



METABOLITOS CITOTÓXICOS AISLADOS DE PLANTAS SILVESTRES Y RAÍCES TRANSFORMADAS DE *Linum scabrellum*

Ivonne Alejandre García¹, Silvia Marquina Bahena², Laura Patricia Álvarez Berber², Alexandre Cardoso Taketa¹, María Luisa Villarreal Ortega ¹. Centro de Investigación en Biotecnología. 2. Centro de Investigaciones Químicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001. Col Chamilpa. C.P 62210. iv_alejandre@yahoo.com.mx

Metabolitos citotóxicos, lignanos, 6-metoxipodofilotoxina

Introducción. Alrededor del 60% de las medicinas utilizadas en el tratamiento del cáncer han sido aisladas de productos naturales (Gordaliza, 2007); La podofilotoxina y sus derivados que se obtienen de dos especies sobreexplotadas: *Podophyllum peltatum* y *Podophyllum emodii*, representan importantes compuestos utilizados ampliamente en el tratamiento de algunos tipos de cáncer. Existe una creciente necesidad de descubrir nuevas fuentes naturales para la obtención de podofilotoxina o sus derivados. Los estudios biotecnológicos y fitoquímicos del género *Linum* han permitido la identificación de varios compuestos con actividad citotóxica. *Linum scabrellum* es una especie Mexicana con alta actividad citotóxica contra líneas de cáncer humano (Lautié, 2008) que fué previamente investigada en nuestro grupo de trabajo. El objetivo del presente estudio es aislar y elucidar a los metabolitos responsables de la actividad citotóxica tanto de la planta silvestre como de las raíces transformadas de esta especie.

Metodología. El material de la planta fue colectado en Querétaro, México. La separación del extracto diclorometanol/metanol (50/50) se llevó a cabo mediante cromatografía en columna abierta, y la elucidación estructural de los compuestos se realizó utilizando procedimientos espectroscópicos como: ¹H RMN, ¹³C RMN, HSQC, HMBC, DEPT y EM. La cuantificación del metabolito con actividad citotóxica se determinó mediante HPLC, La transformación genética se realizó infectando explantes de hoja de *Linum scabrellum* con la cepa de *Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834.

Resultados. El extracto diclorometanol/metanol de raíces de la planta silvestre de *Linum scabrellum* mostró actividad citotóxica contra cuatro líneas de cánceres humanos: colón (HF6 0.57µg/mL), próstata (PC3 1.60µg/mL), cervicouterino (SiHa 1.54µg/mL), y mama (MCF7 0.56µg/mL). El estudio fitoquímico permitió la identificación de ocho compuestos: (1) α-amirina, (2) estigmasterol, (3) ácido oleico, (4) ácido octadecenoico, (5) coniferina, (6) 6-metoxipodofilotoxina, (7) 6-metoxipodofilotoxina glucosilada, (8) pinoresinol. El compuesto 6 es el responsable de la actividad citotóxica contra cuatro líneas de cánceres humanos: HF6 0.07µg/mL, PC3 0.17µg/mL, SiHa 2.74µg/mL, MCF7

0.06µg/mL. Se generaron 14 líneas de raíces transformadas a partir de explantes de hoja de *Linum scabrellum*, se identificó y cuantificó el compuesto 6 en cada una de las líneas mediante HPLC. Solamente 9 de ellas (AM, D, E, F, H, I, J, L, M) presentaron un pico similar en tiempo de retención y la misma absorbancia comparada al control 6-metoxipodofilotoxina. La línea D y J presentaron la mayor concentración del compuesto 6 con 0.0034 mg/mL y 0.0031 mg/mL respectivamente, en comparación a la raíz no transformada cultivada *in vitro* (0.0020mg/mL), pero menor concentración con respecto a la raíz silvestre (0.0045mg/mL).

Se corroboró la transformación genética mediante un análisis de PCR amplificando los genes rol A (248pb) y rol C (490pb), resultando las 9 líneas positivas para ambos genes (Fig. 1).

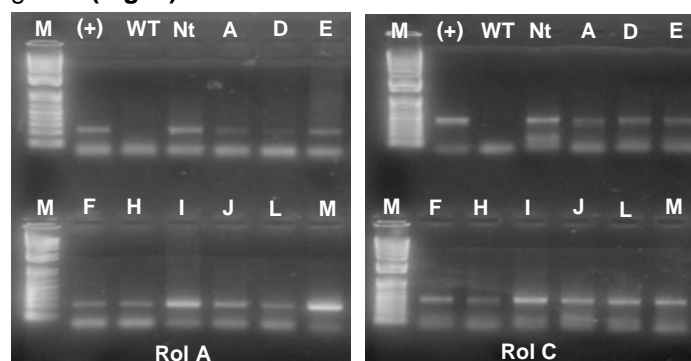


Fig. 1. Corroboración genética mediante la amplificación de los genes Rol A y Rol C de nueve líneas genéticamente transformadas (AM, D, E, F, H, I, J, L, M). M: marcador molecular, (+): DNA de *Agrobacterium rhizogenes*, WT: planta silvestre, (Nt): DNA de *Nicotiana tabacum*.

Conclusiones. Por primera vez se estableció el perfil fitoquímico de la especie *Linum scabrellum*, permitiendo la identificación de ocho compuestos siendo el compuesto 6 el responsable de la actividad citotóxica. Se establecieron nueve líneas transformadas de *Linum scabrellum* citotóxicas, productoras del compuesto 6.

Agradecimiento. Se agradece el financiamiento recibido por CONACyT.

Bibliografía. 1. Gordaliza, M. (2007). Natural products as leads to anticancer drugs. *Clinical and Translational Oncology*. 9, 767-776. 2. Lautié, E., Quintero, R., Fliniaux, M-A., Villarreal, M-L. (2008). Selection methodology with scoring system: Application to Mexican plants producing podophyllotoxin related lignans. *Journal of Ethnopharmacology*: 402-412.