

Flourensia fiebrigii (Asterales: Asteraceae), fuente de metabolitos antipatogénicos

Verni, Cecilia¹; Alva, Mariana^{1,2}; Muruaga, Nora³; Borkosky, Susana¹;
Cartagena, Elena^{1*}; Bardón, Alicia^{1,4}

¹ Instituto de Química Orgánica, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Ayacucho 471, (4000) Tucumán, Argentina; ecartagena@fbqf.unt.edu.ar (autor corresponsal).

² Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Av. William Cross 3150, Las Talitas, (4000) Tucumán, Argentina.

³ Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) Tucumán, Argentina.

⁴ INQUINOA-CONICET. Ayacucho 491, (4000) Tucumán, Argentina.

► **Resumen** — Verni, Cecilia; Alva, Mariana; Muruaga, Nora; Borkosky, Susana; Cartagena, Elena; Bardón, Alicia. 2011. "*Flourensia fiebrigii* (Asterales: Asteraceae), fuente de metabolitos antipatogénicos". *Lilloa* 48 (1). En este trabajo se aborda el estudio espectroscópico de extractos obtenidos del arbusto *Flourensia fiebrigii* y su actividad sobre el biofilm maduro de dos bacterias patógenas de *Staphylococcus aureus*, una cepa de colección internacional y la otra resistente a meticilina. Se determinó la toxicidad de los extractos frente al molusco planorbídeo *Biomphalaria peregriana*. El estudio espectroscópico de UV, FT-IR, ¹H-RMN y ¹³C de los extractos de *F. fiebrigii* puso en evidencia la presencia de flavonoides prenilados. El extracto CHCl₃ descerado de las partes aéreas a 50 µg/mL, mostró la mayor actividad reductora del biofilm de la cepa meticilinoresistente (65%); mientras que el extracto CHCl₃ completo, exhibió una reducción del 60% a 100 µg/mL. Las dosis activas de los extractos frente a las cepas patógenas de *S. aureus* no resultaron tóxicas para *B. peregriana*.

► **Palabras clave:** Biofilms, *Biomphalaria peregriana*, espectroscopias, extractos, *Flourensia fiebrigii*, actividad antipatogénica, *Staphylococcus aureus*.

Abstract — Verni, Cecilia; Alva, Mariana; Muruaga, Nora; Borkosky, Susana; Cartagena, Elena; Bardón, Alicia. 2011. "*Flourensia fiebrigii* (Asterales: Asteraceae), source of antipathogenic metabolites". *Lilloa* 48 (1). This paper deals with the spectroscopic study of extracts from the shrub *Flourensia fiebrigii* and its activity against mature biofilm of two pathogenic bacteria. We employed an international collection of *Staphylococcus aureus* strain and a methicillin-resistant *S. aureus* strain. In order to propose anti-pathogenic metabolites of low toxicity to freshwater species, we determined the activity of the extracts against the snail *Biomphalaria peregriana*.

The UV, FT-IR, ¹H-NMR and ¹³C spectroscopic studies of the extracts from the aerial parts of *F. fiebrigii* revealed the presence of prenylated flavonoids. The dewaxed CHCl₃ extract showed the highest biofilm disrupting activity at 50 µg/mL against the methicillin-resistant strain (65%), while the crude CHCl₃ extract showed a 60% of reduction at 100 µg/mL. The active extract doses against the pathogenic *S. aureus* strains resulted not toxic to *B. peregriana*.

Keywords: Biofilms, *Biomphalaria peregriana*, extracts, *Flourensia fiebrigii*, anti-pathogenic activity, spectroscopy, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

El género *Flourensia* (Asteraceae, Heliantheae) está representado por arbustos resinosos y pequeños árboles que habitan principalmente ambientes secos de sitios ele-

vados de Norte y Sudamérica; comprende alrededor de 30 especies, de las cuales 18 se distribuyen en la Cordillera de los Andes de Perú, Bolivia, Chile y Argentina (Dillon, 1984). En la Argentina están presentes 12 especies (Cabrera 1978). Desde un punto de vista fitoquímico, *Flourensia* se caracteriza por presentar metabolitos aromáticos bioac-

