



ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS *in vitro* DE *Hamelia patens* Jaqc.

Donají A. Ramírez-López¹, Gabriela R. Luna-Palencia¹, Carmen Fontaine-Sánchez¹, Carlos M. Cerda-García-Rojas² y Ana C. Ramos-Valdivia¹.

¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería y ²Departamento de Química del CINVESTAV-IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. Col. San Pedro Zacatenco. México, D. F. 07360. Fax: (55) 5061-3313. aramos@cinvestav.mx

Palabras clave: *Hamelia patens*, alcaloides oxindólicos, Rubiaceae

Introducción. *Hamelia patens* Jaqc. (Rubiaceae) es un arbusto perenne que crece en áreas tropicales del continente americano y que puede alcanzar hasta los 3 m de altura; sus flores tubulares tienen una coloración rojo escarlata brillante. Esta planta se conoce como “bayetilla”, “trompetilla”, “coralillo” o “hierba coral” o “*Ix-canan*” (guardián de la selva) y es ampliamente utilizada en la medicina tradicional desde México hasta Argentina. En México, tiene 42 usos medicinales diferentes principalmente, lo utilizan para detener el sangrado de heridas, aliviar los dolores y en desórdenes menstruales. (1) *H. patens* contiene alcaloides del tipo oxindólico como la isopteropodina, rumberina, palmirina, maruquina y un alcaloide A. (2) Los alcaloides oxindólicos son ampliamente estudiados y comercializados actualmente, por su ya comprobada actividad inmunoreguladora y antitumoral. Además, de esta planta se ha aislado la efedrina, un alcaloide isoquinolínico. (3) Debido a la importancia farmacológica de los alcaloides oxindólicos, una alternativa biotecnológica es su producción mediante cultivos *in vitro* de *Hamelia patens*.

Metodología. La detección y cuantificación de alcaloides oxindólicos contenidos en la planta recolectada en Mapastepec, Chiapas, se realizó mediante HPLC (4). Las semillas de *Hamelia patens* se recolectaron en el poblado de Mapastepec, Chiapas. Las semillas previamente imbibidas en agua y desinfectadas se germinaron *in vitro* en medio semisólido sin reguladores de crecimiento con diferentes formulaciones de sales: MS, B5 y NN. De las plántulas obtenidas se utilizaron las hojas, raíces e hipocotilos para la inducción de callos. Se probaron diferentes concentraciones de 2,4-D (1-3 mg/L) y cinetina (1-2 mg/L). Los cultivos en suspensión se iniciaron en medio NN líquido a partir de los callos más friables.

Resultados y discusión. El análisis de alcaloides en las diferentes partes de la planta indica que contiene principalmente 7 alcaloides oxindólicos de los cuales se han identificado la pteropodina e isopteropodina, ver el cuadro 1. En cuanto al contenido total de alcaloides oxindólicos, se puede observar que el mayor contenido se encuentra en hojas (más de 20 veces comparado con el fruto). Para el inicio de los cultivos *in vitro*, las semillas de *H. patens* germinaron en medio semisólido NN. La mayor eficiencia de germinación

(5 días) se obtuvo con las semillas previamente remojadas y posteriormente, desinfectadas con etanol.

La inducción de callos friables se obtuvo a partir de hipocotilo y raíz, con una relación 2,4-D/cinetina de 2 y con lo cuales se iniciaron los cultivos celulares. Los callos se mantienen por subcultivo cada 25 días.

Cuadro 1. Contenido de alcaloides presentes en *Hamelia patens*

Tejido	Pteropodina ($\mu\text{g/g p.s.}$)	Isopteropodina ($\mu\text{g/g p.s.}$)	Oxindoles totales ($\mu\text{g/g p.s.}$)
Tallo	91.72	156.73	661.19
Hoja	375.93	51.99	7357.08
Fruto	**	**	1550.15
Semilla	22.87	798.15	1789.16

**Trazas

Conclusiones.

1. El mayor contenido de alcaloides oxindólicos ($\approx 0.7\%$) se encontró en hojas.
2. De los diferentes explantes probados, el hipocotilo y la raíz con la relación 2, 4-D / cinetina de 2 fueron los más adecuados para la obtención de callos friables de *Hamelia patens*, a partir de los cuales, se iniciaron los cultivos celulares.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado por CONACyT (proyecto No. 43228).

Bibliografía.

1. Argueta, A., Cano, L. y Rodarte, M. (1994). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México.
2. Reyes-Chilpa, R., Rivera, J., Oropeza, M., Mendoza, P., Amekraz, Jankowski, C. y Campos, M. (2004) Methanol Extracts of *Hamelia patens* Containing Oxindole Alkaloids Relax KCl-Induced Contraction in Rat Myometrium. *Biol. Pharm. Bull.* 27 (10): 1617-1620.
3. Soto-Sobenis, A., Castillo, B., Delgado, A., González, A. y Montenegro, R. (2001) Alkaloid Screening of Herbarium Samples of Rubiaceae from Panama. *Pharmaceutical Biology* 39 (3): 161-169.
4. Luna-Palencia, G. R., Cerda-García-Rojas, C. M., Rodríguez-Monroy, M. y Ramos-Valdivia, A. C. (2005) Influence of Auxins and Sucrose in Monoterpenoid Oxindole Alkaloid Production by *Uncaria tomentosa* Cell Suspension Cultures. *Biotechnol. Prog.* 21: 198-204.