en la base, de 10 a 30 cm de largo y 2,5 a 6 cm de ancho; peciolo glabro. Inflorescencia terminal, densa, globosa a ovoide, de 3 a 8 cm de largo y 3 a 4 cm de ancho. Flores hermafroditas, amarillas a rojas; tubo del cáliz corto; tubo de la corola más largo que el cáliz; labelo amarillo, anchamente obovado, con el margen crenulado; anteras de 7 a 8 mm; ovario ínfero, glabro; estilo filiforme; estigma más o menos ciliado. Fruto en cápsula subglobosa, más o menos carnosa, dehiscente. Semillas angulosas, de color negro" (Fuentes V. 2008. Descripción preliminar de *Costus pictus* D. Don.). Entre sus usos medicinales populares se citan varios relacionados con el posible efecto beneficioso de la decocción de las hojas y tallos frescos para las infecciones, cálculos y afecciones en general del sistema urinario. Estos usos resultaron significativos en la encuesta TRAMIL realizada en la provincia de Sancti Spiritus, Cuba (Carballo A, 1990. Encuesta TRAMIL. Centro de investigación de fitoterapia y medicina tradicional de Topes de Collantes, Trinidad)<sup>3-5</sup> y en la realizada por el Laboratorio Central de Farmacología (Morón F y otros, 2006. Encuesta TRAMIL de usos de Plantas Medicinales en varios municipios de Ciudad de La Habana).

Esta especie es considerada originaria de México a Costa Rica en bosques húmedos, clearings y bosques de colinas, a lo largo de cursos de agua y caminos al nivel del mar, hasta los 300 y 1800 m de altura.<sup>6</sup> La especie, a diferencia de otras del género *Costus*, parece haber sido poco estudiada y no se encontró información en las bases de datos: MEDLINE, SciELO, LILACS, NAPRALERT y CUMED. Un extracto de *C. pictus* (500-2 000 mg/d en humanos y 50-200 mg/kg/d en ratas), por vía oral, fue patentado para el tratamiento y control de la glucemia en pacientes con diabetes mellitus.<sup>7</sup> La especie es usada para tratar la diabetes por medicina tradicional en Kerala, India, y un estudio demostró el efecto antihiper glucémico de varios extractos, administrados por vía oral, en ratas.<sup>8</sup>

Un estudio de toxicidad aguda del extracto metanólico de planta completa fresca, por vía oral (1 mL de extracto/25 g en dosis de 0,1, 0,2, 0,5 y 1 g/kg), de ratón Swiss, los 2 sexos, 3 animales por grupo, el control recibió agua destilada (1 mL/25 g), no mostró ningún signo de toxicidad ni muerte. Igual extracto, vía oral (100 y 200 mg/kg/d/3 meses), de rata Sprague Dowley (250-300 g, 5-6 meses de edad), los 2 sexos, 6 animales por grupo, estudio de toxicidad subcrónica, se observó que la glucemia disminuyó no significativamente en los grupos tratados con el extracto y tampoco ocurrió modificación de los demás parámetros.<sup>9</sup> La investigación y el desarrollo de medicamentos para afecciones del sistema osteomioarticular ocupan el cuarto lugar al nivel mundial y la obtención de nuevos medicamentos analgésicos y antiinflamatorios no esteroideos ha llegado a cantidades de 780 nuevos productos estudiados en 1 año; además las estadísticas demuestran que el consumo de este grupo alcanza más de 4 % de los gastos de medicamentos al nivel mundial.<sup>10</sup> La ausencia de información en la literatura científica nacional e internacional y el uso medicinal para afecciones urinarias, que de manera tradicional hace la población cubana, motivó a los autores del trabajo a iniciar el estudio preclínico de esta especie para validar farmacológicamente su empleo. Los objetivos fueron identificar los grupos de metabolitos secundarios; establecer el efecto analgésico preclínico; y determinar el efecto antiinflamatorio preclínico de la decocción de hojas y tallos frescos de *Costus pictus*.