tivos como flavonoides prenilados, benzofuranos y derivados (Bohlmann & Grenz, 1977; Bohlmann & Jakupovic, 1979; Bohlmann et al., 1984). Se estudiaron en la Argentina químicamente cuatro especies, a saber: *Flourensia campestris* Griseb., *F. riparia* Griseb., *F. oolepis* S. F. Blake y *F. fiebrigii* S. F. Blake (Uriburu et al., 2004; 2005; 2007; García et al., 2007) y fueron mencionadas como plantas nativas útiles para la producción de biodiesel (Femenía, com. pers., 2009). Las resinas con propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes representan entre el 20 y 40% en peso de la biomasa de las hojas (adultas y jóvenes, respectivamente) y sus espectros de absorción UV, con alta absorbancia en la región UVB, son característicos (Silva et al., 2005).

El biofilm bacteriano es un consorcio de bacterias adheridas a una superficie inerte o a un tejido vivo, que se caracteriza por su disminuida sensibilidad a los agentes químicos y defensas del huésped. Las bacterias en estado fenotípico de biofilm se encuentran embebidas por una matriz, constituida por un exopolisacárido que ellas mismas producen y que determina la patogenicidad y la cronicidad de los procesos infecciosos (Valdez et al., 2005; Monroe, 2007). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina es la mayor causa de infecciones intrahospitalarias, las que son difíciles de tratar debido a que estas bacterias son resistentes a la mayoría de los antibióticos de uso clínico (Taylor et al., 2002; Adwan & Mhanna, 2008). Existen antecedentes de metabolitos aislados de plantas que afectaron el biofilm de bacterias inhibiéndolo o estimulándolo (Cartagena et al., 2007; Socolsky et al., 2011; Gilabert et al., 2011; Parellada et al., 2011).

Si bien, *Flourensia fiebrigii* ha sido establecida como planta útil para la producción de biodiesel, no se encontraron antecedentes de actividad en esta especie sobre el biofilm de *Staphylococcus aureus*. El objetivo del presente trabajo fue investigar la actividad de diferentes extractos de *F. fiebrigii* sobre un biofilm maduro de dos cepas de *S. aureus* y su impacto sobre el molusco acuático *Biomphalaria peregrina* a fin de proponer metabo-

litos antipatogénicos, biodegradables (Wink, 1999) y de baja toxicidad para las especies de agua dulce.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIAL VEGETAL

Flourensia fiebrigii, vulgarmente conocida en la Rioja como «Maravilla», «Maravilla del campo», «Engordadora» e «Incienso» (Femenía, com. pers., 2009). Es un arbusto ramoso hasta de 50 cm de alto, de tallos resinosos con hojas lanceoladas u oblanceoladas de márgenes enteros hasta de 15 mm de ancho, excepcionalmente 20 mm, y al tacto son algo rígidas. Los capítulos son radiados de 8-9 mm de alto por 7-9 mm de ancho, largamente pedunculados con 7-10 flores amarillas. Se distribuye para el sur de Bolivia (Chuquisaca, Potosí y Tarija) y en la Argentina desde Jujuy hasta La Rioja; habita en ambientes de Prepuna entre 2700-3700 m s. n. m (Dillon, 1984). *F. fiebrigii*, se recolectó en la provincia de La Rioja, en el Valle del Bermejo, Cañón del Ocre, del departamento de Chilecito, a los 2750 m s. n. m. Un ejemplar de referencia se depositó en la Colección del Herbario Fanerogámico de la Fundación Miguel Lillo (LIL 610915).

2. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS DE MEDIANA Y ALTA POLARIDAD DE *F. FIEBRIGII*

Las partes aéreas (flores, hojas y tallos) y las raíces secas, fueron trituradas y sometidas, por separado, a un proceso de extracción sólido-líquido con cloroformo y luego, con metanol. El extracto clorofórmico obtenido de las partes aéreas, fue desecado con metanol a 4 °C, filtrado con papel de filtro y evaporado en evaporador rotatorio a presión reducida (25-30 mmHg, aproximadamente), a temperatura inferior de 40 °C. Los extractos se secaron en desecador con vacío y pesaron para calcular sus rendimientos, en relación al peso del material vegetal seco procesado.

Los extractos se analizaron por CCF analítica, empleando cromatoplacas de sílica gel GF254 (Merck) y el reactivo de Godin

(Godin, 1954) como revelador. El colesterol se usó como testigo de polaridad.

