

# PRODUCCIÓN DE FÁRMACOS PROVENIENTES DE LAS PLANTAS

*Por:* Lady Johana Correa Higuera – Departamento de Biotecnología – Centro de Desarrollo de Productos Bióticos CEPROBI-IPN – ladycorrea@unitropico.edu.co  
Ana Carmela Ramos Valdivia – Departamento de Biotecnología y Bioingeniería – Centro de Investigación y de Estudios Avanzados CINVESTAV-IPN - aramos@cinvestav.mx

Las especies vegetales que en la actualidad conocemos, han sido las vencedoras de millones de años de evolución, su adaptabilidad y supervivencia se deben al organizado metabolismo celular que las distingue, el cual se compone de continuas reacciones químicas que ocurren en perfecta sincronía en cada uno de sus organelos.

Las plantas son capaces de transformar la luz solar en energía química, gracias al proceso de fotosíntesis, en este, los fotones que componen la luz rompen las moléculas de agua presentes en las membranas de la célula vegetal liberando protones, electrones y activando la producción de ATP y NADPH<sub>2</sub>, que son formas de almacenamiento de energía. Al mismo tiempo usan el dióxido de carbono presente en la atmósfera para generar los carbohidratos como principales componentes de su arquitectura y liberan al ambiente el oxígeno que nos mantiene con vida.

Una de las características más sorprendentes de las plantas es su capacidad para producir compuestos químicos resultado de la interacción de procesos específicos al interior de la célula y que ocurren en respuesta a diferentes eventos en su entorno. Estos compuestos metabólicos de las plantas con elevada actividad biológica son de gran utilidad para el hombre. Podemos responder algunas preguntas y con ellas entender un poco mejor este mecanismo.

## 1. ¿CÓMO SE ACTIVAN LAS DEFENSAS EN LAS PLANTAS?

Dentro de un ecosistema las plantas podrían estar en desventaja frente a los animales, debido a su imposibilidad para moverse cuando se presenta una situación de riesgo, sin embargo, han desarrollado sistemas de defensa que

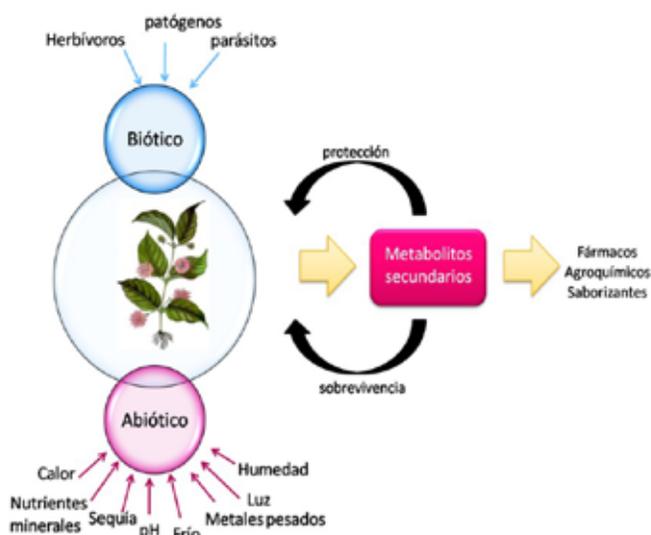
les permiten adaptarse a los cambios en su entorno tales como sequía, salinidad, pH del suelo, radiación, aireación; así como combatir el ataque de insectos, virus, hongos o bacterias.

Cuando la célula vegetal percibe alguno de estos eventos, se rompe el equilibrio natural u homeostasis y en consecuencia se generan unas moléculas conocidas como Especies Reactivas de Oxígeno (EROs), las cuales son responsables del deterioro de las principales biomoléculas (proteínas, lípidos y ácidos nucleicos), esta situación se conoce como **estrés oxidativo** (Demidchik, 2015). En estas condiciones se requiere de la activación de defensas antioxidantes adicionales. El peróxido de hidrógeno se produce así, en respuesta a una variedad de estímulos y media en la conversación cruzada entre diferentes moléculas de señalización de defensa sistémica y de aclimatación tales como los jasmonatos (JA) y salicilatos. El control de los niveles de oxidantes entonces se logra mediante la inducción de mecanismos antioxidantes de defensa que se componen de metabolitos como el ascorbato, el glutatión, el tocoferol, diversos metabolitos secundarios y los limpiadores enzimáticos de ROS como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y las peroxidasas (POX).

