

## Caracterización del perfil metabolómico de la planta *Cuphea aequipetala Cav* (*Lythraceae*)

### Descripción general

Las plantas son una gran fuente de fitoquímicos (compuestos naturales) con propiedades terapéuticas de las cuales se sabe debido a la medicina tradicional que se practica alrededor del mundo. En la actualidad las sustancias derivadas de las plantas se han vuelto de gran interés debido a su procedencia natural y sus versátiles aplicaciones. Los productos y formulaciones procedentes de las plantas se encuentran con mayor frecuencia disponibles en el mercado, son de costo accesible y se consideran como productos sin efectos secundarios o tóxicos, por lo que existe la tendencia de reemplazar o complementar los tratamientos médicos convencionales con estos productos [1-3].

Las formulaciones o extracciones que son obtenidas de las plantas son mezclas complejas en las cuales podemos encontrar una amplia variedad de metabolitos primarios y secundarios. Por lo general, el proceso de su elaboración debe ser cuidadosamente establecido porque los metabolitos de interés pueden estar presentes en distintas partes u órganos de las plantas y pueden poseer diferentes propiedades fisicoquímicas. Los efectos terapéuticos en los consumidores dependen de la identidad y cantidad de los metabolitos presentes en la formulación. En el presente trabajo uno de los objetivos es obtener el perfil fitoquímico, que nos permite determinar las estructuras de las entidades químicas presentes en las plantas, metabolitos primarios y secundarios sintetizados por las plantas. De estos metabolitos nos enfocaremos en los metabolitos secundarios [4], debido a que se les han atribuido diversas actividades biológicas (capacidad de eliminación de radicales libres), antimicrobiano, antiespasmódico, citotóxicos, modulación de las enzimas de detoxificación, estimulación del sistema inmunológico, disminución de la agregación plaquetaria, modulación del metabolismo hormonal. Pero también se les ha atribuido un efecto preventivo de ciertas enfermedades degenerativas, neurodegenerativas y cardiovasculares.

En este trabajo previamente se llevó a cabo un análisis por HPLC-QTOF-MS de extractos de la planta *Cuphea aequipetala* (*hierba del golpe*), a la cual se han atribuido una gran variedad de efectos biológicos en la medicina tradicional mexicana, aunque experimentalmente solo se ha comprobado su actividad antiinflamatoria; sin embargo, no se han reportado la

realización de estudios de caracterización del perfil de metabolitos presentes en esta planta, que puedan asociarse a dichos efectos.

Los resultados experimentales con los cuales se trabajará en este proyecto se obtuvieron a partir de extractos metanólicos (80% metanol, 50mg) de la biomasa liofilizada de *Cuphea aequipetala*. El análisis se llevó a cabo en el espectrómetro maxis impact ESI-QTOF-MS equipado con Data Analysis 4.1 (Bruker Daltonics) el cual está acoplado al sistema 3 000 RLSCnano operado por Hystar 3.2 software (Thermo Scientific Dionex). Previo a la columna cromatográfica la muestra pasó por una trampa capilar ZORBAX 300 SB-C18 (5 x 0.3 mm, 5µm), la columna utilizada fue ZORBAX 300-Extend -C18 capilar (150 X 0.3 mm x 3.5µm); Se inyectaron 10µL del extracto de la planta diluido ( 12% de metanol) el cual paso a la trampa a la trampa capilar con un flujo 15 µL min<sup>-1</sup>; después de 2 min, el flujo en columna fue de 3.5 µL min<sup>-1</sup>. Las fases utilizadas móviles fueron: (A) ácido fórmico 0.1% v/v y (B) ácido fórmico en acetonitrilo 1% v/v 4° C, el gradiente de elución fue 0 - 35 min de 8%-98% de (B), de 36 – 38 min 98% de (B); 38 -40 min 8% de (B), se aplicó un lavado de 10 min con (B) al 8%, el tiempo total de la corrida cromatográfica por muestra fue de 50 minutos. El rango de adquisición fue 100-1400 de (m/z).

A partir de estos resultados cromatográficos y de los respectivos espectros de masas obtenidos, en este proyecto se plantea como supuesto de investigación llevar a cabo la construcción del bosquejo general del perfil metabolómico de esta planta por lo menos por familias de compuestos (flavonoides, esteroides, ácidos grasos, compuestos fenólicos de baja masa molecular, etc.), esto se llevaría a cabo mediante la identificación de los posibles compuestos presentes en los extractos utilizando programas de búsqueda asociados a múltiples bases de datos gratuitas. La identificación se realizará a través de los programas MS-Finder y Sirius; se propone el uso de estos dos debido a que los algoritmos de búsqueda e identificación de ambos son diferentes y pueden dar información complementaria, además de ser gratuitos, amigables con el usuario tanto para su manejo como para su instalación y que para su manejo no se requiere una computadora muy sofisticada.

## Objetivos

- Familiarización del alumno(a) con el análisis de datos en estudios de metabolómica, mediante el uso de dos programas de identificación de compuestos MS-FINDER y SIRIUS.
- Elaboración de un bosquejo general del perfil de metabolitos presentes en la planta *Cuphea aequipetala*, los cuales se puedan asociar con los efectos biológicos atribuidos.

## Plan de trabajo

El plan de trabajo que se presenta a continuación corresponde a las 6 semanas a partir del 22 de junio hasta el 31 de julio.

Actividad	22 de junio – 31 de julio					
	1	2	3	4	5	6
Revisión del estado del arte de los efectos farmacológicos identificados en <i>Cuphea aequipetala</i> , así como de los posibles compuestos identificados.	x	x	x	x	x	x
Familiarización del alumno(a) con los programas de identificación MS-FINDER y SIRIUS	x	x				
Caracterización del perfil de compuestos presentes en <i>Cuphea aequipetala</i> mediante los programas MS-FINDER y SIRIUS		x	x	x	x	
Elaboración de reporte de resultados obtenidos						x

## Resultados esperados

Los resultados del desarrollo de este proyecto son:

- Familiarización del alumno(a) con el análisis de datos de un estudio metabolómico.
- Elaboración de un bosquejo general del perfil metabolómico de *Cuphea aequipetala*, clasificado de manera general en familias de compuestos
- Elaboración del reporte de resultados obtenidos.

## Bibliografía

1. Júnior, A.N., et al., *Mapping highly informative SSR markers in the genome of Magnaporthe oryzae from wheat*. Tropical Plant Pathology, 2016. **41**(5): p. 331-335.
2. Arpadjan, S., et al., *Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation*. Food and chemical toxicology, 2008. **46**(8): p. 2871-2875.
3. Pytlakowska, K., et al., *Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions*. Food Chemistry, 2012. **135**(2): p. 494-501.
4. Pichersky, E. and D.R. Gang, *Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective*. Trends in plant science, 2000. **5**(10): p. 439-445.
5. Patti, G.J., O. Yanes, and G. Siuzdak, *Metabolomics: the apogee of the omics trilogy*. Nature reviews Molecular cell biology, 2012. **13**(4): p. 263-269.
6. Dunn, W.B. and D.I. Ellis, *Metabolomics: current analytical platforms and methodologies*. TrACTrends in Analytical Chemistry, 2005. **24**(4): p. 285-294.
7. Guevara-Gonzalez, R. and I. Torres-Pacheco, *Biosystems Engineering: Biofactories for Food Production in the Century XXI*. 2014: Springer.

## Firma del profesor



**Dra. Eunice Yáñez Barrientos.**

**Departamento de Química.**