Finalmente, los extractos se analizaron por métodos espectroscópicos de ^1H -RMN y ^{13}C , FT-IR y UV. Los espectros de RMN se adquirieron con un espectrómetro Bruker de 200 MHz, usando TMS como estándar interno.

Los espectros de infrarrojo se determinaron con un espectrómetro Perkin Elmer 1600 FT-IR, empleando cloroformo como solvente y las absorciones al UV se midieron en metanol, empleando un equipo Shimadzu UV-Vis 160 A.

3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LOS EXTRACTOS SOBRE UN BIOFILM MADURO DE *S. AUREUS*

Se determinó la actividad de los extractos sobre un biofilm maduro de dos cepas de *Staphylococcus aureus*, una salvaje resistente

a meticilina, procedente de un aislamiento hospitalario (F 7) y la otra, de colección internacional (ATCC 6538 P). La cuantificación del biofilm, se efectuó por un método colorimétrico de revelado de la microplaca, con cristal violeta a 560 nm (O'Toole & Kolter, 1998). Se inoculó en cada pocillo de la microplaca de poliestireno un 10% de un cultivo «overnight» (1×10^6 CFU, aproximadamente) de la cepa de *S. aureus* evaluada (en estado fenotípico de biofilm). Cada extracto se disolvió en diferentes proporciones en el sistema EtOH/MH (Mueller-Hinton) para obtener concentraciones de 100, 50, 25 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se empleó una concentración de EtOH no inhibitoria del crecimiento bacteriano ($< 0,25\%$). Se determinó el crecimiento bacteriano durante 2 h de incubación a 37 °C a lecturas de 600 nm con un lector de microplacas. Seguidamente, se

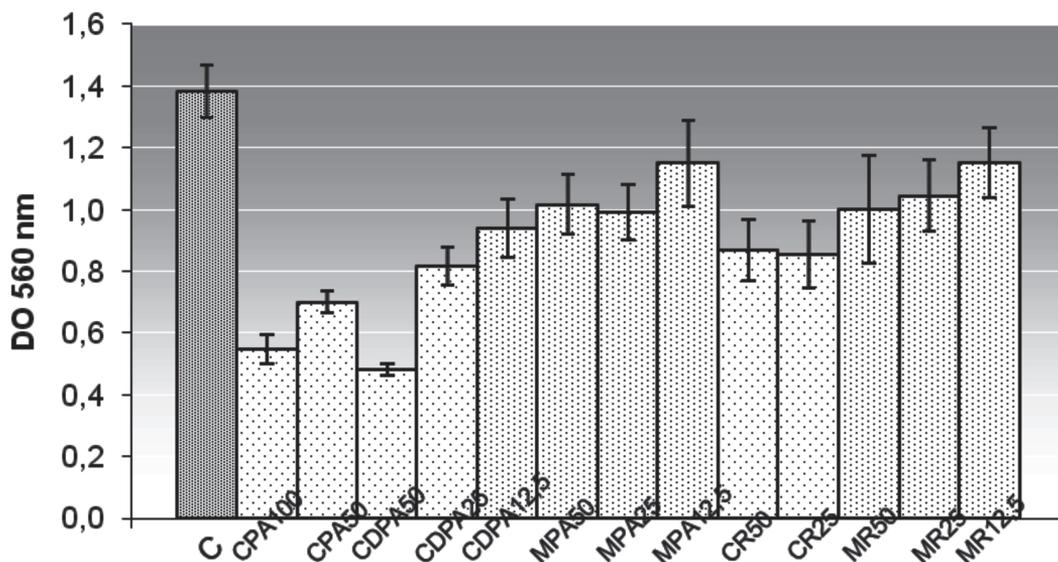


Fig. 1. Cuantificación del biofilm de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (F 7). C: Control.