## 2. ¿QUÉ FACTORES INDUCEN LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS POR LAS PLANTAS?

Bajo condiciones de estrés se desencadenan una serie de señales que activan los genes encargados de la defensa, estos genes pueden dirigir la síntesis de proteínas relacionadas con actividad enzimática antioxidante para controlar la producción de EROs o pueden también activar la síntesis de compuestos antioxidantes o de defensa contra patógenos,

estas sustancias se conocen como **metabolitos secundarios**, los cuales no se consideran esenciales para la vida, pero desempeñan un papel muy importante en la interacción de la planta con su entorno, tanto en funciones de defensa frente a patógenos, como frente a factores ambientales adversos, en la figura 1 se esquematiza esta relación.



**Figura 1.** Factores de estrés que inducen la producción de metabolitos secundarios.

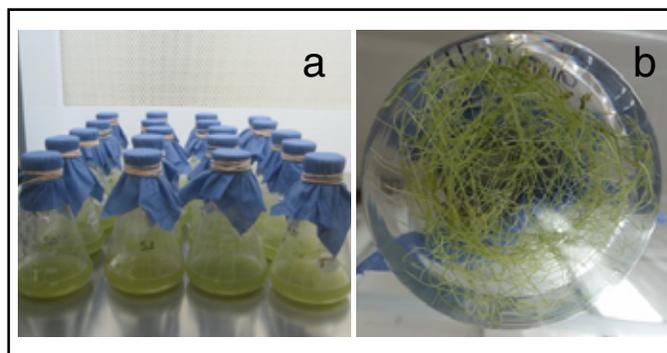
Durante la evolución en la mayoría de los linajes taxonómicos de las plantas, la formación de metabolitos secundarios ha ocurrido en respuesta a necesidades concretas; así, los aromas volátiles florales y pigmentos se han desarrollado para mejorar la fertilización ya que sirven para atraer a los insectos polinizadores. Los compuestos químicos tóxicos han permitido proteger las especies contra patógenos y herbívoros, o para suprimir el crecimiento desbordado de las plantas vecinas, otros han evolucionado para regular la expresión génica a nivel celular y servir como señales de alarma. Además, los compuestos encontrados en las frutas que les dan color, aroma y sabor, evitan su deterioro y actúan como señales de ayuda para dispersar sus semillas. Esta variedad de exigencias ha llevado a que las plantas acumulen una inmensa diversidad de metabolitos secundarios con diferente actividad biológica conociéndose más de ochenta mil (Verporte, 2000). Muchos de ellos son compuestos libres de nitrógeno (terpenos, policétidos, compuestos fenólicos, saponinas y poliacetilenos) mientras que otros son compuestos nitrogenados (alcaloides, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos).

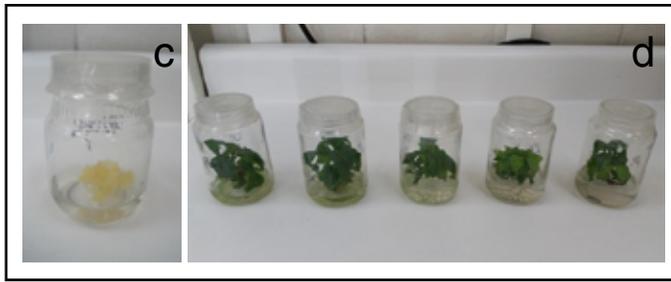
Cabe destacar, que los metabolitos secundarios de las plantas han sido utilizados y comercializados como fármacos, fragancias, agroquímicos, insecticidas o saborizantes; pero solo menos del 10% de ellos han sido estudiados en su actividad biológica, por lo que las expectativas como fuente de desarrollo biotecnológico son amplias.

### 3. ¿POR QUÉ PODEMOS CULTIVAR PLANTAS IN-VITRO?

Otra característica impresionante de las plantas es que sus células son **totipotenciales**, esto quiere decir, que pueden dar origen a cualquier tejido o hasta a una planta completa. Es así que utilizando técnicas de micropropagación podemos obtener plantas genéticamente idénticas, llamadas clones, a partir de un trozo de una planta madre al que se le conoce como explante.

