



PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UN CULTIVO DE CELULAS EN SUSPENSIÓN DE *Calophyllum brasiliense*.

Daniel Cisneros-Torres¹, Antonio Bernabé-Antonio², Amalia Maldonado-Magaña³, M. del Pilar Nicasio-Torres⁴, Ma. Elena Estrada-Zuñiga⁵, Francisco Cruz-Sosa¹. ¹Departamento de Biotecnología. UAM-Iztapalapa. C.P. 09340, México, D.F. ²Departamento de Madera, Celulosa y Papel, CUCEI, Universidad de Guadalajara, C.P. 45100, Zapopan, Jalisco, México. ³Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, C.P. 62209, Cuernavaca, Morelos. ⁴Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, C.P. 62790 Xochitepec, Morelos, México ⁵Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, C.P. 50200, Toluca, Edo. de México, México.. E-mail: dacito@xanum.uam.mx

Palabras clave: Cultivos in vitro, Compuestos fenólicos, Actividad antioxidante.

Introducción. *Calophyllum brasiliense* es un árbol tropical que destaca por producir calanólidos y cumarinas capaces de inhibir la transcriptasa inversa del VIH-1 y cáncer (1,2). Las extracciones fitoquímicas de esta especie han sido realizadas directamente de la planta, y solo un trabajo ha sido reportado en cultivos de callos para producir calanólidos (3). Los compuestos antioxidantes han tomado importancia en la salud y es necesario buscar nuevos recursos renovables para producir este tipo de compuestos. *C. brasiliense* es rico en compuestos fenólicos y no se ha determinado la producción de estos en cultivos in vitro. El objetivo del presente trabajo fue establecer un cultivo de células en suspensión (CCS) de *C. brasiliense* y determinar la producción de fenoles y flavonoides totales y su capacidad antioxidante.

Metodología. Los CCS de *C. brasiliense* se iniciaron a partir de callos de hoja previamente establecidos con 6 mg/L PIC y 2 mg/L BA (3). El medio basal WPM fue sustituido por el MS y 0.5% de fructuosa. Matraces de 125 ml con 25 ml de MS líquido fue inoculado con 1.5 g de callo friable. Los cultivos se mantuvieron por 16 días en agitación constante a 110 rpm, 25 ± 2°C y con fotoperiodo de 16 horas. La biomasa seca (BS) de la cinética de crecimiento se usó para obtener los extractos metanólicos mediante sonicación. Los extractos obtenidos se usaron para determinar los fenoles (FLT) y flavonoides totales (FVT) por el método de Folin-Ciocalteu y AlCl₃, respectivamente. La capacidad antioxidante (CAO) se determinó por el método DPPH. Los datos se sometieron a un ANOVA y comparación de medias Tukey ($P \leq 0.5$).

Resultados. No se observó crecimiento en la biomasa celular de *C. brasiliense* usando el medio de cultivo WPM por lo que fue sustituido por el MS. Un rápido crecimiento de los CCS fue observado y subcultivos periódicos fueron realizados para incrementar la biomasa. La cinética de crecimiento se determinó durante 16 días. La fase lag duró 4 días y el crecimiento exponencial permaneció hasta los 12 días de cultivo en el cual se observó la máxima acumulación de biomasa seca (15.2 g/L). En términos generales, se observó una relación entre el crecimiento de la biomasa con la producción de FLT, FVT y CAO. La menor producción de compuestos y capacidad

antioxidante se mostró al inicio del cultivo. La mayor producción de FLT (60.1 mg AG/g BS), ocurrió a los 12 días, FVT (4.5 mg Cat/g BS) a los 16 días. La CAO (7.6 mM Trolox) con el radical DPPH se observó a los 12 y 16 días no habiendo diferencias estadísticas significativas entre estas (Tabla 1). Los resultados encontrados indican que las células de *C. brasiliense* en cultivo in vitro son capaces de producir compuestos fenólicos como en la planta silvestre y conservar su capacidad antioxidante.

Tabla 1. Crecimiento del cultivo (BS), compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de un cultivo de células en suspensión de *C. brasiliense*.

Día de cultivo	BS (g/L)	FLT (mg AG/g)	FVT (mg Cat/g)	CAO (mM Trolox)
0	4.8±0.2 ^e	28.9±0.8 ^f	2.4±0.0 ^c	4.2±0.0 ^b
2	4.8±0.0 ^e	33.2±1.0 ^e	2.5±0.3 ^{bc}	4.5±0.6 ^b
4	6.0±0.1 ^{ed}	39.8±1.0 ^d	3.0±0.2 ^{abc}	5.3±0.6 ^b
6	7.6±0.3 ^d	48.7±0.5 ^c	4.0±0.5 ^{abc}	7.4±0.1 ^a
8	10.1±0.3 ^c	58.9±0.8 ^b	4.4±0.1 ^a	7.7±0.1 ^a
10	12.2±0.5 ^b	50.3±0.8 ^c	3.8±0.2 ^{abc}	7.8±0.2 ^a
12	15.2±0.7 ^a	64.1±0.5 ^a	4.4±0.8 ^{ab}	8.3±0.4 ^a
14	13.8±0.9 ^{ab}	59.9±0.7 ^b	4.3±0.8 ^{abc}	7.8±0.2 ^a
16	12.1±0.1 ^b	59.7±0.5 ^b	4.5±0.5 ^a	8.1±0.0 ^a

Medias ± DS seguidas por la misma letra en columna no son estadísticamente diferentes.

Conclusiones. Es el primer trabajo reportando un cultivo de células en suspensión de *C. brasiliense*. Con la extracción fitoquímica por sonicación se permitió determinar los fenoles y flavonoides totales y su actividad antioxidante. Hubo una relación entre la producción de compuestos y el crecimiento del cultivo. Los CSC pueden ser usados en estudios posteriores para producir calanólidos y cumarinas tipo mammea con actividad antiviral y anticancerígena.

Agradecimiento. Al CONACYT por la beca otorgada al primer autor para realizar los estudios de Maestría en Biotecnología en la UAM-I.

Bibliografía.

- Huerta-Reyes M, Basualdo MC, Abe F, Jiménez-Estrada M, Soler C, Reyes-Chilpa R (2004). *Biol Pharm Bull.* 27:1471-1475.
- Reyes-Chilpa R, Estrada-Muñiz E, Apan R, et al. (2004). *Life Sci.* 75:1635-1647.
- Bernabé-Antonio A, Estrada-Zuñiga ME, Buendía-González L, Reyes-Chilpa R., Chávez-Ávila VM, Cruz-Sosa F (2010). *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 103:33-40.