CDPA50, CDPA25 y CDPA12,5: Extractos CHCl_3 descerado de partes aéreas a 50, 25 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

CPA100 y CPA50: Extractos CHCl_3 de partes aéreas a 100 y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

CR50 y CR25: Extractos CHCl_3 de raíces a 50 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

MPA50, MPA25 y MPA12,5: Extractos MeOH de partes aéreas a 50, 25 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

MR 50, MR25 y MR12,5: Extractos MeOH de raíces a 50, 25 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

Todos los experimentos mostraron diferencias significativas ("Tukey test") con el control ($p < 0,05$).

adicionó a cada pocillo 20 μL de una solución de cristal violeta al 1%, se incubó durante 15 min y se procedió a lavar cada pocillo con agua destilada (200 μL x 2), retomando el biofilm adherido a las paredes con 200 μL de EtOH (95%). La cuantificación del biofilm se realizó por lecturas de DO a 560 nm. En el experimento, el control fue el medio MH sembrado con la cepa en estudio y adicionado de 20 μL del sistema EtOH/MH y como control negativo el sistema EtOH/MH a las concentraciones empleadas. El ensayo se realizó por octuplicado y el protocolo, la obtención y análisis de los datos, se realizó con el programa GEN5 Tm del equipo (Power Wave XS2, Biotek, Vermont, USA).

4. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD MOLUSQUICIDA DE EXTRACTOS DE *F. FIEBRIGII*

Para predecir el impacto de los extractos sobre la biodiversidad de organismos en los cursos de agua dulce, se empleó el molusco *B. peregrina*, modelo adecuado para el monitoreo de la contaminación debido a su amplia distribución en los lagos y cursos de agua dulce de la Argentina, a sus hábitos sedentarios, a su extremada sensibilidad a las intervenciones antropogénicas y a que poseen sistemas regulatorios y de control muy conservados que frecuentemente pueden homologarse a los sistemas de los vertebrados (Rittschof & McClellan-Green, 2005).

Adultos de *B. peregrina* se colectaron de lagunas en la provincia de Tucumán (Argentina) y se mantuvieron en acuarios con agua libre de cloro, mineralizada con 0,05 g/L de

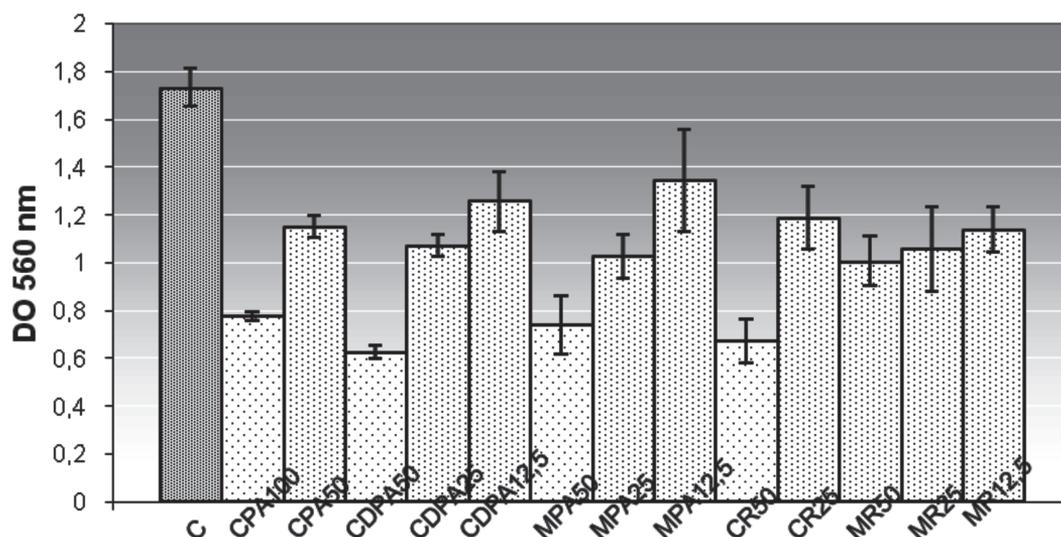


Fig. 2. Cuantificación del biofilm de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P.

C: Control.

CDPA50, CDPA25 y CDPA12,5: Extractos CHCl_3 desecrado de partes aéreas a 50, 25 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

CPA100 y CPA50: Extractos CHCl_3 de partes aéreas a 100 y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

CR50 y CR25: Extractos CHCl_3 de raíces a 50 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

MPA50, MPA25 y MPA12,5: Extractos MeOH de partes aéreas a 50, 25 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

MR50, MR25 y MR12,5: Extractos MeOH de raíces a 50, 25 y 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente.

