

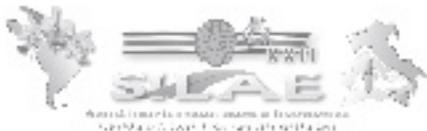
●●● **Farmacognosia /  
Farmacología**



# ●●● Farmacognosia / Farmacología

---

Presentaciones Orales



## ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA Y EFECTO SOBRE EL CICLO CELULAR DE LAS LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

Dr. Alfonso J. García Piñeres

alfonso.garciapineres@ucr.ac.cr

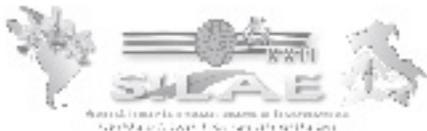
Las lactonas sesquiterpénicas son los constituyentes activos de muchas plantas medicinales de la familia Asteraceae. Preparados de estas plantas se utilizan en la medicina tradicional en el tratamiento de varios desordenes inflamatorios. Un ejemplo destacado es la planta europea *Arnica montana*, cuyas flores se utilizan para la preparación de tinturas alcohólicas. Estos preparados están indicados para uso externo en el tratamiento de hematomas, dislocaciones, torceduras, edema asociado a quebraduras y otros. *Tanacetum parthenium* es otra planta conocida, cuyo metabolito secundario principal es el germacranólido partenólido. A los preparados de esta planta se le atribuyen efectos beneficiosos en el tratamiento de la migraña y artritis.

La actividad anti-inflamatoria de los extractos de plantas, así como las lactonas sesquiterpénicas que los componen ha sido corroborada utilizando diferentes ensayos. Varios estudios han establecido que una de las principales dianas moleculares inhibidas por las lactonas sesquiterpénicas son factores de transcripción como NF- $\kappa$ B, NF-AT o AP-1. Estos factores de transcripción desempeñan un papel central en el control de la expresión de genes proinflamatorios e inmunes. Los metabolitos secundarios principalmente responsables de estos efectos son lactonas sesquiterpénicas del tipo 10 $\alpha$ -metilpseudoguaianólido como la helenalina, 11 $\alpha$ ,13 dihidrohelenalina y sus derivados éster.

Estudios sobre el mecanismo molecular de la actividad anti-inflamatoria de las lactonas sesquiterpénicas se ha enfocado en el factor de transcripción NF- $\kappa$ B. Este factor de transcripción juega un papel central en la regulación de procesos inflamatorios al controlar la expresión de muchos mediadores y efectores de la inflamación. Las lactonas sesquiterpénicas poseen estructuras carbonílicas  $\alpha,\beta$ -insaturadas. Estos grupos funcionales tienen la capacidad de reaccionar con nucleófilos, especialmente con el grupo sulfhidrilo de la cisteína, en una reacción de adición conjugada. Utilizando las lactonas sesquiterpénicas helenalina y partenólido como un modelo, se ha logrado establecer que estos compuestos inhiben directamente NF- $\kappa$ B al alquilarlo en su subunidad p65. La observación de que las lactonas sesquiterpénicas inhiben directamente la ligación al ADN de NF- $\kappa$ B enfatiza su potencial como un compuesto modelo para el diseño de nuevas drogas anti-inflamatorias.

La búsqueda de nuevos productos naturales con actividad inhibidora de NF- $\kappa$ B requiere realizar el ensayo de la actividad de este factor de transcripción en presencia de diferentes concentraciones de la sustancia o de mezclas de compuestos. La actividad del factor de transcripción NF- $\kappa$ B se ha determinado directamente utilizando el ensayo de corrimiento de la movilidad electroforética (EMSA, por las siglas en inglés de *Electrophoretic mobility shift assay*). Se han utilizado otros métodos para determinar la actividad, sin embargo, estos son en su mayoría costosos y experimentalmente elaborados. Por esta razón, en este trabajo se buscó utilizar la medición de la actividad de la enzima sintasa inducible de óxido nítrico (iNOS, por las siglas en inglés de *inducible nitric oxide synthase*), un producto génico que es regulado por NF- $\kappa$ B.

Adicionalmente, se estudió el efecto de concentraciones sub-tóxicas de diferentes lactonas sesquiterpénicas sobre el ciclo celular.



## ACTIVIDAD ANTIMICOBACTERIANA Y ANTI-VIH-1 DE ESPECIES DE CLUSIACEAE Y JULIANACEAE DE MÉXICO

Gómez-Cansino Rocío<sup>1</sup>, Espitia-Pinzón Clara<sup>1,2</sup>, Guzmán-Gutiérrez Silvia L<sup>1</sup>, Campos-Lara María G<sup>3</sup>, Reyes-Chilpa Ricardo<sup>1\*</sup>

1. Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. DF, México. \*chilpa@unam.mx
2. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. DF, México.
3. Instituto Mexicano del Seguro Social, México.

### INTRODUCCION

La reaparición de la tuberculosis relacionada con el VIH-SIDA, plantea la necesidad de contar con nuevos compuestos que disminuyan los riesgos y contraindicaciones de las actuales terapias y coadyuven al combate de cepas resistentes a los fármacos convencionales<sup>1,2</sup>. En la medicina popular de México se ha empleado *Amphyterigium adstringens* (Julianaceae) para el tratamiento de la tuberculosis<sup>3</sup>, mientras que algunas especies de Clusiaceae son conocidas por sintetizar compuestos anti-VIH<sup>4,5</sup>. En este trabajo se exploró el posible potencial dual TB/RT-VIH de extractos y compuestos obtenidos de ambas familias.

### METODOLOGIA

Se colectaron 5 especies de cada familia y se prepararon 19 extractos de diclorometano-metanol 1:1 (14 Julianaceae, 5 Clusiaceae). La actividad anti-micobacteriana fue evaluada utilizando el ensayo de microdilución en azul de alamar (cepa H37Rv de *M. tuberculosis*). La inhibición de la enzima reversa transcriptasa (RT-VIH-1) se determinó con un kit inmunocolorimétrico (Lenty RT Cavid Tech). En ambos modelos, el ensayo inicial se realizó a 50 µg/ml, posteriormente se calcularon las concentraciones inhibitorias medias (CI50) en el rango 3.125-200 µg/ml.

