

Producción de alcaloides oxindolterpénicos en cultivos de plántulas y de raíces propagadas *in vitro* de *Hamelia patens*

David Paniagua-Vega^a, Ariana A. Huerta-Heredia^a, Gabriela R. Luna-Palencia^a, Carlos M. Cerda-García-Rojas^b, Ana C. Ramos-Valdivia^a.

^aDepto. de Biotecnología y Bioingeniería, ^bDepto. de Química. CINVESTAV-IPN, México, DF. C.P. 07360.

E-mail: aramos@cinvestav.mx.

Palabras clave: *Hamelia patens*, alcaloides oxindólicos, plántulas, cultivo de raíces.

Los alcaloides oxindolterpénicos son metabolitos secundarios que se han aislado de especies de Rubiaceae. Actualmente son comercialmente atractivos por su actividad inmunoestimulante, antiviral y antitumoral (1). Dos sustancias representativas de este grupo son la pteropodina y la isopteropodina, las cuales se extraen de *Uncaria tomentosa*. La planta *Hamelia patens* "coralillo" es una Rubiácea, endémica de México. Sus estudios fitoquímicos describen la presencia de pteropodina e isopteropodina, además de otros cinco compuestos oxindólicos (2). La propagación *in vitro* de plántulas y raíces ha sido considerada una alternativa para la producción y un sistema modelo de investigación de metabolitos secundarios, ya que permite mantener el cultivo en condiciones controladas sin el uso de fitorreguladores de crecimiento. Si bien se ha reportado que los alcaloides oxindólicos se acumulan en diferentes partes de la planta, no se tienen estudios de su distribución en *H. patens*.

En este trabajo se propagaron plántulas y cultivos de raíces *in vitro* de *H. patens* y se comparó el contenido de alcaloides oxindólicos con el de la planta.

Metodología. Las semillas y tejidos de plantas de *Hamelia patens* fueron recolectados de Mapastepec, Chiapas. Las semillas se germinaron *in vitro* y se propagaron plántulas, a partir de explantes de la yema apical con el último par de hojas, utilizando medio Nitsch y Nitsch con 2% de sacarosa y Gelrite. Se incubaron con un fotoperiodo de 16 h de luz, a 550 lux por 80 días. Se estableció el cultivo de raíces a partir de raíces de plántula, en medio Gamborg's B5 suplementado con 2% de sacarosa. Se realizó una cinética de crecimiento en matraces con 100 ml de medio líquido inoculados con 1 g pf de raíces. Los matraces se incubaron con agitación de 110 rpm, a 25 °C, iluminación de 2500 lux, durante 30 días. La extracción diferencial y cuantificación de alcaloides oxindolterpénicos, se realizó por HPLC con arreglo de diodos según Luna-Palencia (3).

Resultados y discusión. En la Figura 1 se muestra la planta (A) y los cultivos *in vitro* de plántulas (B) y raíces propagadas (C) de *Hamelia patens*.



Fig. 1. Planta y cultivos de *H. patens*.

Las hojas de las plántulas propagadas tuvieron 2.26 veces el contenido total de alcaloides oxindólicos con respecto a las plantas, mientras que los tallos de las plántulas superaron en 6 veces el contenido de alcaloides respecto al

tallo de la planta. Las hojas de las plántulas mostraron una alta concentración de pteropodina (2.15 mg/g ps), y 14.54 mg/g ps de otros alcaloides oxindólicos no caracterizados de manera individual (Tabla 1). En total se encontraron once alcaloides oxindólicos en las hojas y nueve en el tallo de la plántula (Fig. 2). Los valores presentados en cultivo de raíces produjeron sólo pteropodina e isopteropodina, los cuales fueron detectados en el medio de cultivo. Las hojas de plántula nos brindarán la posibilidad de caracterizar alcaloides oxindólicos no reportados en *Hamelia patens*.

Tabla 1. Comparativo en la producción de alcaloides oxindólicos de plantas y plántulas y raíces propagadas de *Hamelia patens*.

Tejidos	Pteropodina mg/g ps	Isopteropodina mg/g ps	Otros oxindo- les mg/g ps	Oxindoles tot. mg/g ps
PLANTA				
Tallo	0.09	0.15	0.42	0.66
Hoja	0.37	0.05	6.97	7.39
PLÁNTULA				
Tallo	0.58	0.28	3.75	4.61
Hoja	2.15	0.08	14.53	16.76
CULTIVO DE RAICES				
Raz	0.06	0.03	-	0.09

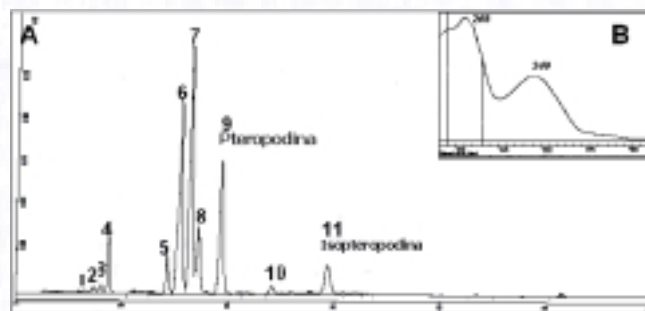


Fig. 2. A) Cromatograma por HPLC de extracto de alcaloides de hoja de plántula, donde se numeran los 11 alcaloides oxindólicos, B) espectro UV de alcaloides oxindólicos.

Conclusiones. La plántula propagada de *Hamelia patens* mostró ser un mayor productor de alcaloides oxindólicos, en todos los tejidos analizados.

Agradecimientos. Ma. del Carmen Fontaine Sánchez y a proyecto CONACYT 43228.

Bibliografía.

1. Laus G., Brössner D., Keplinger K. (1996). Alkaloids of Peruvian *Uncaria tomentosa*. *Phytochemistry* 45: 855-860.
2. Borges, J., Manresa, M.T., Martín Ramón, J., Pascual, C. y Rumero, A. (1979). Two new oxindole alkaloids isolated from *Hamelia patens* JACQ. *Tetrahedron Lett.* 34: 3197-3200.
3. Luna-Palencia, G.R., Cerda-García-Rojas, C.M., Rodríguez-Monroy, M., Ramos-Valdivia A.C.(2005). Influence of auxins and sucrose in monoterpenoid oxindole alkaloid production by *Uncaria tomentosa* cell suspension cultures. *Biotech. Prog.* 21: 198-204.