Todos los experimentos mostraron diferencias significativas ("Tukey test") con el control ($p < 0,05$).

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ a pH 7,2 y los moluscos se alimentaron con hojas frescas de *Lactuca sativa* (nv. Lechuga). Para el bioensayo se seleccionaron adultos con diámetro de conchilla uniforme (7 mm) y se mantuvieron sin alimento durante las 24 horas previas. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Una porción del extracto (10 mg) se disolvió en 2 mL de MeOH y se diluyó en agua libre de cloro hasta obtener concentraciones de 100, 50 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 98:2). Los criterios de actividad para plantas molusquicidas han sido definidos por Mott en 1987. Un extracto de material vegetal debe ser activo a una concentración igual o menor a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y que produzca una mortalidad del 90% de la población de los moluscos expuestos durante 24 horas y a temperatura constante.

Las soluciones de cada extracto (20 mL) se colocaron en vasos de precipitados de 100 mL con 7 caracoles cada uno. Se realizaron experimentos controles colocando 7 moluscos en una mezcla de $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (98:2). El MeOH no fue tóxico a las concentraciones ensayadas. Después de 24 h de exposición, los caracoles fueron colocados en cajas de Petri y observados bajo la lupa, a fin de controlar el latido cardíaco (Diaz Garces & Ferrer Lopez, 1996). También se registra la pérdida de hemolinfa, respuesta al estímulo y producción excesiva de mucus. Los caracoles que sobreviven al tratamiento se colocaron en agua fresca con alimento y se controlaron durante 24 h más para observar movilidad. Estos moluscos se dejan en recuperación en un acuario separado y se pueden usar para ensayos después de trans-

Tabla 1. Rendimiento y propiedades espectroscópicas de los extractos de *Flourensia fiebrigii*.

Extractos	Rendimiento (%)	UV		FT-IR	
		$\lambda_{\text{máx}}$ [nm]	Abs	ν [cm^{-1}]	Asignaciones
CPA	4,41	300	1,328	3395 2918	ν O-H ν C-H aromático
		280	1,560	1639 1266	ν C=C ν Ar-C-OH
CDPA	2,40	307,5 (banda ancha)	2,483	3395 2918	ν O-H ν C-H aromático
		280	Hombro	1639 1266	ν C=C ν Ar-C-OH
CR	4,42	300	0,804	3450 2918	ν O-H ν C-H aromático
		280	1,17	1614 1263	ν C=C ν Ar-C-OH
MPA	9,65	300	1,022	ND	ND
		280	1,265		
MR	1,13	300	1,011	ND	ND
		280	1,274		

CDPA: Extracto CHCl_3 desecado de partes aéreas. CPA: Extracto CHCl_3 de partes aéreas. CR: Extracto CHCl_3 de raíces. MPA: Extracto MeOH de partes aéreas. MR: Extracto MeOH de raíces. ND: No determinado (extractos insolubles en cloroformo).

curridos 30 días. El control positivo fue una solución acuosa de CuSO_4 de $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ (Marchant *et al.*, 1984). Los resultados fueron procesados con el programa MINITAB, Release 14 para determinar la LD_{50} («probit analysis»).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento y propiedades espectroscópicas de los extractos de F. fiebrigii.— En la Tabla

1, se muestran los rendimientos obtenidos de los extractos y se observan mayores rendimientos con los extractos MeOH (9,65%) y CHCl_3 (4,41%) de partes aéreas de la especie. La eliminación de las ceras redujo el rendimiento del extracto clorofórmico en un 2%.

A pesar que los extractos constituyen matrices complejas, se evidenciaron bandas de absorción al UV típicas de compuestos aromáticos, aparentemente de flavonoides a $\lambda_{\text{máx}} (\text{MeOH})$ 300 nm (Banda I, en el rango

Tabla 2. Acción de los extractos en el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*.