La totipotencialidad permite cultivar células o tejidos específicos, como raíces y regenerar a partir de ellos plantas completas, esta propagación se conoce como cultivo *in vitro* y se realiza en condiciones controladas de asepsia, donde cada sistema requiere de un medio de cultivo adecuado en nutrientes (sales, minerales, vitaminas, azúcares) y reguladores de crecimiento (hormonas). De igual manera se deben establecer los parámetros ambientales adecuados tales como intensidad de luz, temperatura y agitación o aireación. Estas condiciones son específicas para cada especie y tipo de tejido que se quiere propagar, ya sea que se formen callos cultivados en medios sólidos, células en suspensión en medio líquidos, embriones o se cultiven directamente raíces. Los cultivos en matraz se pueden llevar a tamaños mayores utilizando biorreactores, los cuales permiten manejar volúmenes altos de producción de biomasa y con esto mayor producción de metabolitos secundarios. En la figura 2 se observan los diferentes sistemas de cultivo *in vitro*, para *Uncaria tomentosa*.





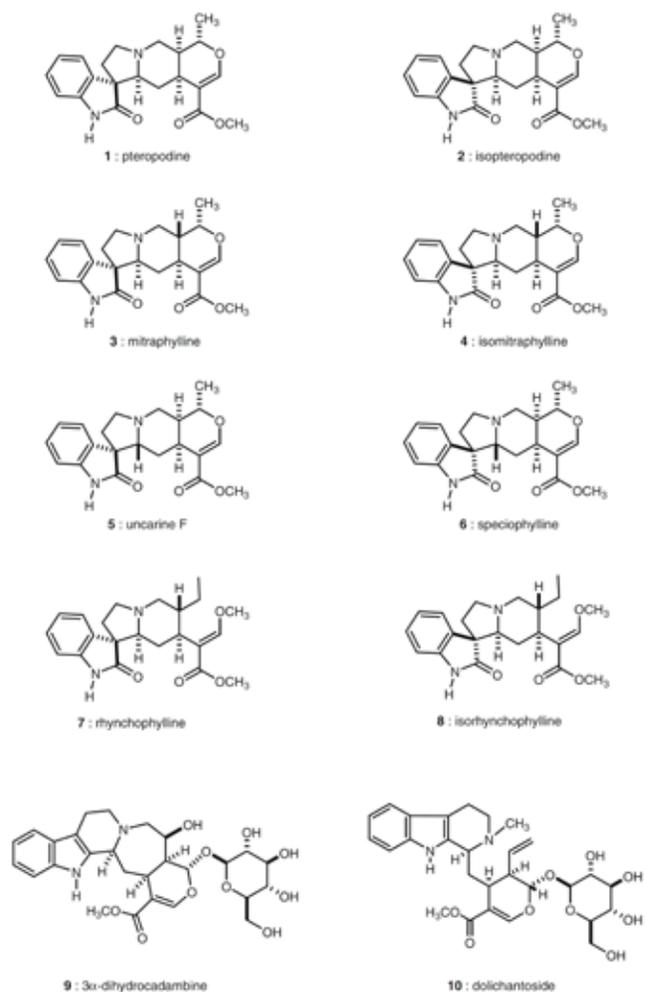
**Figura 2.** Sistemas de cultivo *in vitro* para *Uncaria tomentosa*.  
a. Células en suspensión, b. Raíces, c. Callos, d. Plántulas regeneradas.

El cultivo masivo de células y tejidos vegetales, se ha propuesto como una alternativa biotecnológica para la producción de metabolitos secundarios de interés, ya que en dichos cultivos el uso de inductores o “elicitadores” del estrés biótico o abiótico pueden activar los sistemas de respuesta metabólica y así incrementar su producción (Zhao et al., 2005). Los cultivos de plántulas micropropagadas y de raíces *in vitro* son una excelente opción para la producción de compuestos de interés comercial, debido a que por su grado de especialización y organización celular pueden acumular, en un menor tiempo y sin presencia de reguladores de crecimiento, cantidades comparables a las de las plantas.