### RESULTADOS Y DISCUSION

La mejor actividad anti-micobacteriana la presentó el extracto de *Amphipteryngium simplicifolium*, al inhibir 90.56% el crecimiento de la cepa H37Rv, mientras que la mejor actividad inhibitoria de la RT-VIH-1 la presentó el extracto de *Calophyllum brasiliense* con 67.69%. El extracto de *A. simplicifolium* no fue tóxico en ratones machos ICR (5 g/kg, p.o.). Este extracto se sometió a cromatografía en columna, las fracciones obtenidas se evaluaron en los modelos previamente mencionados. La inhibición de la cepa H37Rv fue mayor con fracciones de menor polaridad (Hexano-AcOEt 75:25, 50:50 y 25:75), mientras que las fracciones de mayor polaridad (AcOEt-MeOH 1:1, 25:75, 0:100) inhibieron la RT del VIH-1. De la fracción de hexano-AcOEt 25:75 se aisló el ácido instipolinácico (= shinol); su estructura se determinó por 1HRMN, 13CRMN, UV, IR y difracción de rayos x.

### CONCLUSIONES

Las cinco especies de Julianaceae mostraron alta actividad anti-TB, por tanto son un recurso natural muy importante para la búsqueda de compuestos activos. El extracto de la corteza de *A. simplicifolium* presenta compuestos con actividad dual: anti-TB y anti-RT-VIH 1.

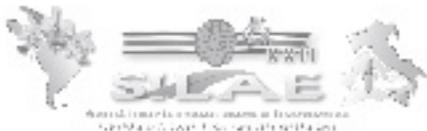
En el caso de las Clusiaceae, el extracto de *C. brasiliense* fue el más activo sobre la TR VIH-1 y *M. tuberculosis*. Los compuestos activos posiblemente son los calanólidos A y B, compuestos presentes en dicha especie<sup>4</sup>, conocidos por presentar dichas propiedades<sup>5</sup>.

## FINANCIADORES

Posgrado en Ciencias Biomédicas UNAM, CONACYT, ICyTDF y DGAPA-UNAM.

## BIBLIOGRAFIA

1. Jimenez-Arellanes A. et al. 2007. Antimycobacterial triterpenoids from *Lantana hispida* (Verbenaceae). J. of Ethnopharmacology. 111:202-205.
2. Luna-Herrera J, et al. 2007. Synergistic antimycobacterial activities of sesquiterpene lactones from *Laurus* spp. J. Antimicrob Chemother. 59(3):548-52.
3. Instituto Nacional Indigenista. 1994. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Argueta-Villamar, A; Cano-Asseleih, L.M; Rodarte, M.E., Eds. Vols. I, II & III. Instituto Nacional Indigenista, México.
4. Huerta-Reyes M. et al. 2004. HIV-1 inhibitory compounds from *Calophyllum brasiliense* leaves. Biological and Pharmaceutical Bulletin 27(9):1471-1475.
- 5 Xu ZQ. et al. 2004. AntiHIV natural product (+)-calanolide A is active against both drug-susceptible and drug-resistand strains of *Mycobacterium tuberculosis*. Bioorg.Med.Chem. 12:1199-1207.



## PRESENCIA DE COMPONENTES CON ACTIVIDAD INHIBITORIA DE PLASMINA EN EL EXTRACTO ACUOSO FLORAL DE *Brownea macrophylla* (ROSA DE MONTAÑA)

Brazón Josmary, Pereira Betzabeth

Laboratorio de Neurofarmacología Celular, Centro de Biofísica y Bioquímica. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela; jmbrazon@gmail.com; jbrazon@ivic.gob.ve

### INTRODUCCIÓN

En Venezuela, las flores de *Brownea macrophylla* son usadas como remedio casero para detener hemorragias como la producida en mujeres que presentan abundante sangrado menstrual en intensidad y/o duración (menorragia). Este trastorno tiene diversas causas y una de estas es el exceso de activadores del sistema fibrinolítico siendo el tratamiento utilizado inhibidores comerciales de plasmina (Pln) como el ácido tranexámico y la aprotinina. Hasta la fecha no había ningún reporte científico que confirmara el efecto de las flores de esta planta sobre la menorragia. Por tal razón, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del extracto acuoso floral de *B. macrophylla* sobre la actividad de la Pln.

### METODOLOGÍA Y RESULTADOS

Las flores (160 g) fueron colocadas en agua bidestilada a 55 °C por dos horas. Luego, se homogenizaron, se centrifugaron 27500 g durante 30 min a 4 °C, el sobrenadante fue liofilizado, denominado extracto acuoso y fue refrigerado hasta su uso. La inhibición de la Pln (0,06 µg/µL) por diferentes concentraciones de extracto acuoso (1, 2,5, 5, 10, 18,5; 30; 40 µg/µL) se estudió por el método amidolítico usando el substrato cromogénico S-2251 (1,1 mM) o por placas de fibrinas ricas en plasminógeno. Los resultados demostraron que el extracto acuoso a 1 µg/µL inhibe la actividad amidolítica de la Pln (0,06 µg/µL) en 68 %, siendo este efecto dosis-dependiente. Además, el extracto acuoso a concentraciones mayores que 2,5 µg/µL inhibió totalmente la actividad de la Pln (0,06 µg/µL) sobre placas de fibrina. Con el fin de purificar el componente anti-Pln, se fraccionó el extracto acuoso en una columna de exclusión molecular PP300 por cromatografía líquida de alta resolución. Se colectaron siete fracciones (P1-P7) de las cuales dos fracciones P6 y P7 inhibieron la Pln siendo P7 la fracción más activa, la cual inhibió en 79 % la actividad de Pln. Cuando esta fracción fue separada sobre una columna C18 de fase reversa, la fracción activa P7-V (1 µg/µL) abolió en más de 94% la actividad de la Pln usando el método amidolítico o de placa de fibrina. P7-V fue recromatografiada sobre la C18 y la actividad antiplasmina fue observada en las fracciones P7-V-f y P7-V-g. La actividad anti-Pln del extracto y sus fracciones fue comparada con el inhibidor aprotinina (1 µg/µL), observando que P7-V exhibe una actividad anti-Pln similar a este inhibidor.

### CONCLUSIONES

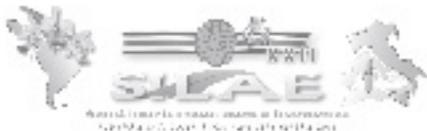
En este trabajo se comprobó que el extracto de *B. macrophylla* contiene componentes que inhiben la Pln los cuales podrían actuar como antihemorrágicos disminuyendo la degradación prematura del coágulo de fibrina.