## Diseño Metodológico

### *Material vegetal y extracto*

Se preparó una decocción 30 % (30 g de hojas y tallos frescos de *C. pictus* picados finamente en 100 mL de agua destilada), la ebullición se mantuvo a fuego bajo durante 5 min, en recipiente de cristal tapado, se retiró del calor, se dejó refrescar y se filtró mediante papel de filtro. El material vegetal se colectó en Santos Suárez, municipio 10 de Octubre, provincia Ciudad de La Habana, fue identificado por el doctor Víctor Fuentes y una muestra fue depositada en el herbario de la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig" en la provincia de La Habana, con el número de voucher ROIG 4710. A los extractos de los determinó el porcentaje de sólidos totales y fueron preparados inmediatamente antes de ser usados. *Estudio fitoquímico* Luego de la preparación de la decocción, se realizaron diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, para determinar la presencia de metabolitos secundarios: flavonoides (*Shinoda*), compuestos fenólicos (cloruro férrico), alcaloides (*Dragendorff* y *Mayer*), triterpenos y esteroides (*Liebermann-Buchard*), quinonas (*Bortrager*), compuestos lactónicos y cumarinas (*Baljet*), aminoácidos (ninhidrina), antocianidinas (*Rosemhein*) y azúcares reductores (*Fehling*), presentes en ambos extractos.<sup>11</sup> *Analgesia periférica en respuesta nociceptiva inducida por ácido acético* Se utilizaron ratones machos, convencionales, no isogénicos OF-1 (20-25 g). Los animales fueron seleccionados al azar, en grupos de 10 ratones.

Los animales del grupo control negativo recibieron agua destilada de manera isovolumétrica con la dosis mayor administrada de extracto. A los animales de los grupos tratados se les administró decocción de *C. pictus*, en dosis equivalente a 0,5; 1,0 y 5,0 g de material vegetal fresco/kg de peso corporal (pc). Las administraciones, de agua o decocción, fueron por vía oral (po) mediante sonda orogástrica. A los 60 min de haber recibido el tratamiento correspondiente, se inyectó ácido acético 0,75 % (0,1 mL/10 g pc) por vía intraperitoneal (ip) y se dejó al animal en reposo en su jaula para medir la variable: número total de retorcimientos durante 15 min.<sup>12</sup> *Analgesia central en respuesta nociceptiva inducida por inmersión de la cola en agua caliente* Se usaron ratones machos, convencionales, no isogénicos OF-1 (20-25 g). Para el experimento, los animales fueron seleccionados al azar, en grupos de 10 ratones. Los animales del grupo control negativo recibieron agua destilada de manera isovolumétrica con la dosis administrada de extracto. A los animales de los grupos tratados se les administró la decocción de *C. pictus*, en dosis de 0,5; 1,0 o 5,0 g de material vegetal fresco/kg de peso corporal (pc). Los tratamientos de los grupos control o con extracto fueron administrados por vía oral (po) mediante sonda orogástrica. Después de 60 min de recibir el tratamiento correspondiente, los ratones se introdujeron en una caja donde la cola salía por el otro extremo, se procedió a sumergir esta en un baño de María a 55 °C, se midió el tiempo en segundos mediante un cronómetro para la segunda retirada de la cola, con el fin de descartar la reacción al tacto y medir la respuesta dolorosa que se produce.<sup>13</sup> En otra serie experimental se administró indometacina (1, 5, 10 y 20 mg/kg de pc) disuelta en bicarbonato de sodio 4 %, en iguales condiciones que la serie tratada con la decocción, para determinar la dosis capaz de disminuir significativamente la respuesta dolorosa en este modelo en las condiciones experimentales de este estudio. *Modelo de granuloma inducido por algodón* Se utilizaron ratas machos, no isogénicas, convencionales, de la línea Wistar (180-200 g). En cada experimento, los animales fueron seleccionados al azar para formar los diferentes grupos.