#### 4. ¿SE PUEDE INDUCIR LA PRODUCCIÓN DE ALCALOIDES OXINDOL TERPÉNICOS BAJO ESTRÉS?

Seguramente en algunas ocasiones hemos escuchado nombrar algunos compuestos como por ejemplo los analgésicos morfina y codeína, los estimulantes cafeína y nicotina, así como medicamentos anticancerígenos vincristina y camptotecina, estas sustancias son de gran importancia para el hombre y pertenecen a la familia de los alcaloides, los cuales son metabolitos secundarios nitrogenados complejos, con actividad biológica que se encuentran de forma exclusiva en algunas familias de plantas donde actúan como fitoalexinas, en la defensa frente a los ataques de herbívoros y microorganismos patógenos y que han sido utilizados por el hombre por sus características medicinales o tóxicas. Su nombre hace referencia a que son sustancias alcalinas que a pH intracelulares como de 7 a 5, según sea el citosol o la vacuola, el átomo de nitrógeno se encuentra protonizado y generalmente cargado positivamente en forma de sales solubles.

Una de las especies con gran interés en la producción de alcaloides es la conocida “Uña de gato” (*Uncaria tomentosa*), planta originaria de la amazonia peruana y perteneciente a la familia de las Rubiáceas en el género *Uncaria*. Específicamente *U. tomentosa* produce alcaloides oxindol monoterpénicos AOM, tales como la pteropodina, mitrafilina, rincofilina y sus estereoisómeros (Figura 3), estos compuestos presentan una importante actividad farmacológica a nivel inmunoestimulante, antileucémico, antitumoral y antioxidante (Heitzman, 2005). La obtención de AOM se ha realizado por mucho tiempo a partir de la corteza de plantas de 8 a 10 años de edad, las cuales se encuentran en su ambiente natural distribuidas a razón de 5 individuos por hectárea, esto ha llevado a controlar la manera de recolección para evitar la disminución de su población por sobreexplotación comercial.



**Figura 3.** Alcaloides indolterpénicos presentes en *U. tomentosa*.

Debido al limitado número de especies que producen este tipo de alcaloides, el grupo de investigación en Biotecnología Vegetal del Cinvestav-México, liderado por la Doctora Ana Carmela Ramos Valdivia, ha venido estudiando los factores que estimulan la biosíntesis de AOM, sus interacciones y los mecanismos de señalización y regulación en *Uncaria tomentosa*. Para esto se han establecido sistemas de cultivo *in vitro* de células, raíces, callos y micro plantas.

De acuerdo a Luna Palencia y colaboradores (2013), los AOM tetracíclicos conducen a la formación de AOM pentacíclicos durante el desarrollo de la planta, estos compuestos se encuentran en las hojas, raíz y medio de cultivo lo que confirma su movilidad, mientras que los alcaloides glucosilados; Dolicantosido y 3- $\alpha$ -Dihidrocadambia se ubican específicamente en la raíz, en este trabajo se comprobó que la producción de estos compuestos en plántulas micropropagadas de *U. tomentosa*, fue mayor que en plantas cultivadas en condiciones de invernadero.

Las investigaciones realizadas con los cultivos *in vitro* de células, raíces y micro plántulas de *U. tomentosa*, han permitido establecer que bajo condiciones de estrés oxidativo (disponibilidad de oxígeno, estrés hidrodinámico en los cultivos en biorreactores, concentración de nutrientes y uso de elicitors) la síntesis de alcaloides oxindol monoterpénicos y de compuestos fenólicos totales se vio incrementada (Trejo-Tapia et al. 2007; Vera-Reyes et al 2013), al mismo tiempo que aumenta la actividad enzimática antioxidante SOD, POX, CAT y glutatión reductasa.