### FINANCIAMIENTO

Trabajo financiado por IVIC y Proyecto PEII N° 2012001444.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bisht, D., Gupta, S., Kaushik, S., Ganguli, G. & Mital, V. (1991). Fibrinolysis in idiopathic menorrhagia. Indian. Journal of Pathology and Microbiology, 34(3), 200-202.
- Brazón, J., D' Suze, G., D' Errico, M., Arocha-Piñango, C. & Guerrero, B. (2008). Discreplasminin, a plasmin inhibitor isolated from *Tityus discrepans* scorpion venom. Archives of Toxicology, 83, 669-678.
- Fabricant, D. & Farnsworth, N. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environmental Health Perspectives, 109, Suppl. 1, 69-75



## INDUCIENDO MUERTE CELULAR EN CÁNCER POR COMPUESTOS NATURALES CONTRA LISOSOMAS: ARTESUNATO

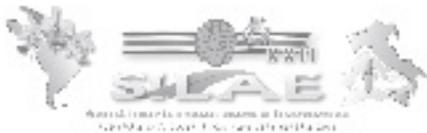
Rodrigo Mora

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Universidad de Costa Rica y Centro Alemán de Investigación en Cáncer, Universidad de Heidelberg, Alemania.

El cáncer es un conjunto de enfermedades extremadamente complejas con opciones de tratamiento limitadas debido a resistencia, por lo que la búsqueda de nuevos compuestos contra blancos específicos de la células cancerígena tiene una gran relevancia para sobrepasar esta resistencia y reducir la toxicidad del tratamiento del cáncer. Entre los blancos específicos sugeridos contra el cáncer se encuentran los lisosomas ya que su función y recambio se encuentran altamente incrementados en cáncer (1) y estas alteraciones del tráfico lisosomal y la sobreexpresión de proteasas lisosomales se han asociado con invasión tumoral y metástasis (2). Estas alteraciones representan, sin embargo, un "talón de aquiles" para las células de cáncer ya que las sensibilizan a vías de muerte que involucren al lisosoma. El agente antimalárico Artesunato activa la muerte celular programada en células de cáncer de una manera dependiente de la presencia de hierro y la generación de especies reactivas del oxígeno (3-5). En el parásito de malaria, la citotoxicidad del artesunato se deriva de las interacciones con el hierro derivado del grupo heme dentro de la vacuola digestiva (6). El compartimento digestivo análogo en las células animales, el lisosoma, también contiene altos niveles de hierro con actividad redox y puede, en respuesta a estímulos específicos, iniciar una apoptosis por la vía mitocondrial (7,8). Por lo tanto, nosotros investigamos el papel de los lisosomas en la muerte celular inducida por artesunato y determinamos que el artesunato activa la permeabilización de la membrana mitocondrial externa de manera dependiente de los lisosomas en células de cáncer de mama MCF-7. El Artesunato impacta los compartimentos endolisosomales y autofagosomales, inhibiendo el reciclaje de autofagosomas y causando una aglomeración perinuclear de autofagosomas, endosomas tempranos y tardíos, y lisosomas. El uso de un agente quelante de hierro lisosomal bloquea todos los parámetros medidos de muerte celular inducida por artesunato, mientras que la sobrecarga con hierro lisosomal incrementa la muerte. Por lo tanto, identificando el hierro como la fuente letal de especies reactivas del oxígeno corriente arriba de la permeabilización de la membrana externa mitocondrial. Más aún, los inhibidores lisosomales cloroquina y bafilomicina A1 redujeron la muerte celular programada activada por Artesunato, evidenciando un requerimiento por la función lisosomal durante la señalización de muerte celular. Esta vía no involucra la activación de la Bid pero sin embargo incrementa el procesamiento de ésta proteína activado por el factor de necrosis tumoral. Además, demostramos esta vía lisosomal de muerte celular programada en otras líneas celulares de cáncer de mama, mientras que una línea no tumorigénica resistió la muerte inducida por Artesunato. En conjunto, estos datos sugieren que el Artesunato inicia una vía de muerte celular programada mediante la manipulación de distantes vías interconectadas, con una jerarquía de señalización de lisosomas a mitocondria. Esto sugiere un uso potencial del artesunato para señalar los lisosomas durante el tratamiento del cáncer.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Fehrenbacher, N., & Jaattela, M. (2005). *Cancer research*, 65(8), 2993–5.
2. Mora, R., & Régnier-vigouroux, A. (2009). *Autophagy*, (April), 419–421.
3. Efferth, T., and Volm, M. (2005) *In Vivo* 19, 225–232.
4. Lai, H., Sasaki, T., Singh, N. P., and Messay, A. (2005) *Life Sci.* 76, 1267–1279.
5. Efferth, T. (2006) *Curr. Drug Targets* 7, 407–421.
6. Pandey, A. V., Tekwani, B. L., Singh, R. L., and Chauhan, V. S. (1999) *J. Biol. Chem.* 274, 19383–19388.
7. Kurz, T., Terman, A., and Brunk, U. T. (2007) *Arch. Biochem. Biophys* 462, 220–230
8. Boya, P., and Kroemer, G. (2008) *Oncogene* 27, 6434–6451.



## BÚSQUEDA DE ACTIVIDAD BIOCIDA EN *Calceolaria integrifolia* S.L. (CALCEOLARIACEAE: SCROPHULARIACEAE)

Carlos L. Céspedes<sup>1\*</sup>, Evelyn Muñoz<sup>1</sup>, Enrique Werner<sup>1</sup>, Julio Alarcon<sup>2</sup>

1. Laboratorio de Bioquímica y Fitoquímica-Ecológica; cespedes.leonardo@gmail.com, ccespedes@ubiobio.cl

2. Laboratorio de Síntesis y Biotransformación de Productos Naturales, Departamento de Ciencias Básicas. Universidad del Bio Bio, Chillan.

### INTRODUCCIÓN

Esta investigación busca determinar actividad insecticida y antialimentaria de extractos de especies chilenas pertenecientes al complejo *Calceolaria integrifolia* s.l., arbustos pertenecientes a la familia Calceolariaceae: Scrophulariaceae. Este género es endémico de Chile y crece en el valle central y cordillera de la costa entre la V y la X región. Se atribuye a estas plantas diversas propiedades, desde el punto de vista químico y farmacológico, siendo utilizada en la medicina natural las hojas de *Calceolaria* como infusión con efectos antiinflamatorios. Se han aislado desde este género algunos metabolitos secundarios de importancia biológica como es el caso de feniletanoides, naftoquinonas, triterpenos y diterpenos con esqueletos de tipo abietano, pimarano, estemodano, estemarano y thyrsoflorano con presumible actividad insecticida.

### METODOLOGÍA

En el presente estudio se realizaron extracciones de parte aérea de *Calceolaria talcana* y *C. integrifolia* en metanol, posteriormente se fraccionó el extracto total en tres fases correspondientes a hexano, acetato de etilo y agua. Cada una de estas fracciones fue sometida a bioensayos frente a larvas de *Drosophila melanogaster* de primer estadio de desarrollo.

