

**PRODUCCIÓN DE AGENTES ANTI VIH-1 EN CULTIVOS *IN VITRO* DEL ARBOL TROPICAL *Calophyllum brasiliense* CAMBES**

Antonio Bernabé A., Leticia Buendía G., Víctor M. Chávez A., Ricardo Reyes C., Francisco Cruz S.

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Depto. de Biotecnología, San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina CP 09340, México D.F. Tel: 01 (55) 58 04 47 14; Fax 01 (55) 58 04 47 12. E-mail: [bernabe\\_aa@hotmail.com](mailto:bernabe_aa@hotmail.com).

Palabras clave: *Calophyllum brasiliense*, cultivo *in vitro*, agentes VIH -1.

**Introducción.** *Calophyllum brasiliense* (Cambes), es un árbol de 45m que en México se distribuye en la zonas tropicales restringidas. El género *Calophyllum* está tomando relevancia por sus usos farmacológicos con efectos antidepressivos, antioxidantes y antimicrobianos. Esta especie tiene dos razas que presentan diferencias químicas y anatómicas en la hoja; la primera raza denominada quimiotipo 1 contiene coumarinas tipo *mammea* activas contra el cancer, y el quimiotipo 2 contiene calanólidos A y B, que son inhibidores potentes *in vitro* de del VIH-1 (1).

Como parte de conservación del quimiotipo 2 en este trabajo, discutimos la influencia de diferentes RGV en la inducción de callo en explantes de hoja juveniles y semilla maduras de *C. brasiliense* y evaluamos la producción, en los cultivos, los compuestos activos contra el VIH-1, calanólidos y otros compuestos mayoritarios de la planta como el ácido apetalico.

**Metodología.** Se recolectaron semillas de *C. brasiliense* en Los Tuxtlas, Veracruz, México. Se pusieron a germinar y de las plántulas se cortaron hojas juveniles para los cultivos *in vitro*. Las hojas y semillas se desinfectaron, segmentaron y fueron incubadas en medio WPM con 250 mg/L de PVP y 0.18% de phytigel. Se evaluaron diferentes combinaciones y concentraciones de RCV en rangos de 0.0-2.5 mg/L para KIN, 2,4-D y ANA, y 0.0-6.0 mg/L BAP, TDZ, AIB y picloram (PIC), solos y sus combinaciones. Los cultivos se incubaron en oscuridad continua a 26 ± 2 °C. De hojas maduras y los cultivos se tomaron muestras de 500 mg y se les realizo una extracción con hexano, las cuales fueron analizadas por HPLC.

**Resultados y discusión.** La respuesta a raíz ocurrió a los 40 días en explantes de hoja, dos semanas más tarde las raíces dieron origen a callo. Las semillas produjeron callo en menor tiempo (10 días), las cuales indujeron callo friable. Los tratamientos conteniendo 2,4 D, TDZ y AIB tuvieron un efecto despreciable en los explantes evaluados en las concentraciones mencionadas. La máxima respuesta en hoja, para la producción de callo, fue del 91.67% con PIC 2mg/L + BAP 4 mg/L siendo el callo compacto y mostrando un bajo crecimiento; sin embargo, la adición de KIN 0.1 mg/L + ANA 1 mg/L mostró una inducción del 77.83% para la rizogénesis y

dos semanas después callogénesis (Figura 1a). Los explantes de semilla expresaron la máxima respuesta (100%) con BAP 2 mg/L + PIC 6 mg/L con callos de color blanco al inicio y finalmente de color café claro y de aspecto friable (Figura 1b). Estos cultivos al presentar la mayor inducción y características del callo de mejor calidad en explantes de hoja (CRH) y semilla (CS), y las hojas maduras (HM) como control fueron empleados para el análisis por HPLC.

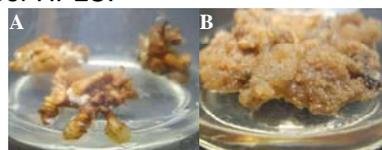


Fig. 1. Respuestas morfológicas inducidas. Hoja: a) callos con KIN+ANA. Semilla: b) callo friable con PIC+BAP.

El callo inducido de semilla (CS) mostró la máxima producción de calanólido B y C con 255.8 y 97.3 mg, y de ácido apetalico (AA) con 25.5 mg/g (peso seco), siendo 100 veces mas la producción del calanólido B comparado con lo producido en la hoja de la planta. Resultados similares fueron encontrados en *C. inophyllum*, en el cual hubo mayor producción de inophyllum A, B, C y D en callos de semilla (2).

Tabla 1. Análisis cuantitativo de calanólidos y ácido apetalico en callos y/o raíces y hojas maduras de *C. brasiliense*.

	mg/g de biomasa (peso seco)		
	Cal B	Cal C	AA
HM	2.5 b	0.00 b	3.4 ab
CRH	1.0 b	0.00	0.00 b
CS	255.8 a	97.3	25.5 a

**Conclusiones.** El tipo de explante influyó en la producción de los agentes HIV-1, siendo el callo inducido en la semilla el que mostró mayor contenido de éstos.

**Bibliografía.**

- Huerta RM, Basualdo M, Abe F, Jiménez EM, Soler C. y Reyes CR. (2004). HIV-1 Inhibitory Compounds from *Calophyllum brasiliense* Leaves. *Biol. Pharm. Bull.* 27 (9) 1471-1475.
- Kiran DP, Swati PJ, Sunil RB y Shubhada RT. (2007). Pattern of anti HIV dypiranocoumarin expression in callus cultures of *Calophyllum inophyllum* Linn. *J. Biotechnol.* 130: 346-353.