



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



PRODUCCION DE ALCALOIDES Y ACTIVIDAD DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN CULTIVOS DE RAICES DE *Uncaria tomentosa* BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Ileana Vera Reyes⁽¹⁾, Huerta-Heredia A.⁽¹⁾, Ponce-Noyola T.⁽¹⁾, Trejo-Tapia, G.⁽³⁾, Cerda-García-Rojas⁽²⁾, Ramos-Valdivia A.C.⁽¹⁾,¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, ²Departamento de Química, CINVESTAV-IPN, D.F., México. ³Departamento de Biotecnología, CEPROBI-IPN, Yautepec, Morelos, México.

E-mail: aramos@cinvestav.mx

Palabras clave: Estrés oxidativo, Cultivos de raíces, *Uncaria tomentosa*

Introducción. *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae); comúnmente llamada uña de gato produce alcaloides oxindólicos monoterpénicos (AOM) tal como la pteropodina, mitrafilina y sus isómeros. Estos AOM tienen actividad farmacológica inmunoestimulante, antitumoral, antileucémica y anti-inflamatoria (1). En cultivos de raíces de *U. tomentosa* se ha demostrado que la producción de alcaloides indol-monoterpénicos puede ser inducida por efecto del estrés oxidativo caracterizado por una rápida producción de especies reactivas de oxígeno (ERO's) (2). Las plantas poseen dos mecanismos de detoxificación para regular la concentración de ERO's; el enzimático y el no enzimático. Las ERO's también se encuentran involucradas en la cascada de señales de la activación de otros mecanismos de defensa que puede resultar en la biosíntesis de metabolitos secundarios como alcaloides, glucosinolatos y terpenoides (3). El objetivo de este trabajo fue establecer una relación entre el equilibrio oxidante-antioxidante y la producción de alcaloides en el cultivo de raíces de *U. tomentosa* bajo condiciones oxidativas.

Metodología. Las condiciones del cultivo de raíces de *U. tomentosa* (Utr-3) y el análisis de alcaloides fueron realizados de acuerdo a Huerta-Heredia (2). Los cultivos con 13 días de crecimiento fueron elicitados con H₂O₂ 200 μM o una combinación de ácido jasmónico (JA) 0.2 mM butionina sulfoximina (BSO) 0.8 mM, tomándose muestra los días 3, 5 y 8 después de la elicitación. Los extractos proteicos se realizaron utilizando una solución amortiguadora de fosfatos 100 mM pH 6.3, EDTA 3 mM y DTT 6 mM. Para observar el perfil de isoenzimas se realizaron geles de poliacrilamida 7 y 10% como lo describe Laemmli, utilizando 30 μg de proteína en cada pozo. Los zimogramas para peroxidasa (POD) se realizaron según Pütter (1971), la de glutatión reductasa (GR) por el método de Smith *et al.* (1988).

Resultados. Los cultivos de raíces en matraz acumulan Dihidrocadambina (DHC) y AOM. La adición conjunta de BSO-JA incrementó 0.93 veces la producción de AOM y 1.45 veces la de DHC con respecto al control, mientras que la adición con H₂O₂ incrementó la producción de éstos en 0.65 y 1.12 veces respectivamente (Fig. 1A y B). La respuesta enzimática antioxidante a los tratamientos fue diferente. La adición de H₂O₂ provocó un incremento en la actividad de GR a través del tiempo, sin embargo este mismo tratamiento no tuvo efecto en la actividad de POD manteniéndose constante (Fig 2).

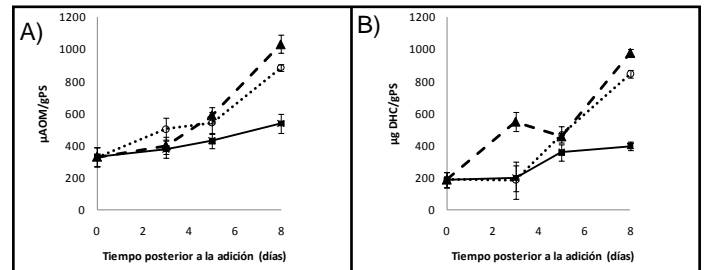


Fig. 1. Efecto de la adición de elicitores en la producción de **A)** Alcaloides Oxindólicos Monoterpénicos y **B)** Dihidrocadambina, en cultivo de raíces de *U. tomentosa* con BSO 0.8 mM + JA 0.2 mM (BSOJA)(▲), 200 μM de H₂O₂ (○) y no elicitados (■).

Con la adición de BSO-JAS se observó que la actividad de GR disminuyó, mientras que se produjo un incremento en la actividad de POD (Fig 2). El BSO es un inhibidor de la síntesis del glutatión por lo cual el sistema estaría incrementando la actividad de otras enzimas o compuestos para su detoxificación (4).

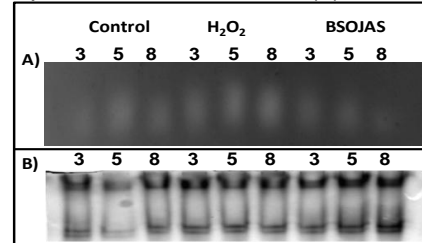


Fig. 2 Zimogramas de **A)** Glutacion reductasa; **B)** Peroxidasa; en los días 3, 5 y 8 posterior a la adición.

Conclusiones. El incremento en la producción de alcaloides y la respuesta diferencial antioxidante indican diferentes procesos de detoxificación.

Agradecimientos: CONACyT por la beca 173034. PROYECTO 105019.

Bibliografía.

- Heitzman, M.E., Neto, C.C., Winiarz, E., Vaisberg, A.J., Hammond, G.B. (2005). Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochem*, 66:5-29.
- Huerta-Heredia A.A., Marín-López R., Ponce-Noyola T., Cerda-García-Rojas C.M., Trejo-Tapia G. y Ramos-Valdivia A. C. 2009. Oxidative stress induces alkaloid production in *Uncaria tomentosa* root and cell cultures in bioreactors. *Eng. Life Sci.* 3: 211–218.
- Ramos-Valdivia, A.C., Huerta-Heredia, A.A., Trejo-Tapia G. and Cerda-García-Rojas C.M. Secondary metabolites as non-enzymatic plant protectors from oxidative stress. In *Oxidative Stress in Plants: Causes, Consequences and Tolerance* (Naser A. Anjum, Shahid Umar, Altaf Ahmad Eds.). International Publishing House, New Delhi 413-441 ISBN: 9789381141021 (en prensa)
- Yannarelli G.G., Fernández-Alvarez A.J., Santa-Cruz D.M. y Tomaro M.L.(2007) Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. *Phytochem*. 68: 505-512.