



Generación de cultivos *in vitro* de *Cecropia obtusifolia* como fuentes productoras de compuestos hipoglucemiantes

Pilar Nicasio¹, Ma. Luisa Garduño², Victor Manuel Chávez³ y Francisco Cruz Sosa⁴

¹ Estudiante de Doctorado, Laboratorio de Biotecnología, CIBIS-IMSS. Teléfono y Fax: (777) 3

612155 Correo electrónico: pisaliva@yahoo.com.mx; ² Química de Productos Naturales y Evaluaciones Farmacológicas, CIQ-UAEM; ³ Jardín Botánico, IB-UNAM; ⁴ Departamento de Biotecnología, UAM-Iztapalapa

Palabras clave: *Cecropia obtusifolia*, hipoglucemiante, cultivos *in vitro*

Introducción: La Diabetes mellitus tipo 2 es un problema de salud mundial. Su ascenso como causa de defunción y la demanda de servicios para atenderla, justifican la búsqueda de sustancias que brinden un mejor espectro terapéutico. Las hojas del árbol de *Cecropia obtusifolia* “guarumbo”, son utilizadas en la medicina tradicional mexicana como hipoglucemiante (Figura 1)¹, propiedad que ha sido probada en roedores y en humanos¹⁻², atribuyendo dicha actividad a los compuestos ácido clorogénico (AC) e isoorientina (ISO)³. Las técnicas de cultivos de tejidos vegetales permiten la producción continua de material vegetal de *C. obtusifolia*; además, los cultivos generados *in vitro* podrían conservar la capacidad de producir los compuestos hipoglucemiantes.



Fig. 1. Características del árbol de *C. obtusifolia*.

Objetivo: Establecer las condiciones óptimas para la obtención de cultivos *in vitro* de *C. obtusifolia*.

Material y métodos: Hojas jóvenes de árboles adaptados de *C. obtusifolia* se removieron y se sumergieron en solución jabonosa, etanol al 70% e hipoclorito de sodio al 1.2% y 0.2% de Tween 20, finalmente se enjuagaron con agua estéril. Se cortaron asépticamente secciones de 5 mm² (explantes) y se transfirieron al medio de cultivo MS al 50% complementado con 15 g/l de sacarosa, 8 g/l de agar y 50 mg/l de cloranfenicol. Los explantes se incubaron a 26±2 °C bajo fotoperiodo de 16 h/luz (32 μM/seg.m²). Los explantes no contaminados se transfirieron a los medios para callogénesis, MS complementado con 30g/l de sacarosa y 8g/l de agar a pH 5.8, y las auxinas ANA, 2,4-D, AIA y AIB en diferentes concentraciones (4.46, 8.92 y 13.32 μM) combinadas con BAP (2.22 μM). Los pesos fresco y seco, así como las características de los callos formados se registraron a los 28 y 56 días. Los explantes de plántulas germinadas (tallo, hoja, hipocótilo y cotiledón) se sometieron a los mejores tratamientos para la inducción de callogénesis previamente seleccionados, evaluando las repuestas morfológicas a los mismos tiempos. En el caso de brotación múltiple, los brotes generados fueron separados y enraizados en el medio MS al 50% con 15 g/l de sacarosa y

8 g/l de agar, las plántulas generadas fueron aclimatadas a condiciones de invernadero. El contenido de AC e ISO en los extractos metanólicos de hojas de árboles silvestres, adaptados y micropropagados, así como de las biomásas de callos, fue determinado por HPLC utilizando una columna Chromolith RP-18e (100x4 mm), un sistema de gradientes H₂O (H₃PO₄-0.5%) y CH₃CN-CH₃OH (1:1) con un flujo de 1.0 ml/min y detección a 254 nm. Los tiempos de retención de AC (Sigma) e ISO (Indofine) fueron 7.5 y 15.6 min, respectivamente.

Resultados y conclusiones: Las mayores biomasa de callo del explante de hoja joven se obtuvieron con 2,4-D y ANA (8.92 μM). Los explantes de hoja, tallo, hipocótilo y cotiledón desarrollaron callo con presencia de raíces con la auxina 2,4-D, la apariencia de los callos varió de verde a amarillo pardo. Cuando se utilizó ANA, los explantes de hipocótilo, hoja y cotiledón formaron callo con abundantes raíces. En cambio, los explantes de tallo (6/8) formaron callo y el 25% restante callo con brotes. Todos los brotes derivados se enraizaron y se adaptaron exitosamente a condiciones de invernadero. El análisis químico indica que el origen de las plantas no influyó en la productividad (mg/g de hoja) de los compuestos hipoglucemiantes (2 meses: AC-3.6±0.89 e ISO-1.17±0.21; 6 meses: AC-1.61±0.78 e ISO-1.30±0.58), (Silvestre AC: 2.21±0.13, ISO: 1.10±0.1, Adaptada AC: 2.70±0.40 ISO: 2.11±0.10). En cambio, los cultivos de callos acumularon únicamente el compuesto AC. Las concentraciones detectadas en las diferentes líneas celulares fueron similares a las detectadas en las hojas, sin influir la auxina utilizada en su obtención. Actualmente el grupo de trabajo está trabajando sobre las estrategias biotecnológicas para inducir la producción de ISO e incrementar la producción de ambos compuestos.

Agradecimientos: Se agradece al IMSS el financiamiento otorgado (FOFOI-2004/077).

Bibliografía.

- Argueta A., Cano L., Asselein L., Rodarte M.E. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana, Tomo II. México, D.F. Instituto Nacional Indigenista (INI). 706-707
- Andrade-Cetto A. y Wiedenfeld H. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. 78: 145-149.
- Herrera-Arellano A., Aguilar-Santamaría L., García-hernández B., Nicasio-Torres P., Tortoriello J. 2004. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. Phytomedicine, 11: 561-566.