



## INCREMENTO EN LA PRODUCCIÓN DE VERBASCÓSIDO EN CULTIVOS EN SUSPENSIÓN DE *BUDDLEJA CORDATA* KUNTH EMPLEANDO L-FENILALANINA COMO PRECURSOR

Hypatia Arano-Varela<sup>1</sup>; Francisco Cruz-Sosa<sup>1</sup>; María Elena Estrada-Zúñiga<sup>2</sup>; Francisco José Fernández-Perrino<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México Campus El Cerrillo.

e-mail: fjfp@xanum.uam.mx

Palabras clave: *Buddleja cordata* Kunth, cultivos en suspensión, verbascósido.

**Introducción.** El verbascósido (VB) es un feniletanolglicósido (PhG) aislado a partir de diversas especies vegetales, que ha mostrado un amplio espectro de actividades biológicas (1). La síntesis química del compuesto ha sido lograda, pero su producción no resulta costosa (2). En 2009 se estableció una línea celular de *Buddleja cordata* productora de VB (3), la cual ha sido restablecida y no ha mostrado diferencias significativas en el crecimiento ( $\mu$  de  $0.175 \pm 0.016$ ), aunque la producción de VB se ha incrementado de 1.44 a 1.48 g/L y pensamos que podría potenciarse aún más (4). La aplicación exógena de precursores biosintéticos en el medio de cultivo es una estrategia empleada habitualmente en el cultivo de células vegetales para incrementar la producción de compuestos bioactivos (3,4).

El objetivo de este trabajo fue incrementar la producción de VB en cultivos celulares en suspensión de *B. cordata* empleando L-fenilalanina (L-Phe) como precursor.

**Metodología.** Se adicionaron concentraciones 0, 0.2, 0.4 y 0.6 mM de L-Phe, mediante filtro esterilizado, a cultivos en suspensión de *B. cordata* los días tres ( $t_3$ ) y trece ( $t_{13}$ ) de incubación (correspondientes al inicio y final de la fase exponencial decrecimiento de la línea celular). Se colectaron muestras por duplicado cada tercer día a partir de la adición de L-Phe, hasta alcanzar diecinueve días de incubación. La producción de VB se determinó mediante HPLC, usando quercetina como estándar interno. Los cultivos fueron mantenidos e iniciados de acuerdo a la metodología descrita por Estrada-Zúñiga y col. (1).

**Resultados.** La concentración y el tiempo de adición de L-Phe a los cultivos afectó al crecimiento y la producción de VB en comparación con el tratamiento control. Cuando el compuesto se adicionó al  $t_3$  todas las concentraciones probadas provocaron un decremento en la producción de biomasa del 14% y 17% al día 13 y 17 de incubación, respectivamente (Fig. 1a). El efecto opuesto se obtuvo cuando se adicionó la L-Phe en el  $t_{13}$ , determinándose en el día 15 de incubación un incremento en la producción de biomasa del 20% con concentraciones de L-Phe de 0.2 y 0.6 mM, y del 7.5% con 0.4 mM (Fig. 2a). La producción de VB fue potenciada con L-Phe 0.6 mM, incrementándose un 40% (0.77 g/L; control= 0.51 g/L) en el día 11 del tratamiento  $t_3$  (Fig. 1b) y un 98%

(2.80 g/L; control= 1.41 g/L) en el día 19 del tratamiento  $t_{13}$  (Fig. 2b).

Los valores de producción de metabolitos determinados en el presente trabajo son superiores a los reportados para otras especies vegetales del mismo orden: la adición al inicio de la fase exponencial de L-Phe incrementó la producción de PhGs totales en un 75% (~1.10 g/L) con 0.2 mM en *Cistanche deserticola* (3) y en un 18.6%, (~286.4 mg/L) con 0.3-0.6 mM en *Cistanche salsa* (4).

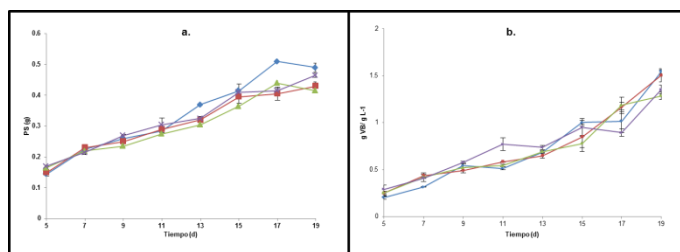


Figura 1. Producción de biomasa (a) y verbascósido (b) después de la adición de L-Phe al inicio de fase exponencial ( $t_3$ ). Control ; 0.2 mM ; 0.4 mM ; 0.6 mM

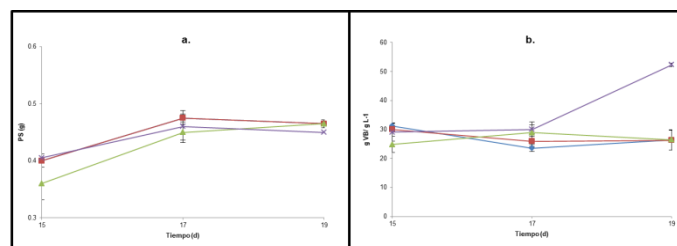


Figura 2. Producción de biomasa (a) y verbascósido (b) después de la adición de L-Phe al final de la fase exponencial ( $t_{13}$ ). Control ; 0.2 mM ; 0.4 mM ; 0.6 mM

**Conclusiones.** La adición de L-Phe a los cultivos en suspensión de *B. cordata* favoreció, tanto al inicio como al final de la fase exponencial, la producción de VB, siendo 0.6 mM la concentración óptima. El mayor contenido de VB (2.80 g/L) se determinó al adicionar L-Phe al final de la fase exponencial.

### Bibliografía.

- Estrada-Zúñiga M.E., Cruz-Sosa F., Verde-Calvo R., Rodríguez-Monroy M., Vernon-Carter E.J. (2009) *Plant Cell Tiss Org* 64: 9268-9271.
- Arano-Varela H., Cruz-Sosa F., Estrada-Zúñiga M.E., Fernández-Perrino F.J. (2014) Restablecimiento de cultivos de células en suspensión de *Buddleja cordata* Kunth. *Tercer Simposium: Perspectivas en Biotecnología*. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa Posgrado en Biotecnología. México D.F., 28 de marzo de 2014, pag. 17.
- Ouyang ., Wang X., Zhao B., Wang Y. (2005) *Process Biochem* 40: 3480-3484.
- Liu J.Y., Guo Z.G., Zeng Z.L. (2007) *Biochem Eng J* 33: 88-93.