

PROTEINA IONICAMENTE ENLAZADA A PARED DE CÉLULAS EN SUSPENSIÓN DE *Capsicum* spp DIMERIZA CAPSAICINOIDES Y FENOLES RELACIONADOS

Enid Zamudio Moreno¹, Josefina Pérez Vargas¹, Isabel Membrillo Venegas¹, Mayola García Rivero¹, María Aurora Martínez Trujillo¹, Octavio Gómez Guzmán², Graciano Calva Calva². ¹Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Posgrado Ingeniería Bioquímica, ²Biotecnología Cinvestav, Ingeniería Metabólica. Av. IPN 2508, San Pedro Zacatenco, México D. F. Fax 50613313, gcalva@cinvestav.mx

Palabras claves: Dímeros, Capsaicina, Ácido ferúlico, Jalapeño.

Introducción. Los capsaicinoides son un grupo de compuestos fenólicos pseudoalcaloidales producidos exclusivamente en las células epidermales de la placenta de los frutos de *Capsicum* (chile), y son los responsables de su sabor pungente característico. Se ha reportado que estos compuestos se acumulan lentamente en los frutos y que son productos metabólicamente estables sin probable recambio metabólico (1). Sin embargo, estudios anteriores reportados por nosotros (1, 2) y otros grupos de investigación (3) han demostrado que pueden ser catabolizados vía conjugación a β -glicosilcapsaicinoides por cultivos de *Capsicum chinense* (Habanero) (1), o dimerización a 5,5'-dicapsaicinoides tanto por cultivos de células en suspensión de *Capsicum annuum* var. *annuum* (Jalapeño) como por extractos de la proteína iónicamente enlazada a la pared celular (2).

El objetivo de este trabajo es caracterizar parcialmente la enzima presente en esos extractos de proteína y que es la responsable de dimerizar capsaicinoides.

Metodología. Se usaron extractos crudos de la proteína iónicamente enlazada a la pared de células en suspensión de *Capsicum annuum* var. *annuum* (Jalapeño Chigol) crecidas en presencia y ausencia de capsaicina en medio de cultivo MS suplementado con 6.25 μ M de 2,4-D y 0.5 μ M de cinetina, a 25-27 °C y 5400 lux (1). Los extractos proteicos se confrontaron a 500 μ M de capsaicina o fenoles relacionados en presencia de peróxido de hidrógeno. La extracción de los compuestos fenólicos, tanto del medio de cultivo y biomasa como de la mezcla de reacción enzimática se realizó mediante extracciones líquido-líquido con acetato de etilo. De los extractos crudos que mostraron mejor actividad dimerizante contra capsaicinoides se realizó la purificación parcial de la enzima mediante precipitación con sulfato de amonio. Las fracciones a diferentes grados de saturación con sulfato de amonio fueron confrontadas contra capsaicina y algunos de sus precursores biosintéticos para estudiar mediante HPLC/UV los productos de reacción.

Resultados y discusión. En las reacciones enzimáticas con extractos crudos de la proteína iónicamente enlazada a la pared se observó que cuando se usa sólo capsaicina o dihidrocapsaicina puras, los productos de reacción son sólo el compuesto dimérico respectivo. Sin embargo, cuando se usa una mezcla de estos compuestos entonces se observa un tercer pico (X en figura 1A), presumiblemente el heterodímero 5-Capsaicin-5-

dihidrocapsaicina (C-DHC). Por otro lado, cuando se confrontó el extracto contra ácido ferúlico se formó el dímero 8,5' del ácido ferúlico, el cual ha sido reportado como anticancerígeno, además de otro compuesto mayor aún no identificado (Figura 1B).

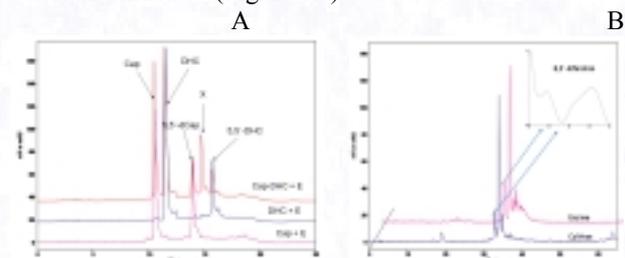


Fig. 1. Transformación de capsaicina y dihidrocapsaicina (A), y de ácido ferúlico (B) por extractos crudos de la proteína iónicamente enlazada a la pared de células de *Capsicum*.

De las fracciones precipitadas con sulfato de amonio la mayor actividad oxidante, seguida mediante reacciones con guayacol y ABTS, se encontró en la fracción al 80% de saturación (Figura 2A). Los resultados de un zimograma contra capsaicina por electroforesis nativa confirmó que, al igual que un extracto de frutos de jalapeño chigol, sólo esta fracción conservó el poder dimerizante de capsaicinoides (figura 2B).

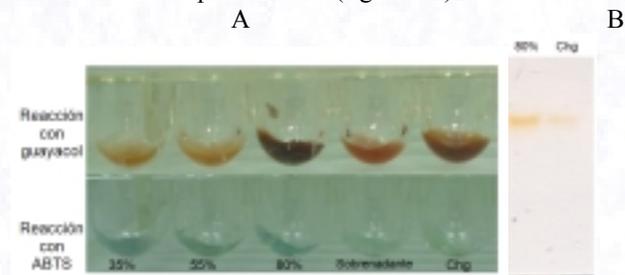


Fig.2. Actividad oxidante de las fracciones proteicas obtenidas por precipitación con sulfato de amonio (A) y zimograma contra capsaicina de la fracción al 80% de saturación y un extractos similar obtenido de frutos de Jalapeño chigol (B).

Conclusiones. Los extractos de proteína iónicamente enlazada a la pared de células en suspensión y frutos de *Capsicum* son capaces de dimerizar capsaicinoides y compuestos fenólicos estructuralmente relacionados. Si la enzima es estereoselectiva para el residuo vainilloide o no es una cuestión que aún permanece bajo estudio.

Agradecimientos. A CONACYT, por la beca otorgada al primer autor y por apoyar el proyecto CONACYT 47678.