### RESULTADOS

La fracción de hexano mostró un 100% de mortalidad de las larvas a una concentración de 100 ppm en 72 horas, la fracción de acetato de etilo mostró una mortalidad de 100% a una concentración de 50 ppm a las 72 horas y la fracción acuosa no mostró mortalidad de las larvas. Las mismas fracciones fueron sometidas a ensayos de actividad antialimentaria frente a *Spodoptera frugiperda*. Se midió durante 24 horas la preferencia alimentaria de la larva, encontrándose un índice antiapetitivo de las larvas de *Spodoptera frugiperda* frente a la fracción de hexano en un 92,31%, mientras que el índice antiapetitivo frente a la fracción de acetato de etilo fue de un 55, 55% y la fracción acuosa no mostró diferencia con el control.

### CONCLUSIONES

Se ha logrado identificar componentes fitoquímicos de las fracciones más activas.

### FINANCIAMIENTO

Los autores agradecen financiamiento FONDECYT grants: 1101003, 1130242 y Dirección de Investigación Universidad del Bio Bio # 091909/1R.

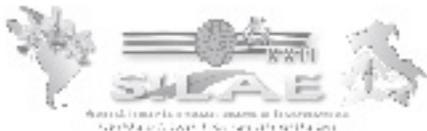
### BIBLIOGRAFÍA

Ehrhart, Christine. (2005). Die Gattung *Calceolaria* (Scrophulariaceae) in Chile. Bibliotheca Botanica H. 153: 1 – 283.

Ehrhart, Christine. (2005). The Chilean *Calceolaria integrifolia* s.l. Species Complex (Scrophulariaceae). Systematic Botany. 30 (2): 383- 411.

Muñoz, E., Lamilla C., Marin, J.C., Alarcon, J., Céspedes, C.L. (2013). Insect growth regulatory effects by diterpenes from *Calceolaria talcana* Grau & Ehrhart (Calceolariaceae: Scrophulariaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Drosophila melanogaster*. Industrial Crop and Products, 45, 283-292.

Muñoz, E., Lamilla, C., Marin, J.C., Alarcon, J., Céspedes CL. (2013). Antifeedant, insect growth regulatory and insecticidal effects of *Calceolaria talcana* (Calceolariaceae) on *Drosophila melanogaster* and *Spodoptera frugiperda*. Industrial Crop and Products 42, 137-144.



## INVESTIGACIONES FARMACOGNÓSTICAS SOBRE LA FLORA PANAMEÑA

Mahabir P. Gupta

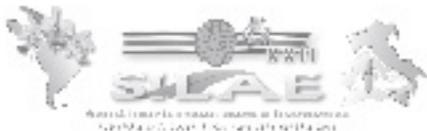
Centro de Investigaciones Farmacognósticas de la Flora Panameña, Facultad de Farmacia, Universidad de Panamá, y Área de Salud, CYTED. Rep. de Panamá. cytedqff@ancon.up.ac.pa

Las plantas representan un reservorio extraordinario de moléculas novedosas y hoy en día hay un renovado interés en el Reino Vegetal como una posible fuente de nuevas moléculas cabezas de serie por su introducción en los programas de cribado. La flora de Panamá es una de las más ricas en el mundo y su potencial económico y medicinal aún no se ha explotado completamente. Los resultados más sobresalientes logrados en los proyectos multinacionales financiados por la Organización de los Estados Americanos, Unión Europea, Fundación Internacional para la Ciencia, el Programa CYTED, y el Programa Internacional Colaborativo de Grupos de Biodiversidad (ICBG), indican que la Flora de Panamá, es sin duda alguna, una fuente valiosa de moléculas líderes para la industria farmacéutica.

Se presentaran el desarrollo histórico y el estado actual de las investigaciones farmacognósticas sobre la flora panameña realizadas durante los últimos cuarenta años. Específicamente, se discutirán los estudios etnobotánicos sobre Amerindios de las etnias Kuna, Ngöbe Buglé y Teribes o Naso; la evaluación farmacológica de las plantas medicinales usadas en la medicina folklórica y cribado de plantas para actividades inter alia anticáncer, antiparasitarias y antifúngicas de centenares de plantas y el aislamiento y caracterización de moléculas bioactivas. Se han aislado más de 390 compuestos químicos de los cuales 160 corresponden a nuevos compuestos no reportados en la literatura mundial.

### AGRADECIMIENTOS

Organización de los Estados Americanos, Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología y Proyecto Agrocos, Unión Europea.



## ACTIVIDAD ANTI-REVERSATRANSCRIPTASA DEL VIH-1 Y ANTITUMORAL DE QUINONAS DE *VISMIA MEXICANA* (CLUSIACEAE) E ISOFLAVONOIDES DE *Pachyrhizus erosus* Y *Pachyrhizus ferrugineus* (FABACEAE).

Estrella-Parra Edgar A<sup>1</sup>, Gómez Cancino R<sup>1</sup>, Reyes-Chilpa Ricardo<sup>1\*</sup> Magos-Guerrero Gil A.<sup>2</sup>, Gonzales-Sánchez Ignacio<sup>3</sup>, Cerbón-Cervantes Marco A<sup>3</sup>, Lucio Lozada Pérez<sup>4</sup>, Araceli Zárate Aquino<sup>5</sup>

1 Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México. \*chilpa@unam.mx.

2 Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. México

3 Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. México.

4 Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. México.

5 Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México.

### INTRODUCCIÓN

*Vismia mexicana* (Clusiaceae) es un árbol que crece en los bosques mesófilo de montaña desde México hasta Honduras (Standley, 1923). *Pachyrhizus erosus* y *P. ferrugineus* (Fabaceae) son herbáceas y se encuentran en México y Centroamérica. *Pachyrhizus erosus* es cultivada y comercializada por sus tubérculos comestibles (Sorensen 1996), las semillas han sido estudiadas desde el punto de vista químico, aislándose la rotenona, un rotenoide con actividad insecticida y citotóxica. En el presente trabajo se profundizó en el análisis químico de estas especies con el fin de identificar posibles compuestos con actividad inhibitoria de la enzima reversa transcriptasa del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 y antitumoral.

