



ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO DE RAÍCES TRANSFORMADAS EN *HYPTIS SUAVEOLENS* PARA LA PRODUCCIÓN DE PODOFILOTOXINA Y/O LIGNANOS CITOTÓXICOS

Crescencio Bazaldúa^{*1}, Jesús Arellano², Carolina Escobedo-Martínez¹, María Luisa Villarreal¹. 1 Centro de investigación en Biotecnología-UAEM. 2 Centro de Ciencias Genómicas-UNAM Cuernavaca, Morelos. C. P. 62209
^{*}cbazaldua@uaem.mx

Palabras clave: *Hyptis suaveolens*, Raíces transformadas, Podofilotoxina.

Introducción. Los metabolitos secundarios de tipo fenólico (lignanos, flavonoides, ácidos fenólicos y taninos) son los más abundantes en las plantas y algunos de ellos son biológicamente activos. Los lignanos se forman por dimerización oxidativa de fenoles C₃-C₆. La Podofilotoxina (PTOX) es un lignano natural sumamente importante en la farmacología, que se utiliza en la semisíntesis de fármacos anticancerígenos comerciales. La demanda de PTOX es tan elevada que se siguen investigando nuevas fuentes naturales que la produzcan. *Hyptis suaveolens* es una especie productora de PTOX identificada y reportada en México.¹

El objetivo del presente trabajo fue inducir raíces transformadas, de *H. suaveolens*, hiperproductoras de PTOX o lignanos análogos, para lograr su producción optimizada de manera estable y controlada.

Metodología. Se infectaron 1500 explantes (hojas, tallos, raíces, yemas e hipocótilos) con tres cepas de *Rhizobium rhizogenes*. Mediante electroporación se insertó el plásmido pTDT en la cepa ATCC15834, ambas fueron utilizadas en la infección. En hojas sólo se pudieron obtener raíces cuando se utilizó MS suplementado con ANA y BAP (2 y 1 mgL⁻¹). La confirmación de la transformación genética se realizó al observar fluorescencia o mediante PCR, la identificación de lignanos por CLAE.² La citotoxicidad se corroboró mediante el método de Sulfurodamina B (SRB).

Resultados. Se obtuvieron 150 raíces. El porcentaje más alto de inducción de raíces se observó en hipocótilos (21%) y el más bajo en hojas (5%). Se seleccionaron 11 líneas (por su velocidad crecimiento o fluorescencia) de raíces y se subcultivaron cada 40 días en medio B5 líquido, en agitación constante, luz continua y 24±1°C.

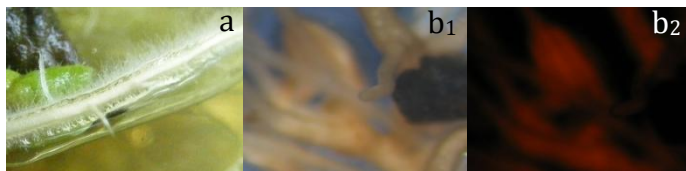


Fig. 1. Raíces transformadas de *Hyptis* a) Morfología característica de raíces transformadas b) Raíz fluorescente inducida por *A. rhizogenes* con el plásmido pTDT b₁ Iluminada con luz blanca y b₂ Iluminada con luz verde (se observa la fluorescencia en rojo)

Mediante CLAE se obtuvieron picos con tiempo de retención y espectro de absorción igual al de PTOX en

extractos de biomasa y en los extractos de medio de cultivo.

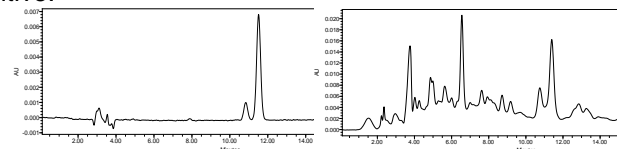


Figura 2. CLAE para identificar producción de PTOX. a) Control, b) Extracto clorofórmico del medio de cultivo.

Los extractos clorofórmicos de las raíces seleccionadas y de sus medios de cultivo mostraron actividad citotóxica en cuatro líneas celulares de carcinomas humanos: KB (nasofaríngeo), MCF 7 (mama), HF 6 (colon) y PC 3 (próstata); con valores de CI₅₀ entre 0.30 y 14.49 µg/mL.

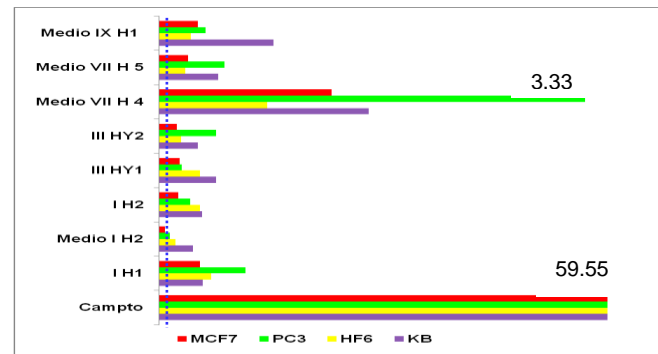


Figura 3. Se presenta el inverso de la Concentración Inhibitoria (CI) (actividad citotóxica de extractos clorofórmicos de biomasa y de medios de cultivo). La línea punteada indica una CI₅₀ superior a 20µg/mL.

Conclusiones. La infección de *H. suaveolens* en hipocótilos fue más efectiva que en otros explantes. La cepa ATCC 15834 mejoró la efectividad con el plásmido pTDT. Las raíces transformadas de *H. suaveolens* producen y excretan PTOX. Todos los extractos de biomasa y del medio de cultivo presentaron alta actividad citotóxica (CI₅₀ < 20 µg/mL) contra las líneas KB, HF6, MC7 y PC3, algunas con niveles inferiores a 4 µg/mL.

Agradecimiento. Al CONACYT por la beca núm. 231126 y al COTEPABE-IPN por la licencia para estudiar la Maestría. La investigación fue financiada por el proyecto CONACYT 80980 Ciencia Básica.

Bibliografía.

- Lautié E et al., (2008) *J. Ethnopharm.* 120 (3) 402-412.
- Zhao, L., Tiana, X., Peng-Cheng F., Yun-Jing Z., Da-Wei S., Yan J. (2008) *J. Chromatogr* 1220 (2) 168-177.