Los animales de los grupos controles negativos recibieron agua de manera isovolumétrica con la dosis mayor administrada de extracto. Esta técnica consiste en hacer una incisión a cada lado de la línea media del dorso del tórax de cada animal, para introducir de manera subcutánea 1 *pellet* de algodón de 50 mg, previo decolado de la piel, de esta forma quedan situados aproximadamente a 3 cm de la herida. Se sutura con agrafes Mitchel y se añade antibiótico (sulfato de estreptomina 1 %) en la herida para evitar las infecciones. Los grupos tratados recibieron extracto acuoso (0,5; 1,0 o 5,0 g de material vegetal/kg pc), en dosis única diaria, y el grupo control negativo recibió agua destilada, en dosis única diaria por 4 d. Al quinto día se procedió al sacrificio de los animales y a la exéresis de los granulomas, estos se llevaron a peso seco constante en un horno con ventilación a temperatura de 150 + 10 oC durante 3 h. Los granulomas fueron pesados antes y después de este proceder, con el propósito de determinar las variables: contenido acuoso del granuloma (peso húmedo-peso seco = contenido acuoso) y contenido fibrogranuloso (peso seco-peso del *pellet* de algodón) en gramos.<sup>12-13</sup>

*Procedencia y atención a los animales* Todos los animales empleados en este estudio fueron suministrados por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) y mantenidos en cajas de poliuretano-T4 en el bioterio del Laboratorio Central de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende", a temperatura de 23 °C, humedad relativa de 50 a 60 %, un período de luz-oscuridad de 12 h cada uno, con libre acceso a pienso para ratones y ratas ALYCO® CMO 1000 y al agua. Se tuvieron sin alimento pero con libre acceso al agua, durante las 12 h antes del inicio del estudio. Los experimentos se realizaron cumpliendo las guías de buenas prácticas<sup>14</sup> y para el cuidado y uso de animales de laboratorio.<sup>15</sup> *Procesamiento de los datos* Para el análisis estadístico de los resultados se sometió a prueba la hipótesis de distribución normal de las variables estudiadas, con este propósito se utilizó el estadígrafo W y se encontró que se distribuyen normalmente. Entonces se aplicó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar si existían diferencias entre las medias de los grupos de cada serie experimental y en caso de ser significativo se aplicó una t para comparación de medias. El nivel de significación fue de 5 % ( $p < 0,05$ ).

## Resultados

### *Estudio fitoquímico*

En la [tabla](#) se pueden apreciar los metabolitos secundarios presentes en la decocción de hojas y tallos frescos de *C. pictus*.

**Tabla.** Metabolitos secundarios en la decocción 30 % de hojas y tallos frescos de *C. pictus*

Metabolitos secundarios	Decocción
Flavonoides	±
Compuestos fenólicos	+
Triterpenos y esteroides	-
Alcaloides	-
Quinonas	-
Compuestos lactónicos y cumarinas	+
Aminoácidos	-
Antocianidinas y leucoantocianidinas	-
Azúcares reductores	+
Saponinas	+

+: respuesta positiva, -: respuesta negativa, ±: respuesta dudosa.

### *Analgesia periférica en respuesta nociceptiva inducida por ácido acético*

La decocción 30 % de hojas y tallos frescos disminuyó significativamente ( $F = 13,404$ ;  $p = 4,977e^{-06}$ ) y de manera dosis dependiente el número de retorcimientos durante 15 min, inducidos por ácido acético intraperitoneal en ratones. Las medias de los animales tratados con los extractos, con dosis de 1,0 g/kg ( $t = 2,2091$   $p = 0,0202$ ) y 5,0 g/kg ( $t = 5,4977$   $p = 1,602e^{-05}$ ), fueron diferentes significativamente en relación con el grupo control que recibió agua destilada por la misma vía ([fig. 1](#)).