### METODOLOGÍA

De las hojas de *V. mexicana*, así como de las hojas y semillas de *P. erosus* y *P. ferrugineus* se prepararon extractos de hexano, acetona y metanol por maceración. Se realizó la cromatografía en columna fase normal a los extractos hexánico de *V. mexicana* y acetónicos provenientes tanto de semillas de *P. erosus* como de hojas de *P. ferrugineus*. Se determinaron las estructuras de los compuestos por espectroscopia de RMN1H. La inhibición de la TR-VIH-1 se determinó con un kit inmunocolorimétrico (Lenti RT Cavid Tech). En ambos modelos, el ensayo se realizó a 50 µg/ml. Se determinó la citotoxicidad de compuestos en las líneas tumorales K562 (leucemia) y SKLU (pulmón), usando el método MTT. Se realizó la prueba de ADN fragmentado mediante Kit fluorométrico (TUNEL Roche), además de prueba de genotoxicidad (ensayo cometa) de la rotenona en K562.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los extractos de *Vismia mexicana* se obtuvo vismiaquinona A y D, las cuales inhibieron la TR-VIH-1 en 22.7% y 0% respectivamente. El extracto acetónico de las semillas de *P. erosus* inhibió en 47.59% dicha enzima y los compuestos extraídos de estas, paquirizina 16.46%, dehidroneotenona sin inhibición, y rotenona 47.94%. De *P. ferrugineus* se obtuvieron dehidroneotenona y paquirizina. Por otra parte, se encontró que la rotenona inhibió el crecimiento de las células tumorales K562, con una IC50 de 13.05 µM y promueve la formación de cuerpos apoptóticos, lo anterior indica es un compuesto interesante farmacológicamente, aunque causa daño genotóxico a las 3 y 18 hrs. Con la línea SKLU, los compuestos de *Pachyrhizus* presentaron baja actividad, pues fue mayor a 100 µM.

## CONCLUSIONES

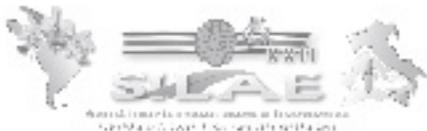
Se aislaron los compuestos Vismiaquinona A y D de *V. mexicana*; también se aislaron los compuestos rotenona, dehidroneotenona, paquirizina, 12  $\alpha$ -hidroxipaquirizona, paquirizona y dolineona (semillas de *P. erosus*); paquirizina y dehidroneotenona (hojas de *P. ferrugineus*). La rotenona presentó la mejor actividad, tanto inhibiendo la RT-VIH-1 (47.94 %), así como en citotoxicidad contra línea tumoral K562 (IC50 = 13.05  $\mu$ M) observándose la formación de cuerpos apoptóticos y daño genotóxico.

## BIBLIOGRAFÍA

Sorensen M. 1996. Yam bean (*Pachyrhizus* DC.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 2. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute; Rome.

Standley, P. C. 1923. Clusiaceae In: Trees and Shrubs of Mexico. Contributions from the United States National Herbarium. Vol 23, part 3. p 824-827.

<http://www.ssa.gob.mx/conasida>.



## BIOPROSPECTING FOR CHEMOPREVENTIVE AGENTS AMONGST COSTA RICA'S BIODIVERSITY: CELL AND TISSUE ENGINEERED MODELS

**Laura A. Calvo-Castro**<sup>1</sup>, Andrea Ulloa<sup>1</sup>, Carolina Centeno-Cerdas<sup>1</sup>, María Inés Chaves-Rodríguez<sup>1</sup>, Montserrat Jarquín Cordero<sup>1</sup>, Elizabeth Arnáez<sup>1</sup>, Ileana Moreira<sup>1</sup>, Mirtha Navarro<sup>2</sup>, Fabrice Vaillant<sup>3</sup>, Ana Mercedes Pérez<sup>3</sup> y Miguel Rojas<sup>1</sup>

1. Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.
2. Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
3. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

### INTRODUCTION

Cancer is a high mortality/morbidity disease worldwide (1). International efforts continue to search for natural chemopreventive agents around the globe, which has already lead to the discovery of several plant origin substances with potential anti-carcinogenic, anti-inflammatory and antioxidant properties (2-5). Costa Rica's extensive tropical biodiversity involves a large pool of barely explored botanical species, including many herbs, fruits and vegetables of common use in the region's traditional medicine. Thus, a multidisciplinary effort amongst some of Costa Rica's public universities is currently evaluating the potential chemopreventive effects of two native plants: tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos* Schtdl.) and *Jatropha curcas*.

### METHODOLOGY

Our bioprospecting strategy searches for fruit juice or whole extract cytotoxicity on diverse cancer cell lines representative of the most common cancers in the country, where we are using molecular techniques to establish the specific cellular pathways and mechanisms involved. With a special emphasis on skin cancer, we have also established an *in vitro* model of UVB-induced photocarcinogenesis, using both cells and tissue engineered reconstructed skin equivalents. Such model represents a closer *in vivo* approximation to the real significance of our results, which might allow us to develop possible strategies for topical application of our findings.

### RESULTS

To date, we have shown that tropical highland blackberry juice (BBJ) reduced UVB (25 mJ cm<sup>-2</sup>) mediated cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs) and 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG) formation in cells, potentially protecting against the initiating carcinogenic damage to DNA. At the same time, BBJ also increased poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) cleavage and activation of caspases 3, 9 and 8, inducing the apoptosis of UVB-damaged cells, suggesting a doubly-chemopreventive effect that might prevent against UVB-induced skin carcinogenesis (6). Also, our preliminary data indicates that an ethanol-based leaf extract from *Jatropha curcas* causes cytotoxic damage to lung, liver and colon cancer cell lines, possibly due to mitochondrial failure, suggesting an anti-cancer effect.

### CONCLUSIONS

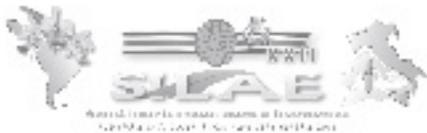
Our ongoing and future studies will explore the specific laying mechanisms in cell physiology that are being affected by treatment with these plants, delving towards the elucidation of the specific chemical molecules involved and their biological activity in animal models, and aiming towards the possibility of developing new products of medicinal, nutritional, pharmaceutical and/or cosmetic interest.

## FINANCIAL SUPPORT

This work has been funded by Instituto Tecnológico de Costa Rica (project 5401-1510-8901) and Universidad de Costa Rica (project 810-B2-231), with additional collaboration from University of Wisconsin-Madison Department of Dermatology.

## REFERENCES

1. IARC (2008) World cancer report. Edit. By P. Boyle and B. Levin. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France.
2. Seeram, N.P. (2008) Berry fruits for cancer prevention: Current status and future prospects. *J. Agric. Food Chem.* 56, 630–635.
3. Baliga, M.S. and S.K. Katiyar. (2006) Chemoprevention of photocarcinogenesis by selected dietary botanicals. *Photochem. Photobiol.* 5, 243–253.
4. D'Ambrosio, S. M. (2007) Phytonutrients: A more natural approach toward cancer prevention. *Seminars in Cancer Biology.* 17, 345–346.
5. Dholwani, K. K., A. K. Saluja, A.R. Gupta and D.R. Shah (2008) A review on plant-derived natural products and their analogs with anti-tumor activity. *Indian J. Pharmacol.* 40, 49–58.
6. Calvo-Castro, L., D.N. Syed, J.C. Chamcheu, F.M.P. Vilela, A.M. Pérez, F. Vaillant, M. Rojas and H. Mukhtar (2013) Protective effect of tropical highland blackberry juice (*Rubus adenotrichos* Schltdl.) against UVB-mediated damage in human epidermal keratinocytes and in a reconstituted skin equivalent model. *Photochem. Photobiol.* (DOI: 10.1111/php.12104).



## POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE ESPÉCIES VEGETAIS NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO

**Kátia Mayumi Takarabe Caffaro\***, Valter Alvino, Eliane Aparecida Camposatto, Maria Lysete de Assis Bastos

Escola de Enfermagem e Farmácia/ESENFAR da Universidade Federal de Alagoas/UFAL – Maceió, Alagoas, Brasil. \*E-mail: mayumikatia@gmail.com

### INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade vegetal do planeta com 55 mil espécies de plantas, sendo 650 destas espécies de uso etnomedicinal<sup>1</sup>. A importância social, econômica e cultural que as plantas medicinais têm alcançado com sua crescente demanda tem gerado iniciativas governamentais no país. Em 2009, o Ministério da Saúde elaborou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) contendo espécies indicadas para uso na atenção básica de saúde<sup>2</sup>. Com base em relatos publicados em um estudo etnofarmacológico<sup>3</sup>, duas espécies vegetais nativas do semi-árido brasileiro, cujos gêneros constam nesta lista, foram coletadas no estado de Alagoas e testadas a fim de confirmar uma de suas utilizações terapêuticas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial antimicrobiano dessas duas espécies, utilizadas popularmente como antimicrobianos e/ou anti-inflamatórios.

### METODOLOGIA

Estudo experimental *in vitro* que avaliou a atividade antimicrobiana das espécies *Bauhinia cheilantha* e *Lippia* sp frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) através do método de difusão em meio sólido<sup>4</sup>. Foram utilizados extratos etanólicos de diferentes partes das plantas, solubilizados em DMSO ou Tween 80 e solução salina a 0,9%. Foram confeccionados poços de 7 mm de diâmetros em placas contendo a suspensão bacteriana (10<sup>6</sup> UFC/mL) em meio agar Mueller Hinton onde em cada poço foi adicionado 50 µL do extrato das plantas na concentração de 10%. As placas foram incubadas em temperatura de 36°C em estufa bacteriológica por 24h e em seguida procedeu-se a medição dos halos de inibição. Foram utilizados DMSO e Tween 80 (10%) como controle negativo e Ceftriaxona (50 µg/mL) como controle positivo.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos da casca do caule e do caule de *B. cheilantha* desenvolveram halos de inibição de 16 e 17 mm de diâmetro, respectivamente e extratos do caule e das partes aéreas de *Lippia* sp desenvolveram halos de 19 e 27 mm. O controle positivo apresentou halo de 30 mm. Os resultados demonstraram evidências do potencial antimicrobiano das espécies avaliadas. Além disso, este é o primeiro estudo dessa natureza realizado com a espécie *B. cheilantha*, que ainda não consta na lista do RENISUS, apesar de citada em estudos etnofarmacológicos.

### CONCLUSÕES

Apesar das inúmeras espécies vegetais nativas indicadas em estudos etnofarmacológicos, muitas ainda não possuem estudos científicos comprovando sua eficácia. Tais estudos são necessários e podem fomentar a inclusão de novas espécies na lista do RENISUS<sup>2</sup>.

### FINANCIADORES

CAPES e FAPEAL.

### BIBLIOGRAFIA

1. Agra MF, Silva KN, Basílio IJLD, Freitas PF, Barbosa-Filho JM. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. Rev. bras. farmacogn. 2008;18(3):472-508.
2. Brasil. Ministério da Saúde. RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. 2009. 1p. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>
3. Almeida CFCBR, Amorim ELC, Albuquerque UP, Maia MBS. Medicinal plants popularly used in the Xingó region – a semi-arid location in Northeastern Brazil. J Ethnobiol Ethnomed. 2006;2:15-21.
4. Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. Rev. bras. farmacogn. 2008; 18(2):301-307.



## FAMILIA MARCGRAVIACEA: FITOQUIMICA Y ACTIVIDAD BIOLOGICA

**Ana Francis Carballo-Arce**<sup>1,2,3</sup>, Marco Rocha<sup>4</sup>, Amanda Saikaley<sup>1</sup>, Rui Liu<sup>3</sup>, Ammar Saleem<sup>3</sup>, Marco Otarola<sup>5</sup>, Luis Poveda<sup>5</sup>, Pablo Sánchez<sup>5</sup>, Mario García<sup>5</sup>, Maria Auxiliadora Coelho Kaplan<sup>4</sup>, Tony Durst<sup>1</sup>, John Arnason<sup>3</sup>

1. Chemistry Department, University of Ottawa, Ottawa, ON. Canada, K1N 6N5.
2. Chemistry School, Universidad Nacional, Heredia, 3000, Costa Rica
3. Department of Biology, University of Ottawa, ON, Canada K1N 6N5
4. Department of Biology, Federal do Rio de Janeiro, Brazil, UFRJ, Bloco H, Cidade Universitária, CEP 21941-590
5. Herbario JVR, Universidad Nacional Autónoma de Costa Rica, Heredia, 3000 Costa Rica

### INTRODUCTION

Marcgraviaceae is a small Neotropical family of lianas, that comprises 130 species divided in eight genera<sup>1</sup>. This family has been understudied as there is little information about the phytochemistry, or biological activity. Some species of this family have been reported to be used by Amazonian healers to treat "susto", which is a folk description of which the American Psychiatric Association (APA) and the World Health Organization (WHO) have linked to mental disorders, including anxiety<sup>2</sup>.

### METHODOLOGY

Plants were collected by botanists from the Juvenal Rodriguez Herbarium at Universidad Nacional (UNA) and Universidad Federal do Rio de Janeiro, in several locations in Costa Rica and Brazil. Voucher of the fifteen species collected have been deposited in both Universities.

Samples were dried and extracted following typical plant extraction methods, using ethyl acetate and ethanol 95 % as extraction solvents.

Three animal models were used for the evaluation of the bioactivity of the plant extracts: elevated maze plus (EPM), a social interaction test (SI) and conditioned emotional response (CER) test<sup>3-5</sup>.