Extractos	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P		<i>S. aureus</i> F 7	
	DO (600 nm): $0,421 \pm 0,008$		DO (600 nm): $0,458 \pm 0,009$	
	DO [600 nm]	% inhibición	DO [600 nm]	% inhibición
CPA 100	$0,202 \pm 0,058$	52%	$0,219 \pm 0,007$	52%
CPA 50	$0,272 \pm 0,082$	35%	$0,281 \pm 0,008$	39%
CDPA 50	$0,230 \pm 0,011$	45%	$0,253 \pm 0,004$	45%
CDPA 25	$0,335 \pm 0,021$	20%	$0,352 \pm 0,004$	23%
CDPA 12,5	$0,394 \pm 0,013$	6%	$0,452 \pm 0,003$	-
CR 50	$0,324 \pm 0,02$	23%	$0,366 \pm 0,003$	20%
CR 25	$0,369 \pm 0,010$	12%	$0,403 \pm 0,009$	12%
MPA 50	$0,317 \pm 0,005$	25%	$0,326 \pm 0,006$	29%
MPA 25	$0,369 \pm 0,011$	12%	$0,386 \pm 0,004$	16%
MPA 12,5	$0,419 \pm 0,004$	-	$0,450 \pm 0,004$	-
MR 50	$0,393 \pm 0,007$	7%	$0,389 \pm 0,006$	15%
MR 25	$0,444 \pm 0,010$	-	$0,420 \pm 0,004$	8%
MR 12,5	$0,046 \pm 0,008$	-	$0,455 \pm 0,003$	-

CDPA50, CDPA25 y CDPA12,5: Extractos CHCl_3 descerado de partes aéreas a 50, 25 y $12,5 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. CPA100 y CPA50: Extractos CHCl_3 de partes aéreas a 100 y $50 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. CR50 y CR25: Extractos CHCl_3 de raíces a 50 y $25 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. MPA50, MPA25 y MPA12,5: Extractos MeOH de partes aéreas a 50, 25 y $12,5 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. MR50, MR25 y MR12,5: Extractos MeOH de raíces a 50, 25 y $12,5 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. (-) No se observaron efectos inhibitorios.

300-390 asociada a la funcionalidad cina-moilo) y a 280 nm (Banda II, en el rango 250-280 nm asociada a la funcionalidad benzoilo) y por espectroscopia FT-IR se registraron bandas de absorción de valor diagnóstico de compuestos aromáticos hidroxilados a 3400, 2925, 1639, 1600, 1266 cm^{-1} . Consistentemente, por $^1\text{H-RMN}$ se observan señales singletes a δ 13; 12,11; 7,91 y 7,69 ppm, atribuibles a protones de hidroxilos de compuestos fenólicos y dos señales a δ 3,90 y a 3,87 ppm asignables a un probable grupo hidroxiprenilo. Por $^{13}\text{C-RMN}$ se confirma la existencia de dichos compuestos debido a señales de carbonos de anillos aromáticos en el rango de 115-165 ppm y de carbonos unidos a oxígeno a 68-70 ppm. Estos resultados son coherentes con los previamente informados por Uriburu *et al.* (2007) para flavonoides prenilados presentes en la especie.

Por TLC analítica se observaron en todos los extractos, manchas activas al UV y que revelaron con el reactivo de Godin (que reacciona con fenoles y polialcoholes) con mayor polaridad que el colesterol (testigo de polaridad).

Efectos de los extractos de F. fiebrigii frente a S. aureus.— Todos los extractos mostraron efectos inhibitorios, en mayor o menor grado ($p < 0,05$), frente al biofilm maduro de ambas cepas de *S. aureus*, como lo muestran las Fig. 1 y 2. El extracto CHCl_3 descerado de las partes aéreas a 50 $\mu\text{g/mL}$, mostró la mayor actividad frente al biofilm de la cepa resistente a meticilina (65%); mientras que, el extracto CHCl_3 completo, exhibió una reducción del 60% a concentraciones de 100 $\mu\text{g/mL}$ (Fig. 1).

En general, los extractos clorofórmicos fueron más activos que los metanólicos a iguales dosis y en los extractos clorofórmicos los obtenidos de las partes aéreas más activos que los preparados de las raíces frente a ambas cepas (Fig. 1 y 2). Los extractos de *F. fiebrigii* muestran en las figuras 1 y 2 una dependencia entre el efecto anti-biofilm y la dosis. Sólo se observaron efectos notorios en la inhibición del crecimiento de ambas cepas, con los extractos clorofórmicos de

partes aéreas completo (100 $\mu\text{g/mL}$) y descerado (50 $\mu\text{g/mL}$) en un 52 y 45%, respectivamente (Tabla 2). Por lo que los extractos en las condiciones del ensayo, actuaron en mayor grado sobre la principal estrategia de virulencia bacteriana, el biofilm, más que frente a la célula bacteriana propiamente dicha.