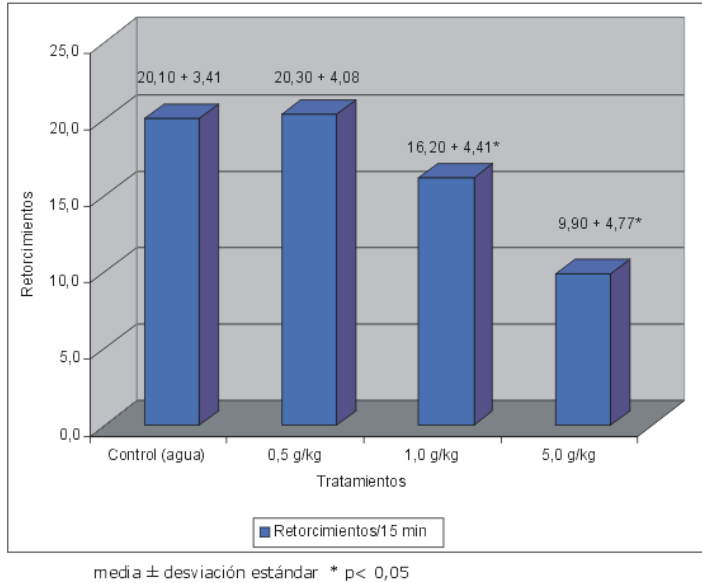


Fig. 1. Efecto de la decocción 30 % de hojas y tallos frescos de *Costus pictus* D. Don en retorcimientos inducidos por ácido acético en ratones.

### *Analgesia central en respuesta nociceptiva inducida por inmersión de la cola en agua caliente*

La decocción 30% de hojas y tallos frescos, solo a la dosis más alta (5,0 g/kg), aumentó significativamente el tiempo de retirada de la cola ( $F = 6,916$   $p = 7,908 \times 10^{-4}$ ) ( $t = 3,1638$   $p = 2,556 \times 10^{-3}$ ), las otras dosis (0,5 y 1,0 g/kg) no modificaron de manera significativa la respuesta (fig. 2).

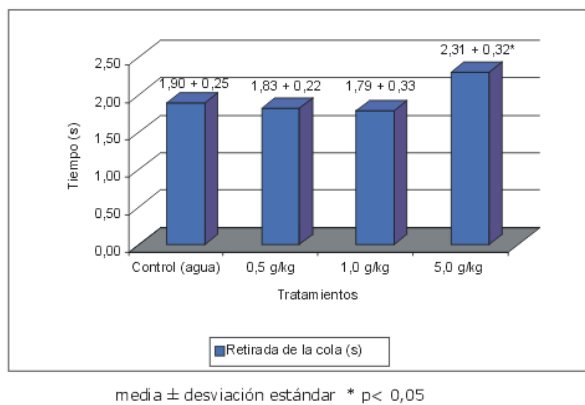
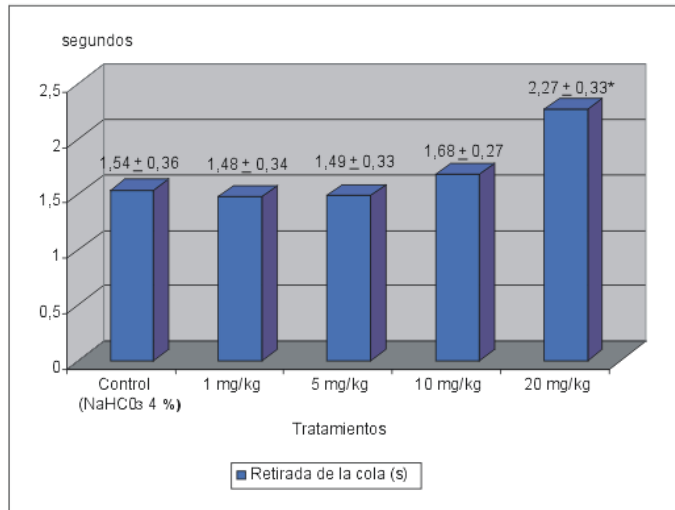


Fig. 2. Efecto de la decocción 30 % de hojas y tallos frescos de *Costus pictus* D. Don sobre el tiempo de retrada de la cola en ratones.

Indometacina, a la mayor dosis administrada (20 mg/kg po), aumentó significativamente ( $F = 11,063$   $p = 1,667 \times 10^{-6}$ ) el tiempo de la respuesta de retirada de la cola por inmersión en agua caliente en ratas en relación con el control negativo ( $t = 4,8347$   $p = 5,030 \times 10^{-6}$ ) (fig. 3).



media ± desviación estándar \* p < 0,05

Fig. 3. Efecto de indometacina oral en el modelo de retirada de la cola en ratones (n= 11).