### RESULTS AND DISCUSSION

The phytochemical analysis of 13 species has identified a series of pentacyclic triterpenes as the major characteristic secondary metabolites in the family. This includes: betulinic acid, Lupeol, ursolic acid,  $\alpha$  and  $\beta$ - amiryn, Taraxeryl-trans-4-hydroxycinnamate, malisnic acid, arjunolic acid and betulonic aldehyde<sup>4,6</sup>. The evaluation of *Souroubea* spp extracts containing pentacyclic triterpenes showed anxiolytic activity in the EPM, SI and CER tests. The bioassay guided fractionation of the active crude identified betulinic acid as an active principle responsible for the activity observed in the plant<sup>4</sup>. An *in vitro* GABA<sub>A</sub>-BZD competitive receptor binding assay also demonstrated that *Souroubea* sp extracts have an affinity for the GABA<sub>A</sub>-BZD receptor, with an EC<sub>50</sub> value of 123  $\mu$ g/mL suggesting a mechanism of action similar to diazepam. This was confirmed *in vivo* with rats with the GABA<sub>A</sub>-BZD receptor antagonist flumazenil. Further evaluation of a mixture of *Souroubea* and *Platanus* spp. showed reduction of anxiety in a thunderstorm model with dogs.

## CONCLUSIONS

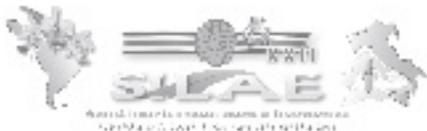
Marcgraviaceae species have commercial potential and value. The bioactivity associated with this family and the identification of the bioactive components of the plant opens a new perspective for its use and preservation. Further, research should be carried out in order to evaluate more members of the family and explore the future uses for this family.

## SPONSORS

NSERC, UNA, CONICIT

## REFERENCES

1. Del, C. & Norantea, C. A new genus of the Neotropical family Marcgraviaceae ( Ericales ) and circumscription of the *Norantea* Complex un nuevo género de la familia neotropical marcgraviaceae ( ericales ) y. *Flora* 29, 203–217 (2007).
2. Bourbonnais-Spear, N. et al. Ethnopharmacological investigation of plants used to treat susto, a folk illness. *Journal of ethnopharmacology* 109, 380–7 (2007).
3. Cayer, C. *In vivo* behavioral characterization of anxiolytic botanicals. Master Thesis. 61 (2011).
4. Puniani, T. E. Novel natural product based anti-anxiety therapy and natural insecticides. PhD. Thesis. 304 (2003).
5. Mullally, M. Anxiety-Reducing Tropical Plants. PhD thesis. (2011). at <http://www.ruor.uottawa.ca/en/handle/10393/20379>
6. Tiv, M. Triterpenoids Isolation from *Marcgravia nepenthoides* ' Bark and Wood By CO-OP Work-Term Report Summer 2010 BPS 4902 Presented to Dr . John T . Arnason Biopharmaceutical Sciences Academic CO-OP Coordinator University of Ottawa Table of Contents. (2010).



## ACTIVITY ANTI-HERPETIC AND ANTI- DENV-2 *in vitro* OF COMBRETASTATIN BASED- HYBRIDS AND DITERPENE DERIVATIVE. (+) – LABDADIENEDIAL: POSSIBLE MECHANISM OF ACTION.

Agudelo-Gómez L.S<sup>1</sup>; Cardozo, F.T.G.S.<sup>2</sup>; Simões, C.M.O.<sup>2</sup>; Gallego-Gómez J.C<sup>3</sup>, Acevedo- Ospina H.A.<sup>3</sup>; González, M.A<sup>4</sup>, **Betancur-Galvis, L.A.**<sup>1</sup>

1. Grupo de Investigación Dermatológica, Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia, A.A1226, Medellín-Colombia.
  2. Laboratório de Virologia Aplicada, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis, SC, Brazil.
  3. Grupo de Medicina Molecular y de Traslación. Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia, A.A122, Medellín, Colombia.
  4. Departamento de Química Orgánica, Universidad de Valencia, E-46100 Burjassot, Valencia, España.
- \* Contact Authors: Tel.: +574 2196064; angelleeluna@gmail.com / betancurli@hotmail.com

### INTRODUCTION

Herpes Simplex Virus types 1 and 2 (HHV-1 and HHV-2) belong to the subfamily Alphaherpesvirinae are human neurotropic viruses that infect commonly the oral and genital area, respectively. Resistant viral isolates to acyclovir can be observed especially in immunocompromised patients. This scenario has triggered the search for new antiherpetic agents, especially those with mechanisms of action different to nucleoside analogs. Dengue virus (DENV), which belongs to the family Flaviviridae and genus *Flavivirus*, has become one of the most important vector-borne viruses in the world. The four known DENV serotypes (DENV 1–4) have a transmission cycle that requires invertebrate vectors (mosquitoes *Aedes aegypti*, *albopictus* and *polynesiensis*) and primates (predominantly humans). Infection by DENV can manifest as various illnesses, ranging from nonsevere dengue fever to severe dengue hemorrhagic fever and dengue shock syndrome. Annually, between 50 and 100 million cases of dengue occur worldwide. Currently, there are no vaccines or specific treatments for dengue [1].

Combretastatin A-4 (CA-4, 1) is a natural product isolated from the African willow tree *Combretum caffrum* and has been described over 20 years ago. We have obtained combretastatin-based hybrids in prior synthetic studies blending important pharmacophores structures of combretastatins with terpenoid skeletons that have shown a bioactive profile as the natural dialdehyde belonging to the labdane class of terpenoids, for example labdadienedial which were studied as cytotoxic, antiviral and antifungal agents [2].

### METHODOLOGY

The antiviral activity defined by the 50% effective concentration ( $EC_{50}$ ) for combretastatin Based- hybrids, diterpene derivative, the (+)-labdadienedial and controls [acyclovir (ACV), dextran sulfate (DEX-S), and heparin (HEP)] was evaluated against HHV-1 (KOS, 29R - acyclovir-sensitive and resistant strains, respectively), HHV-1 obtained from the Center for Disease Control (Atlanta, GA); HHV-2 (333 and VR-734 (G) acyclovir - sensitive strains) and DENV-2 using plaque reduction assay with different methodological strategies in stages pre and post infection. To determine selectivity indices (SI) anti-herpes and anti-DENV ( $IC_{50}/EC_{50}$ ), in parallel, we assessed the 50% cytotoxic concentration ( $IC_{50}$ ) for the MTT method.

### RESULTS AND DISCUSSION

The results demonstrated that (+) labdadienedial, DEX-S and HEP inhibited the initial phases of the viral replication cycle for HHV at concentrations  $\leq 7 \mu\text{M}$ ,  $2 \mu\text{g/mL}$ , and  $2 \mu\text{g/mL}$  respectively, and showed activity anti-DENV-2 in stage pre-infection at concentrations  $\leq 1 \mu\text{M}$ . The labdadienedial showed virucidal activity of inhibiting the attachment and viral entry to HHV strains. The (+)-Labdadienedial was patented in 1988 as an antitumor agent [3]. Recently, it has showed activity against HIV-1 neuraminidase [4]. Our group provided efficient synthetic route to prepare bioactive (E)-labda-8(17),12-diene-15,16-dial and also showed activity *in vitro* against HHV[5,2].