Los resultados obtenidos son coherentes con los antecedentes bibliográficos de la especie, que informan un predominio de resinas en las partes aéreas, las que se caracterizan por la presencia de flavonoides, benzofuranos y derivados, de reconocidas actividades biológicas frente a patógenos (Silva *et al.*, 2005; Uriburu *et al.*, 2004; 2005; 2007; García *et al.*, 2007). Además, se conoce que los flavonoides se distribuyen en todas las plantas vasculares, encontrándose en diferentes partes del vegetal, en especial en las partes aéreas, en forma libre (agliconas flavonoides) y frecuentemente como glicósidos (Harborne, 1998).

En la Tabla 1, donde se informan las absorciones al UV de soluciones metanólicas de los diferentes extractos a iguales concentraciones, se advierten las mayores absorbancias (Abs) en los extractos clorofórmicos obtenidos de las partes aéreas, aparentemente por un mayor porcentaje de los metabolitos aromáticos, lo que explicaría la mayor actividad observada.

Efectos de los extractos de F. fiebrigii frente a B. peregrina.— Todos los extractos fueron inactivos frente al molusco aún a 100 $\mu\text{g/mL}$. Según la OMS (1983) los extractos de plantas que presenten valores de LC_{50} menores de 100 $\mu\text{g/mL}$ son potencialmente tóxicos para *B. peregrina*.

CONCLUSIONES

El estudio espectroscópico de los extractos puso en evidencia que los flavonoides prenilados son constituyentes de *Flourensia fiebrigii*.

La eliminación de ceras en el extracto CHCl_3 de las partes aéreas de la planta, incrementó significativamente la actividad dis-

ruptora del biofilm de ambas cepas (en un 16 % para *S. aureus* resistente a meticilina y en un 30 % para la cepa de colección). Los efectos observados no guardan relación con el crecimiento bacteriano. Las dosis activas de los extractos frente a las cepas patógenas no resultaron tóxicas para *B. peregrina*, por lo que aplicados como posibles coadyuvantes de los antibióticos y defensas del hospedador, no contaminarían los cursos de agua dulce donde son eliminados principalmente por excreción de los seres vivos. Se observa una clara selectividad de acción de los extractos en los modelos experimentales ensayados (*Staphylococcus aureus* y *Biomphalaria peregrina*).

Estos resultados justifican posteriores estudios *in vivo* que contribuyan a la generación de drogas que afecten o debiliten la arquitectura del biofilm en procesos infecciosos crónicos con sustancias de bajo impacto ambiental, como también aquellos que prioricen la domesticación, cultivo y conservación de *F. fiebrigii*, fuente promisoría de metabolitos antipatogénicos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT), al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) por los subsidios otorgados. A la Cátedra de Físicoquímica I de la Facultad de Bioquímica. Química y Farmacia de la UNT por la medición de los espectros de FT-IR.

