



## ESTIMULACIÓN BIÓTICA E INHIBICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ALCALOIDES INDÓLICOS MONOTERPÉNICOS EN CULTIVOS DE RAÍCES DE *Uncaria tomentosa*.

Lourdes C. Vanegas López, Isela García Vázquez, Gabriela R. Luna-Palencia, Ana C. Ramos-Valdivia\*  
\*CINVESTAV-IPN, Depto. Biotecnología y Bioingeniería. México, DF. C. P. 07360.

E-mail: [aramos@cinvestav.mx](mailto:aramos@cinvestav.mx)

*Palabras clave:* *Uncaria tomentosa*, ácido jasmónico, clomazone

**Introducción.** *Uncaria tomentosa* conocida como “uña de gato” es una planta de climas tropicales que contiene alcaloides oxindólicos monoterpénicos (AOM) como pteropodina, isopteropodina y mitrafilina, con reconocidas propiedades antitumorales e inmunoestimulantes. Actualmente, se comercializa la corteza del tallo de plantas de 8 años de edad. Como una alternativa biotecnológica para su producción, hemos establecido cultivos de células y de raíces, siendo estos últimos los que presentan mayores rendimientos de alcaloides (1, 2). Los cultivos de raíces de *U. tomentosa* también acumulan un alcaloide indólico monoterpénico glucosidado: la 3- $\alpha$ -dihidrocadambina (DHC), con un posible papel como intermediario (1).

En *U. tomentosa* los AOM tienen como precursores del núcleo indólico al triptófano y triptamina mientras que la adición de terpenoides como la loganina y secologanina incrementaron al triple su contenido, confirmando, que el flujo de precursores de la ruta monoterpénica sería un factor limitante de su producción (1). En plantas, se ha propuesto que los monoterpénos se biosintetizan en plástidos principalmente, a partir de precursores terpénicos C<sub>5</sub> provenientes de la ruta de la desoxixilulosa fosfato (DXP) aunque no se descarta según el estado fisiológico y el tejido, una posible contribución de la ruta del mevalonato. El clomazone y la fosmidomicina inhiben dos de las enzimas de la ruta del DXP (3), mientras que la lovastatina inhibe la formación de mevalonato. Un mayor conocimiento de los factores que inducen la producción de alcaloides como el ácido jasmónico, así como aquellos que regulan su biosíntesis nos permitirán desarrollar mejores estrategias para incrementar su productividad

En este trabajo presentamos la influencia inductores: ácido jasmónico y pectina; así como de inhibidores de la ruta DXP y del mevalonato en la producción de alcaloides indólicos en cultivos de raíces de *U. tomentosa*.

**Metodología.** Las raíces de *U. tomentosa* Utr3 y Utr2 se crecieron en matraces de 125 ml con 40 ml de medio Murashige Skoog (MS) suplementados con 2 y 1 % p/v de sacarosa, respectivamente. Los matraces con un inóculo del 1%, se colocaron en agitación a 110 rpm, a 25  $\pm$  1 °C y a 1500 luxes. La pectina (40 mg/40 mL) y el ácido jasmónico (100  $\mu$ M), así como, la lovastatina, la fosmidomicina y el clomazone (200  $\mu$ M) se adicionaron a cultivos de 15 días. Los matraces controles y tratados se colectaron por triplicado después de 10 días. La extracción y cuantificación de AOM y DHC se realizó tanto en la raíz como en el medio de cultivo, según el método reportado por Luna-Palencia (2).

**Resultados y discusión.** La adición de ácido jasmónico incrementó hasta cinco veces, tanto la producción de AOM como de DHC, por lo que el ácido jasmónico estaría

induciendo de manera coordinada el flujo de los precursores: triptamina y secologanina, así mismo, la formación de alcaloides indólicos y oxindólicos monoterpénicos. En cambio, al adicionar la pectina no se observa un incremento real en la producción de AOM ni en la DHC pero en el medio de cultivo se encontró un precursor de la ruta de los iridoides, por lo que es necesario el precursor indólico, para la formación tanto de la DHC como de los AOM. En presencia de clomazone, la producción de alcaloides totales (AT) se afectó fuertemente, tanto la DHC como los AOM se inhibieron en casi el 90%, mientras que un efecto ligeramente menor ocurrió en presencia de fosmidomicina con una inhibición de poco más del 80% (Fig. 1). La inhibición de la biosíntesis de AOM y DHC por acción de los inhibidores de las dos enzimas de la ruta DXP señala la importancia del flujo de precursores de ésta ruta para la biosíntesis de AOM. La inhibición de la ruta de mevalonato por la adición de lovastatina, no afectó la producción de AT. Es importante aclarar que en todos los casos, la DHC se encuentra contenida en las raíces y los AOM se liberan al medio de cultivo.

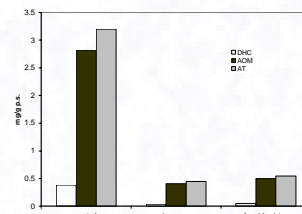


Fig. 1. Efecto de inhibidores en la producción de alcaloides indólicos monoterpénicos en cultivos de raíces de *U. tomentosa*.

**Conclusiones.** La pectina no tiene un efecto marcado en la producción de alcaloides indólicos monoterpénicos; sin embargo, en el caso del ácido jasmónico, la producción de estos compuestos aumenta hasta 5 veces. La producción de DHC como la de los AOM se ve fuertemente afectada por la adición de clomazone y de fosmidomicina; casi el 90% y poco más del 80%, respectivamente.

**Agradecimientos.** A Carmen Fontaine S., por el subcultivo de raíces. Proyecto CONACYT 43228

### Bibliografía.

- Luna-Palencia, G.R., Cerda García-Rojas, C.M., Romo-Cruz, Albarrán, J.G., Ramos-Valdivia, A.C. (2006). Advances in the biosynthesis of oxindole alkaloids in *Uncaria tomentosa* cultures. *Inter. Symp. Chemistry, Pharmacology and Biosynthesis of Alkaloids, Phytochem. Soc. Europe. Antalya, Turkey 25-29 de abril*, 48.
- Luna-Palencia G.R., Cerda-García-Rojas, C., Rodríguez-Monroy, M., Ramos-Valdivia, A.C. (2005). Influence of auxins and sucrose in monoterpene oxindole alkaloid production by *Uncaria tomentosa* cell suspension cultures. *Biotechnol Prog.* 21: 198-204.
- Hong, S.B., Hughes, E.H., Shanks, J.V., San, K.Y., Gibson S.I (2003). Role of the Non-mevalonate pathway in indole alkaloid production by *Catharanthus roseus* hairy roots. *Biotechnol Prog.* 19: 1105-1108.