

### IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LIGNANOS ANÁLOGOS A LA PODOFILOTOXINA EN DIFERENTES CULTIVOS DE *Hyptis verticillata*

Miguel Ángel Trujillo Vera<sup>1</sup> Rogelio Pereda Miranda<sup>2</sup> y María Luisa Villarreal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. <sup>2</sup>Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

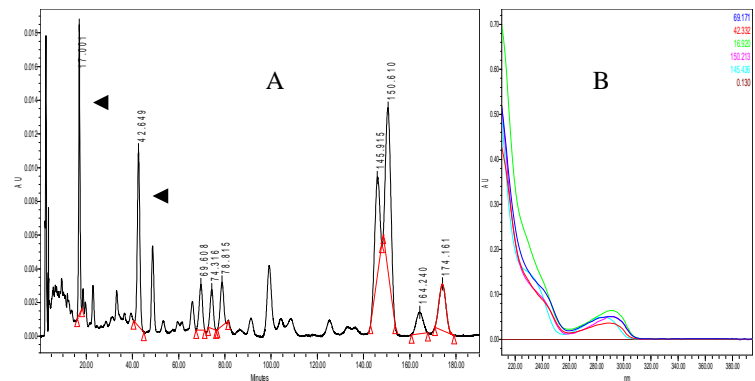
*Palabras clave:* Lignanos, podofilotoxina, cultivo de tejidos *Hyptis verticillata*

**Introducción.** La podofilotoxina y compuestos análogos son lignanos que poseen actividades citotóxicas, antineoplásicas y antivirales importantes<sup>1</sup>. Existe un gran interés por identificar fuentes naturales alternas a especies del género *Podophyllum* para la obtención y producción de podofilotoxina<sup>2</sup>.

**Metodología.** Se obtuvieron explantes a partir de extremos apicales de plantas de *H. verticillata* se desinfectaron y se cultivaron en medio MS. Para inducir la formación de callos, los explantes obtenidos de cortes de tallos y hojas enteras se cultivaron en medio de cultivo MS, en 44 diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento vegetales que incluyeron: 2,4-D, ANA, CIN, y BAP. Se realizó el enraizamiento de plántulas micropropagadas *in vitro* utilizando diversas concentraciones de AIA. Posteriormente, se llevó a cabo la aclimatación del plántulas enraizadas en sustrato "peat moss" e hidroponía. Finalmente, las plántulas aclimatadas se llevaron a condiciones de invernadero. La identificación y cuantificación de lignanos se realizó por cromatografía de líquidos CLAE y espectrofotometría de absorción de UV. Además, se identificó podofilotoxina por RMN.

**Resultados y discusión.** A través de subcultivos sucesivos de cortes de plántulas se obtuvieron un total de 254 clonas en un periodo de 6 meses. Los resultados indican una respuesta positiva de inducción de callos en 61 % de los tratamientos (fig 1). De manera general, se observó que los explantes de tallo y hojas presentaron mejor respuesta a inducir callos en aquellos tratamientos adicionados con diferentes niveles de 2, 4-D. Se obtuvo un 60% de callos friables con posible potencial para iniciar cultivos en suspensión. Los cortes de tallos fueron los mejores explantes para la calogénesis. Se obtuvo el 100 % de inducción de raíces al adicionar 0.7 mg/L de AIA. Se logró la aclimatación de las plantas enraizadas con un porcentaje de sobrevivencia del 100% en el tratamiento con "peat moss" y un 79.98 % en hidroponía sin diferencias significativas entre estos dos tratamientos. Estas plantas, también se pudieron establecer en condiciones de invernadero con un porcentaje de sobrevivencia del 100%. El análisis cualitativo por CLAE de los extractos muestra un perfil con presencia de varios lignanos análogos a la podofilotoxina de acuerdo a sus espectros de UV (fig. 1). Se identificó un lignano análogo

a la podofilotoxina con un tiempo de retención promedio de 16.9 min que se presentó solamente en condiciones *in vitro*. El análisis cuantitativo indicó que el contenido de podofilotoxina en los extractos de plantas enraizadas, en fotoperiodo, *in vitro* y silvestres se encuentra en los mismos rangos reportados en la literatura de 0.005-0.32% del peso seco en diversas familias botánicas.



**Fig. 1. A** Perfil cromatográfico de un extracto de plantas *in vitro*, se señalan los picos que corresponden a la podofilotoxina y al nuevo lignano de 16.9 min . **B** Espectros de absorción de lignanos análogos a la podofilotoxina.

**Conclusiones.** Por primera vez se establecieron cultivos *in vitro* y en condiciones de invernadero de *H. verticillata*. Se logró inducir la formación de callos utilizando explantes de tallos y hojas de las plántulas obtenidas *in vitro*, en diferentes tratamientos con medio MS adicionado con diferentes combinaciones hormonales. El análisis cualitativo por CLAE de los extractos en diferentes condiciones de cultivo muestran un perfil cromatográfico donde se observó podofilotoxina y varios lignanos análogos de acuerdo a sus espectros de UV.

#### Bibliografía.

- Dewick PM. (2001). Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach. John Wiley & Sons Ltd.U.K. 2ª Edición. p. 130-135.
- Mohagheghzadeh A., Schmith TJ. y Alferman W. (2001). Arylnaphthalene lignans from *in vitro* cultures of *Linum austriacum*. *J. Nat. Prod.* 65: 69-71.