BIBLIOGRAFÍA

- Adwan, G. & M. Mhanna. 2008. Synergistic effects of plants extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. Middle-East Journal of Scientific Research, 3: 134-139.
- Bohlmann, F. & M. Grenz. 1977. Über Inhaltsstoffe der Gattung *Flourensia*. Chemische Berichte, 110: 295-300.
- Bohlmann, F. & J. Jakupovic. 1979. Neue sesquiterpene, triterpene, flavanone und andere Aromatische Verbindungen aus *Flourensia heterolepis*. Phytochemistry, 18: 1189-1194.
- Bohlmann, F.; J. Jakupovic; A. Schuster; R.M. King & H. Robinson. 1984. Eudesmanolides and costic acid derivatives from *Flourensia macrophylla*. Phytochemistry, 23: 1445-1448.
- Cabrera, A. L. 1978. Compositae. En A. L. Cabrera (ed), Fl. Prov. Jujuy, Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agrpopecu., 13 (10): 1-726.
- Cartagena, E.; D. Álvarez Colom; A. Neske; J. C. Valdez & A. Bardón. 2007. Effects of plant lactones on the production of biofilm of *Pseudomonas aeruginosa*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 55: 22-25.
- Díaz Garces, R. & J. R. Ferrer Lopez. 1996. Efecto de las dosis letales de las plantas de la familia Agavaceae sobre la actividad cardíaca y la oviposición de *Biomphalaria havanensis* (Mollusca: Planorbidae). Revista Cubana de Medicina Tropical, 48: 15-20.
- Dillon, M. O. 1984. A Systematic Study of *Flourensia* (Asteraceae-Heliantheae), Fieldiana Bot., 16: 1-66.
- Femenía, J. H. 2009. Flora del Famatina. Diario chilicito.com (inédito).
- García, M.; A. González Coloma; O. J. Donadel; C. E. Ardanaz; C. E. Tonn & M. E. Sosa. 2007. Insecticidal effects of *Flourensia oolepis* Blake (Asteraceae) essential oil. Biochemical Systematic and Ecology, 35: 181-187.
- Gilabert, M.; A. N. Ramos; M. M. Schiavone; M. E. Arena & A. Bardón. 2011. Bioactive sesqui- and diterpenoids from the Argentine Liverwort *Porella chilensis*. Journal of Natural Products, 74 (4): 574-579.
- Godin, P. 1954. A new spray reagent for paper chromatography of polyols and cetoses. Nature, 174: 134.
- Harborne, J. B. 1998. Flavonoids. In Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. Third edition. Chapman & Hall. London p. 60.
- Marchant, Y.; F. Balza; B. F. Abeysekera & G. H. N. Towers. 1984. Molluscicidal activity of sesquiterpene lactones. Biochemical Systematic & Ecology, 12: 285-286.
- Monroe, D. 2007. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. PLoS Biology, 5: 2458-2461.
- Mott, K. E. (1987). Plant Molluscicides. John Wiley, Chichester.
- O'Toole, G. A. & R. Kolter. 1998. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. Molecular Microbiology, 28: 449-461.
- Parellada, E. A.; A. N. Ramos; M. Ferrero; E. Cartagena; A. Bardón; J. C. Valdez & A. Neske. 2011. Squamocin mode of action to stimulate biofilm formation of *Pseudomonas plecoglossicida* J26, a PAHs degrading bacterium. International Biodeterioration & Biodegradation, 65: 1066-1072.

- Rittschof, D. & P. McClellan-Green. 2005. Mollusks as multidisciplinary models in environmental toxicology. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 369-373.
- Silva, M. & A. Scopel. 2005. *Flourensia oolepis* S. F. Blake y *F. campestris* Griseb. (Asteraceae): Estudios preliminares en la sierras de Córdoba. *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 40: 107-108.
- Socolsky, C.; E. Cartagena; Y. Asakawa & A. Bardón. 2011. Acylphloroglucinols from the fern *Elaphoglossum lindbergii*. *ARKIVOC*, 7: 450-460.
- Taylor, P. W.; P. D. Stapleton & J. P. Luzio. 2002. New ways to treat bacterial infections *Drug Discovery Today*, 7: 1086-1091.
- Uriburu, M. L.; J. R. de la Fuente; J. Palermo; R. R. Gil & V. E. Sosa. 2004. Constituents of two *Flourensia species*. *Phytochemistry*, 65: 2039-2043.
- Uriburu, M. L.; J. R. de la Fuente; J. Palermo & V. E. Sosa. 2005. A Chlorinated dihydrobenzofuran from *Flourensia riparia*. *Journal of Argentine Chemical Society*, 93: 161-164.
- Uriburu, M. L.; R. R. Gil; V. E. Sosa & J. R. de la Fuente. 2007. Prenylflavonoids from *Flourensia fiebrigii*. *Phytochemistry*, 68: 1295-1299.
- Valdez, J. C.; M. C. Peral; M. Rachid; M. Santana & G. Perdigón. 2005. Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro* and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11: 472-479.
- WHO. 1983. Reports of the scientific working group on plants molluscicides. Document TDR/SCH.SWG/4/83.3. Geneva: World Health Organization.
- Wink, M. 1999. Introduction: biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites. In *Functions of Plant Secondary Metabolites and Their Exploitation in Biotechnology*. Wink, M. Sheffield Academic Press, England pp. 1-16.