Así mismo se ha reportado que los cultivos de plántulas micropropagadas de *U. tomentosa* tratadas con ácido salicílico presentaron un notable aumento en el contenido de alcaloides oxindolterpénicos, así como de compuestos fenólicos (Sánchez-Rojo et al., 2015). De igual manera se ha podido comprobar que la producción de estos compuestos en cultivo de células y raíces utilizando como elicitors al peróxido de hidrógeno, ácido jasmónico, butionina sulfoxamina (BSO), permite el incremento en la biosíntesis tanto de AOM pentacíclicos como de AOM tetracíclicos. Este proceso sucede de manera simultánea al aumento en la actividad enzimática antioxidante conformado por SOD, CAT y POX (Huerta-Heredia et al., 2009; Vera-Reyes et al., 2013). La determinación del perfil proteómico de cultivos vegetales de esta especie demuestra la presencia de las enzimas Estrictosidina Sintasa

(STR) y Estrictosina  $\beta$ - Glucosidasa (SGD), las cuales están implicadas directamente en la biosíntesis de alcaloides oxindólicos (Vera-Reyes et al., 2013, 2015). El cultivo de células en biorreactores y raíces en condiciones aeróbicas, puede aumentar la síntesis de alcaloides indol monoterpénicos (Trejo-Tapia et al., 2007; Huerta-Heredia et al., 2009).

Hemos revisado una parte del universo que constituye la dinámica de las plantas en interacción con su entorno y la importancia de la producción de compuestos químicos (metabolitos secundarios) de interés para el hombre, como respuesta específica a estas relaciones con el ambiente. Es así que el cultivo *in vitro* de células, raíces y plántulas de *Uncaria tomentosa* y la aplicación de estrategias biotecnológicas como elicitación y estrés oxidativo, permiten utilizar los mecanismos naturales de la célula vegetal para la inducción de la biosíntesis de alcaloides indol monoterpénicos, los cuales son de gran interés debido a sus propiedades farmacológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212 - 228.
- Heitzman, M.E., Neto, C.C., Winiarz, E., Vaisberg, A.J., Hammond, G.B. (2005). Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry* 66: 5-29.
- Huerta-Heredia, A., Marín-López, R., Ponce-Noyola, T., Cerda-García, R., Trejo-Tapia, G., Ramos-Valdivia, A. (2009). Oxidative stress induces alkaloid production in *Uncaria tomentosa* root and cell cultures in bioreactors. *Engineering in Life Sciences*, 3, 211 - 221.
- Luna-Palencia, G., Huerta-Heredia, A., Cerda-García Rojas, C.M., Ramos-Valdivia, A.C. (2013). Differential alkaloid profile in *Uncaria tomentosa* micropropagated plantlets and root cultures. *Biotechnology Letters*, 35, 791 - 797.
- Sánchez Rojo, S., Cerda García Rojas, C. M., Esparza García, F., Plasencia, J., Poggi Valardo, H. M., Ponce Noyola, T., y Ramos Valdivia, A. C. (2015). Long-term response on growth, antioxidant enzymes, and secondary metabolites in salicylic acid pre-treated *Uncaria tomentosa* microplants. *Biotechnology Letters*, 37, 2489-2496.
- Trejo-Tapia, G., Sepúlveda-Jiménez, G., Trejo-Espino, J. L., Cerda-García, C. M., De la Torre, M., Rodríguez-Monroy, M., Ramos Valdivia, A.C. (2007). Hydrodynamic stress induces monoterpene indole alkaloid accumulation by *Uncaria tomentosa* (Willd) D. C. cell suspension cultures via oxidative burst. *Biotechnology and Bioengineering*, 98, 230 -238.
- Vera-Reyes, I., Huerta-Heredia, A., Ponce-Noyola, T., Flores-Sánchez, I., Esparza-García, F., Ramos Valdivia, A.C. (2013). Strictosidine-related enzymes involved in the alkaloid biosynthesis of *Uncaria tomentosa* root cultures grown under oxidative stress. *Biotechnology Progress*, 29, 621-630.
- Vera-Reyes, I., Huerta-Heredia, A. A., Ponce-Noyola, T., Cerda-García, C. M., Trejo-Tapia, G., Ramos Valdivia, A. C. (2015). Monoterpene indole alkaloids and phenols are required antioxidants in glutathione depleted *Uncaria tomentosa* root cultures. *Frontiers in Environmental Science*, 3, DOI: 10.3389/fenvs.2015.00027.
- Verpoorte, R. (2000). Plant secondary metabolism. In *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*, Verpoorte, R. and Alfermann, A. Eds. Kluwer Academic Pub., Holanda pp1-29.
- Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23: 283-333.