



ESTABLECIMIENTO DE UN CULTIVO DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE *Waltheria americana* Linn. PARA LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS CON POTENCIAL ANTICONVULSIVO ASOCIADO AL SISTEMA GABA-ÉRGICO.

Jorge Mundo¹; Ismael León²; María del Carmen Gutiérrez¹, Maribel Herrera³, Irene Perea¹. ¹Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), ²Centro de Investigaciones Químicas (CIQ). Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad # 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México C. P. 62209. ³Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, Argentina 1, Col. Centro Xochitepec, Morelos, México C.P. 62790, worldfree_7@hotmail.com.

Palabras clave: GABA, crisis convulsivas, *Waltheria indica*.

Introducción. *Waltheria americana* Linn (1), conocida en México como guasimilla, tapacola o manrubio, es utilizada tradicionalmente para tratar desordenes nerviosos. Se ha comprobado la actividad analgésica (2), sedante y anticonvulsiva (3) de extractos obtenidos de la planta silvestre y la inducción de la liberación del neurotransmisor ácido γ -amino butírico (GABA) por los metabolitos secundarios presentes en los extractos de la biomasa de cultivos en suspensión (CS) (4).

El objetivo de éste proyecto fue establecer y caracterizar un cultivo de células en suspensión de *W. americana* para la producción de compuestos con efecto sobre la liberación del neurotransmisor GABA y la evaluación de su potencial anticonvulsivo.

Metodología. Para generar los CS fue empleando callo friable formado a partir de la exposición de plántulas axénicas a los reguladores de crecimiento ácido 2,4 diclorofenoxiacético y 6-bencilaminopurina, el callo se colocó en medio Murashige and Skoog (MS) líquido en constante agitación a 110 rpm, posteriormente se realizó una cinética de crecimiento en un periodo de 10 semanas. Para el aislamiento de compuestos del extracto metanólico de células de CS se realizó un fraccionamiento por HPLC utilizando un sistema de elución en gradiente: MeOH / H₂O grado HPLC en columna semi-preparativa ULTRASIL™ (10 mm d.i. 250 mm, 10 μ m). Se evaluó mediante un sistema de incubación en ensayos *in vitro* con rebanadas de corteza cerebral de ratón, la liberación de GABA, provocada por las fracciones obtenidas a una concentración de 100 μ g/ml y fue evaluado el potencial anticonvulsivo del extracto metanólico completo de células de CS a una dosis de 100 y 200 mg/Kg v.o. sobre un modelo de inducción de crisis convulsivas por la administración de 80 mg/Kg de pentilinetetrazol (PTZ) v.i.

Resultados. Al establecer el cultivo se observó disgregación del tejido calloso, crecimiento y proliferación de células libres. La cinética de crecimiento mostró las fases de crecimiento características de los CS: fase de adaptación en las primeras 3 semanas del cultivo, fase exponencial hasta la quinta semana donde se registró el

valor máximo de biomasa, a partir de la cual los cultivos entraron en la fase estacionaria, para morir entre la séptima y décima semana de observación. La separación de los componentes del extracto por HPLC permitió recuperar 3 fracciones, las cuales se denominaron: F1-WAsc-8RC, F2-WAsc-8RC y F3-WAsc-8RC. Al analizar las fracciones a 100 μ g/ml sobre el modelo *in vitro* de liberación de GABA, el efecto fue atribuido a las 3 fracciones, sin diferencia significativa al observado en presencia de un estímulo de liberación (control positivo), sin embargo sólo la fracción F1-WAsc-8RC muestra un aumento significativo en la liberación de GABA con respecto a la tendencia de liberación obtenida al evaluar el extracto completo (4). Al evaluar el potencial anticonvulsivo del extracto metanólico completo de células de CS a una dosis de 100 y 200 mg/Kg v.o. se observó un aumento positivo sobre el tiempo de latencia a la dosis de 100 mg/Kg y un porcentaje de protección contra la muerte del 28.57% a la dosis de 200 mg/Kg.

Conclusiones. Estos resultados corroboran las propiedades etnobotánicas otorgadas a *W. americana* al sugerir que los CS de ésta especie producen compuestos inductores de la liberación de GABA con potencial anticonvulsivo, lo cual les atribuye un alto valor para el desarrollo de nuevas drogas activas. Se dirigirá la investigación hacia la purificación y caracterización de los compuestos.

Agradecimiento. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca no. 254148.

Bibliografía.

1. Zongo Frank, Ribouot C, Boumendjel A, Guissou I. 2013. Fundamental and Clinical Pharmacology. Vol. 28 (2014) pp. 323-330.
2. Mohammed Z, Shok M, Ilyas N, Musa K, Yaro A. 2007. European Journal of Scientific Research. Vol. 16 (1) pp. 6-9.
3. Hamidu L, Ayo J, Adelaiyre A, Abubakar M. 2008. Journal of pharmacology and toxicology; Vol. 3 (4) pp. 261-266.
4. Mundo J, Castillo-España P, Gutierrez M, Abarca C, León-Rivera I, Arellano-García J, Perea-Arango I. 2015. Afr. J. Pharm. Pharmacol. Vol. 9(5) pp. 139-144.