



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



“ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO *IN VITRO* E INDUCCIÓN A CALLOGÉNESIS DE *Huperzia cuernavacensis* PARA LA PRODUCCIÓN DE HUPERZINA A, UNA IMPORTANTE ALTERNATIVA EN EL TRATAMIENTO DE ALZHEIMER”

Talia Rodríguez Salgado¹, Gilsane Lino von Poser², Mirian Appel², Amelia Teresinha Henriques², Rosa Cerros Tlatilpa³, Aniceto Mendoza Ruiz⁴, María Luisa Villarreal⁵, Alexandre Cardoso Taketa⁵

¹Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

³Laboratorio de Sistemática y Morfología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México

⁴Laboratorio de Biología de Pteridofitas, Universidad Autónoma Metropolitana, México

⁵Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México, 62209, talis213@yahoo.com

Palabras clave: *Huperzia*, *huperzina A*, *callogénesis*.

Introducción. El género *Huperzia* se caracteriza por poseer alcaloides (huperzina A y derivados) con actividad anticolinesterásica, que presentan acciones farmacológicas efectivas para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Las fuentes naturales para la obtención de huperzina A son escasas, así como sus rendimientos. Aunado a esto, la obtención de dicho alcaloide mediante síntesis es costosa. Considerando que la mayoría de las especies de este género se encuentran en peligro crítico de extinción, y que estas plantas poseen un lento crecimiento, el cultivo *in vitro* a partir de explantes estériles, destinados a la callogénesis, representa una estrategia viable para la obtención de huperzina A con vistas a un escalamiento industrial.

La presente propuesta tiene como objetivo establecer los protocolos de desinfección de explantes para la generación de callos de *H. cuernavacensis*, con el propósito de obtener líneas sobreproductoras de huperzina A y derivados.

Metodología. La identificación de huperzina A se llevó a cabo utilizando la Resonancia Magnética Nuclear de protones (RMN ¹H) y cromatografía en capa fina. Para los tratamientos de desinfección de *H. cuernavacensis* destinada al cultivo *in vitro* se probaron diferentes tratamientos de desinfección con etanol, cloro y PPM (Plant Preservative Mixture ®). Se seleccionó el tratamiento más efectivo y menos agresivo para la planta, empleando diferentes combinaciones de desinfectantes, concentraciones y tiempos. Establecido el protocolo de desinfección se procedió a inducir la callogénesis para la obtención de callos, donde se emplearon auxinas, tales como el ácido naftalenoacético (ANA), ácido indolacético (AIA), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) o con citocininas tales como el 6-bencilaminopurina (BAP) y zeatina (ZT), (Gang & Ma, 2008).

Resultados. Se identificó la presencia del alcaloide huperzina A en el extracto alcaloideo de los frondes de *H. cuernavacensis* mediante registros de ¹H RMN (Fig. 1). También, se pudo identificar la presencia del alcaloide en

cromatografía en capa fina basada en la comparación con el estándar de referencia. Con estos resultados, donde se verifica la presencia del compuesto de interés, se procedió a realizar la desinfección de los explantes para su cultivo *in vitro* y posterior inducción a callogénesis. Después varios intentos de lograr un material axénico, el tratamiento que mejor resultó fue donde solo se realizó un lavado con PPM a 10% por 1h. Éste fue el único tratamiento exitoso, ya que se pudo descontaminar el material vegetal y mantener verde a los explantes.

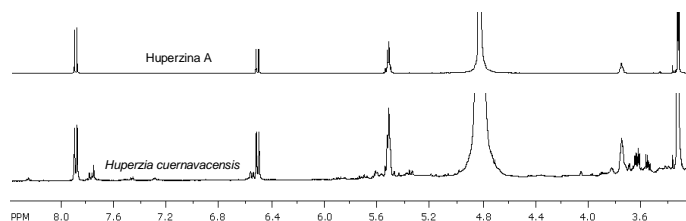


Fig. 1. Detalle del espectro de RMN ¹H del estándar huperzina A y del extracto alcaloideo de *H. cuernavacensis*.

Conclusiones. Se identificó la presencia de huperzina A en el extracto alcaloideo de *H. cuernavacensis*, donde se observó la presencia prácticamente exclusiva de dicho alcaloide. Se encontró el tratamiento de desinfección adecuado para la obtención de explantes axénicos destinados al cultivo *in vitro* e inducción a callogénesis de la planta. *H. cuernavacensis* se figura como una nueva fuente de obtención de huperzina A, lo que abre nuevas posibilidades en la explotación de este recurso natural mexicano.

Agradecimientos. Proyecto Conacyt/CNPq de cooperación bilateral México-Brasil 2009.

Bibliografía.

Gang, DR., Ma, X. (2008). *Phytochemistry*. 69: 2022-2028.