### Modelo de granuloma inducido por algodón

La decocción no modificó de manera significativa el contenido acuoso ( $F_1 = 0,137$  p = 0,9375). Sin embargo, la variable contenido fibrogranuloso fue modificada significativamente ( $F_2 = 4,168$  p = 0,0126) y la comparación de las medias entre el grupo tratado con decocción (0,5 g/kg po) y el control negativo resultó estadísticamente diferente (fig. 4).

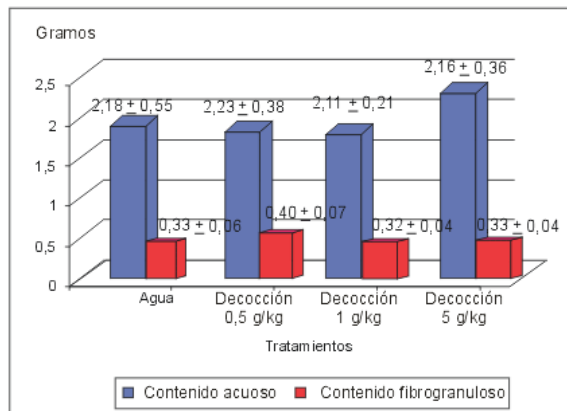


Fig. 4. Efecto de la decocción (30 %) de hojas y tallos frescos de *C. pictus* en el granuloma inducido por algodón en ratas.

## Discusión

El estudio fitoquímico preliminar mostró presencia de varios grupos de metabolitos secundarios en la decocción de hojas y tallos frescos. Este puede tener

importancia tanto para estandarizar y caracterizar a la decocción, como para buscar los principios activos de esta especie. Se sabe que los compuestos lactónicos y cumarinas, fenoles y taninos, así como las saponinas tienen diversas acciones farmacológicas como la analgésica.<sup>16</sup>

El extracto acuoso, decocción, inhibió significativamente y de manera dosis dependiente la respuesta dolorosa inducida por administración de ácido acético intraperitoneal; así como la respuesta dolorosa en el modelo de retirada de la cola en ratones. Lo anterior está en correspondencia con un efecto analgésico de característica similar al que producen los analgésicos-antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), que pueden tener actividad sobre la respuesta dolorosa tanto periférica como central, pero preferentemente, a dosis más bajas en el primer tipo<sup>17</sup> que corresponde al modelo de los retorcimientos inducidos por ácido acético intraperitoneal.<sup>13,18,19</sup> En el presente trabajo, la indometacina, solo a la mayor dosis administrada (20 mg/kg), inhibió de manera significativa la respuesta nociceptiva de retirada de la cola inmersa en agua caliente; sin embargo, nuestros estudios previos<sup>18,19</sup> demostraron que la dosis de 10 mg/kg resultó suficiente para inhibir significativamente la respuesta nociceptiva en los modelos de retorcimientos inducidos por ácido acético administrado intraperitonealmente.

La ausencia de efecto sobre la inflamación provocada en el modelo de granuloma inducido por algodón en ratas no es sorprendente, porque no todos los AINEs tienen igual intensidad de actividad analgésica y antiinflamatoria.<sup>17</sup>

Los resultados del presente trabajo contribuyen a la demostración preclínica del efecto analgésico de la decocción de hojas y tallos frescos de *C. pictus* y a la validación de los usos tradicionales para el tratamiento, al menos sintomático, de las afecciones renales (Carballo A. Encuesta TRAMIL. Topes de Collantes, Trinidad. 1990; Morón F y otros. Encuesta TRAMIL. Usos de Plantas Medicinales en varios municipios de Ciudad de La Habana. 2006); así como de otros problemas de salud donde la actividad farmacológica analgésica puede resultar beneficiosa.

## Referencias bibliográficas

1. *Costus pictus* D. Don. w3TROPICOS. Nomenclatural Data Base. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. [serie en Internet]. [citado 10 Oct 2008]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/name/34500599>.
2. Synonyms of *Costus pictus* D. Don. w3TROPICOS. Nomenclatural Data Base. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. [serie en Internet]. [citado 10 Oct 2008]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/NameSynonyms.aspx?nameid=34500599>
3. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba. 2da ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1988. p. 161-3.