## CONCLUSIONS

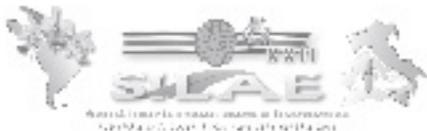
Labdadienedial presented the antiherpetic activity in early stages of viral replication cycle, defining it as a possible candidate for Topical drug development, these data should be confirmed in *in vivo* assays.

## FUNDS

Financial support came from COLCIENCIAS Grant RC-366-2011 (Patrimonio Autónomo del Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas) and CODI- Mediana Cuantía 2010/ code 2515- University of Antioquia.

## REFERENCES

1. Martínez-Gutierrez M, Castellanos JE, Gallego-Gómez JC. Intervirology. 2011; 54(4):202-16.
2. González MA, Pérez-Guaita D, Agudelo-Gómez LS, Tangarife-Castaño V, Zapata B, Betancur-Galvis L. Natural Product Communications. 2012; 7(8):1051-1056.
3. Itokawa H., Morita H., Katou I., Takeya K., Cavalheiro A. J., de Oliveira R. C. B., Ishige M., Motidome M., Planta Med. 1988; 54: 311-315.
4. Upadhyay A, Chompoo J, Kishimoto W, Makise T, Tawata S. J Agric Food Chem. 2011; 59(7):2857-62.
5. González MA, Mancebo-Aracil J, Tangarife-Castaño V, Agudelo-Gómez L, Zapata B, Mesa-Arango A, Betancur-Galvis L. Eur J Med Chem. 2010;45(9):4403-8.



## UN FLAVONOIDE PRENILADO DE *Dalea elegans* REVIERTE LA RESISTENCIA AL FLUCONAZOL EN *Candida albicans*

M.A. Peralta<sup>1</sup>, M. Calise<sup>2,3</sup>, S. Finck<sup>2,3</sup>, M. G. Ortega<sup>1</sup>, R.A. Diez<sup>2</sup>, J.L. Cabrera<sup>1</sup>, **C. Pérez<sup>3</sup>**

1. Farmacognosia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba; Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-CONICET), Córdoba, Argentina.

2. Farmacología, Facultad de Medicina.

3. Farmacología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

### INTRODUCCIÓN

En consonancia con la OMS, que promueve la búsqueda de medicamentos a partir de recursos naturales, en trabajos anteriores informamos sobre la actividad antimicrobiana de un flavonoide prenilado aislado de la planta argentina *Dalea elegans*. Se trata del 2', 4'-dihidroxi-5'-(1''', 1'''-dimetilalil)-6-prenilpinocembrina, abreviado como 6PP, activo sobre cepas multi-resistentes de *S. aureus* y *C. albicans* de origen nosocomial (1). Este compuesto tiene también acción antioxidante y bloquea la producción de energía mitocondrial a través de la inhibición de enzimas del ciclo de Krebs, la cadena respiratoria y la síntesis de ATP proveniente de la fosforilación oxidativa (2).

Un mecanismo importante de resistencia es la expulsión de antimicrobianos mediada por transportadores, cuya inhibición incrementa la concentración intracelular de estos fármacos y consecuentemente revierte la resistencia. En este trabajo se compilan efectos del 6PP y del fluconazol sobre el transporte de antimicóticos azólicos, así como sobre el crecimiento (3) y viabilidad celular de *Candida albicans* resistente a azoles

### MATERIALES Y MÉTODOS

La planta *Dalea elegans* Gillies ex Hook. et Arn. (Fabaceae) fue recolectada en Córdoba, Argentina. El 6PP fue extraído y aislado por distintos procedimientos de cromatografía.

Se midió por citometría de flujo la extrusión de rodamina 6G en *C. albicans* resistente (C.a. R) y *C. albicans* sensible (C.a.S) aisladas de la cavidad bucal y donadas por el Dr. T. White (EE.UU.). La primera expresa genes codificadores de los transportadores CDR1, CDR2 y MDR1.

Se estudió el crecimiento de Ca R por espectrofotometría a 540 nm en placas de microtitulación en presencia y ausencia de fluconazol, 6PP o sus combinaciones. A inóculos mayores, se determinó la viabilidad de *C. albicans* a través del recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en distintas condiciones experimentales.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 6PP inhibió el eflujo de rodamina 6G sólo en la C.a. R, con una CI<sub>50</sub> de 120 µM. El 6PP y el fluconazol compiten con la rodamina por los transportadores CDR1; un efecto similar fue producido por otros flavonoides relacionados químicamente y el verapamilo (bloqueante de los transportadores CDR1).

El 6PP, en medio líquido, inhibe el crecimiento celular; su CI<sub>50</sub> es 150 µM, en tanto la del fluconazol tiene un valor de 1126 µM y en presencia de 6PP 100 µM disminuye a un valor similar al registrado con CaS.

A 125 µM, el 6PP reduce en 40 % las UFC/ml respecto del control, en tanto al combinarse con el flz a igual concentración la reducción es del 63 %. Se colige, entonces, que el 6PP permite al flz manifestar su efecto inhibitorio de la viabilidad celular.

## CONCLUSIONES

Los datos experimentales son compatibles con una acción dual del 6PP: antimicótica *per se* y bloqueante de los transportadores CDR (dependientes de ATP). El resultado es la recuperación de la sensibilidad de *C. albicans* a los azoles. Además de inhibir el desarrollo del hongo, la combinación del flz y 6PP disminuye notablemente la supervivencia de las levaduras, estimada como UFC/ml.

La terapia combinada de ambos medicamentos podría ser relevante para el tratamiento de candidiasis, particularmente en pacientes inmunodeprimidos, incrementados tras el advenimiento del SIDA.

## BIBLIOGRAFÍA

C. Pérez, I. N. Tiraboschi, M. G. Ortega, A. M. Agnese and J. L. Cabrera. *Pharmaceutical Biology* 41, 3, 171-175, 2003.

I. Elingold, M.P. Isollabella, M. Casanova; A.M. Celentano, C. Pérez, J. L. Cabrera. R.A. Diez & M. Dubin. *Chemico-Biological Interactions*, 171, 294-305, 2008.

M. A. Peralta, M. Calise, M. C. Fornari, M. G. Ortega, R. A. Diez, J. L. Cabrera, C. Pérez. *Planta Medica* 78 (10): 981-987.2012.

## FINANCIAMIENTO

Subsidio FONCyT: BID PICT n°. 06-02398 y Fundación CONAMED.