

### DETECCIÓN DE PACLITAXEL Y TAXANOS EN CALLOS DE *Taxus globosa*

<sup>1</sup>Israel Benítez-García, <sup>2</sup>Mercedes Bonfill, <sup>2</sup>Rosa M. Cusidó, <sup>1</sup>Pablo E. Vanegas-Espinoza, <sup>1</sup>Lidia T. Osuna-Torres, <sup>1</sup>Alma A. Del Villar-Martínez. <sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN, Km: 8.5 Carretera Yautepec-Jojutla, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos. México. CP 62731. Tel (735) 394 2020, Fax (735) 394 1896, <sup>2</sup>Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Av. Diagonal 643, 08028 Barcelona, España.  
E-mail: [pvanegas@ipn.mx](mailto:pvanegas@ipn.mx)

Palabras clave: *paclitaxel, Taxus globosa, cultivos celulares in vitro.*

**Introducción.** El paclitaxel y otros taxanos relacionados actúan como antimitótico, contra diversos tipos de cáncer, el paclitaxel se obtenía principalmente de la corteza interna de árboles del género *Taxus*, actualmente se obtiene por biosíntesis química a partir de baccatina III y de cultivos celulares de especies de *Taxus*. La especie *Taxus globosa* presenta un alto contenido de paclitaxel (1) y a la fecha se desconocen reportes sobre el establecimiento de cultivos celulares *in vitro*, para la producción de este compuesto con la especie.

El objetivo de este trabajo fue analizar y cuantificar la producción de paclitaxel y taxanos relacionados en cultivos celulares de *Taxus globosa*.

**Metodología.** Para la obtención de callo, se utilizaron explantes de hojas provenientes de plántulas cultivadas en invernadero, las cuales fueron desinfectadas con detergente, etanol, tetraciclina, hipoclorito de sodio y agrimicina y fueron sembrados en medio de cultivo B5 de inducción (ANA 2 mg/L). Posterior a la obtención de callo, se subcultivó en medio B5 de producción (picloram 4 mg/L, cinetina 1 mg/L y AG<sub>3</sub> 0.5 mg/L), para favorecer la producción de paclitaxel (2). Se analizó el crecimiento celular de los callos subcultivados en el medio B5 antes descrito y a partir de material seco se analizó la producción de taxanos, partiendo de una extracción metanólica del callo seco, siguiendo el método propuesto por Fett-Neto y col. (1992), finalmente la extracción metanólica fue analizada por UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography), para conocer el contenido y la cuantificación de paclitaxel y otros taxanos relacionados.

**Resultado y discusión.** Los callos subcultivados en medio B5 de producción tuvieron un índice de crecimiento celular de 0.44 g y un tiempo de duplicación de 13 días (figura 1). De acuerdo con los resultados obtenidos por UPLC, en el día 34 se produce la mayor cantidad de taxanos, mientras que en los días 17, 25 y 28 la baccatina III y en el día 34, la cefalomanina, en los días 0, 7 y 34 del cultivo se presentó la mayor producción de paclitaxel (figura 2).

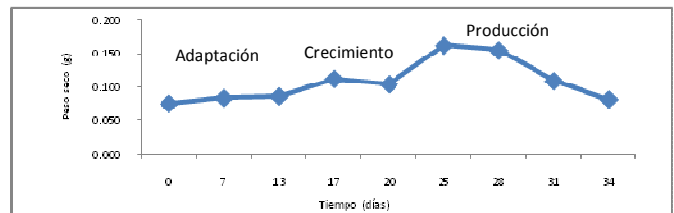


Fig. 1. Cinética de crecimiento celular de *T. globosa* en medio de cultivo B5 de producción.

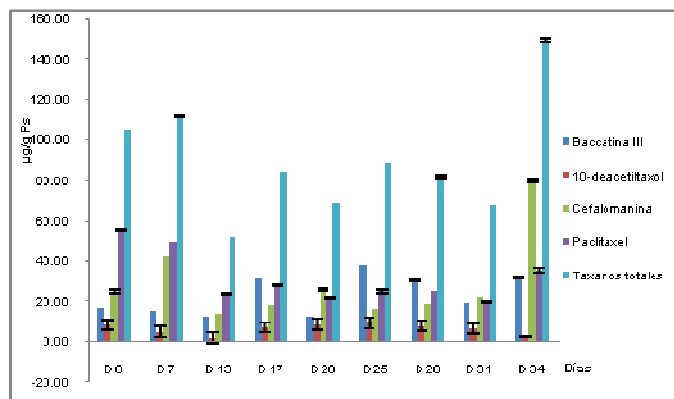


Fig. 2. Análisis y cuantificación de taxanos a partir de extractos metanólicos de callo de *Taxus globosa*.

**Conclusiones.** La determinación y cuantificación de taxanos en cultivo *in vitro* de *T. globosa*, se logró a partir de material desarrollado en medio de producción B5. Mediante curva de calibración se cuantificó la producción de baccatina III, cefalomanina y paclitaxel. La mayor producción de paclitaxel se presentó en la fase de adaptación y la mayor acumulación de taxanos se presentó en la fase de producción.

#### Bibliografía.

1. Van-Rozendaal, E.L.M. 1999. Screening of the needles of different yew species and cultivars for paclitaxel and related taxoids. *Phytochem.* 53(3): 383-389.
2. Cusidó, R.M, Palazón, J, Bonfill, M, Navia-Osorio, A, Morales, C, Piñol, M.T. 1999. Production of taxol and baccatin III by a selected *Taxus baccata* callus line and its derived cell suspension culture. *Plant Sci.* 146(2): 101-107
3. Fett-Neto, A. G, DiCosmo, F, Reynolds, W.F y Sakata, K. 1992. Cell cultura of *Taxus* as a source of the antineoplastic drug taxol and related taxanes. *BioTech.* 10(12):1572-1576.