4. Robineau L. Hacia una Farmacopea Caribeña. (TRAMIL 7). Santo Domingo, República Dominicana: Editorial BUHO; 1995. p. 67-8.
5. Carballo A. Encuesta TRAMIL. En: Gemosén-Robineau L, Delens M, García-González M, Herrera J, Morón F, Sáenz-Campos D, Solís P, editores. Farmacopea Vegetal Caribeña. 2da ed. León (Nicaragua): Editorial Universitaria UNAN-León; 1990.
6. Spiral Ginger. Desert Tropicals Home Page. [serie en Internet]. [citado 29 Ago 2008]. Disponible en: <http://www.desert-tropicals.com>
7. Preparation, process and a regenerative method and technique for prevention, treatment and glycemc control of diabetes mellitus. United States Patent 7378113 (05/27/2008). [serie en Internet]. [citado 29 Oct 2008]. Disponible en: <http://www.freepatentsonline.com/7378113.html>
8. Merina B, Antony B, Santhakumari G, Sheeba V. Antihyperglycemic effect of *Costus pictus* in alloxan induced diabetic rats. *Indian Journal of Natural Products* 2006;22(4):8-12.
9. Merina B, Antony B, Santhakumari G, Sheeba V, 2008. Toxicity Studies Of The Herb *Costus pictus* D.Don. R&D Laboratory, Arjuna Natural Extracts Ltd., P.B No. 126, Bank Road, Alwaye - 683 101; [serie en Internet]. [citado 2 Feb 2008]. Disponible en: <http://www.pharmainfo.net/reviews/toxicity>
10. National Center for Health Statistics. Health, United States, 2006. Hyattsville, MD (USA): NCHS; 2006 [serie en Internet]. [citado 23 Mar 2007]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nchs/data/hs/hs06.pdf>
11. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio de análisis farmacognóstico. La Habana: Editorial Ciencia y Educación; 1992. p. 23-33.
12. Victoria MC, Morón F, Morejón Z, Martínez MJ, López M. Tamizaje fitoquímico, actividad antiinflamatoria y toxicidad aguda de extractos de hojas de *Annona squamosa* L. *Rev Cubana Plant Med* [periódico en la Internet]. 2006 Abr [citado 12 Oct 2008]; 11(1): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962006000100002&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000100002&lng=es&nrm=iso)
13. Lapa AJ, Monteiro de Lima TC. Métodos farmacológicos para el estudio de la actividad analgésica/antiinflamatoria. En: Lapa AJ, Souccar C, Lima-Landman MTR, Monteiro de Lima TC, editores. Métodos de Evaluación de la Actividad Farmacológica de Plantas Medicinales. Sao Paulo: CYTED/CNPq; 2002. p. 60-71.



14. Cuba. Para la Protección de la Salud Pública. Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio no Clínico de Seguridad Sanitaria y Medioambiental: Regulación 39/2004. La Habana: El Buró Regulatorio; 2004.

15. National Research Council. EE.UU. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington DC: National Academy Press; 2001. p. 21-79.

16. Vanadocha B, Cañigüeral S, Vila R, Risco E, Pérez F, Portillo A, et al. Ulmaria. Monografías de Plantas Medicinales. En: Vanadocha B, Cañigüeral S, editores. Fitoterapia. Vademécum de Prescripción. 4ª ed. Barcelona: MASSON, S.A.; 2003. p. 487-8.

17. Roberts LJ, Morrow JD. Analgésicos-antipiréticos y antiinflamatorios, y fármacos antigotosos. En: Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A, editores. Goodman Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2003. p. 697-742.

18. Morón F, Furones JA, Pinedo Z. Ausencia de efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto fluido de *Cymbopogon citratus* 30 % por vía oral. Rev Cubana Plant Med. 1996;1(2):3-6.

19. Furones JA, Morón F, Pinedo Z. Acción analgésica de un extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* L. en ratones. Rev Cubana Plant Med. 1996;1(2):15-7.