

Análisis de la expresión génica y metabólica asociada a la biosíntesis de triterpenos pentacíclicos ácidos en raíces de *Cecropia angustifolia*

Gene and Metabolite Analysis Linked to Pentacyclic Acidic Triterpene Biosynthesis in *C. angustifolia* Roots

Paula Catherine MUÑOZ BONILLA

Departamento de ciencias químicas y farmacéuticas, Universidad ICESI, Cali, Colombia

pcatherine.mb@gmail.com

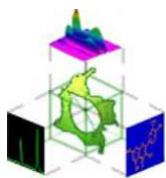
Ponencia Oral 5

ABSTRACT

Cecropia angustifolia, a native plant of the American continent, biosynthesizes a group of secondary metabolites known as pentacyclic acidic triterpenes (TPAs) in its roots [1;2]. These molecules have potential pharmaceutical applications due to their reported modulatory effects on metabolic diseases such as Type 2 Diabetes Mellitus, as they help reduce biochemical markers associated with this condition [3;4]. However, extracting these metabolites from wild individuals, which are restricted to the Andean regions of South and Central America, poses significant environmental challenges. Additionally, *in-vitro* cultivation strategies result in differential metabolic production profiles, making them non-equivalent to wild-type extracts.

This study aimed to determine whether metabolic differences could be explained by the expression of four key genes involved in the TPA pathway: CYP716A, CYP716C, CYP72A, and CYP71D [5-7]. Isoforms of these proteins were identified through de novo transcriptome assembly of a related species and subsequent functional annotation. Using PCR, three of these genes were successfully identified, with their identity confirmed by Sanger sequencing. Gene expression was then evaluated via qPCR, alongside metabolic production of TPAs with mass-to-charge ratios (m/z) of 455, 471, and 487.

The results indicated that metabolic profile differences correlate with an increased production of more oxidized molecules (487 m/z) in wild specimens, while *in vitro* cultures showed higher accumulation of less oxidized forms (471 m/z). Gene expression profiles aligned with metabolic trends, linking higher expression of oxidative genes to environmental stress conditions. Additionally, other regulatory mechanisms may influence TPA biosynthesis.



This study provides the first molecular and biochemical insights into TPA production in *Cecropia angustifolia*, establishing a foundation for further biotechnological optimization of these valuable metabolites ^[8].

Key words:

Pentacyclic acidic triterpenes, CYP450 Enzymes, Secondary metabolites, *Cecropia*.

RESUMEN

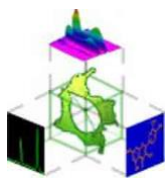
Cecropia angustifolia, una planta nativa del continente americano se caracteriza por biosintetizar en sus raíces un conjunto de metabolitos secundarios conocidos como triterpenos pentacíclicos ácidos (TPAs) ^[1;2]. Estas moléculas presentan una potencial aplicación en la industria farmacéutica, pues se les atribuyen algunas propiedades en la modulación de algunas enfermedades metabólicas como la Diabetes Mellitus Tipo 2, pues permite la disminución de marcadores bioquímicos asociados a esta enfermedad ^[3;4]. No obstante, el aprovechamiento de estos metabolitos a partir de individuos silvestre y cuya ocurrencia es restringida a la zona andina de sur y centroamérica supone un gran impacto ambiental, y las estrategias de cultivo in-vitro presentan perfiles de producción metabólica diferencial, lo que las hace no equivalentes a las fracciones silvestres.

Por esto, el proyecto buscó establecer si las diferencias metabólicas estaban explicadas a partir de la expresión de cuatro genes que participan en la ruta de los TPAs: CYP716A, CYP716C, CYP72A y CYP71D ^[5-7]. A partir de esto se identificaron isoformas de estas proteínas a través de un proceso de ensamblaje *De Novo* de un transcrito de una especie relacionada y su posterior anotación funcional. Posteriormente, mediante la técnica PCR se lograron identificar tres de estos genes, cuya identidad fue confirmada por secuenciación de Sanger. Finalmente, se evaluó su expresión mediante qPCR, así como la producción metabólica de TPAs con relaciones masa carga de 455 *m/z*, 471 *m/z* y 487 *m/z*.

De este proceso se logró concluir que, las diferencias en el perfil metabólico se reflejan en un incremento en la producción de moléculas mayormente oxidadas (487 *m/z*) mientras que in-vitro se produce una mayor acumulación de 471 *m/z*. En el caso de la expresión génica, se vieron perfiles de expresión equiparables a los evidenciados para el perfil metabólico, asociando una mayor expresión de genes asociados a procesos oxidativos con condiciones de estrés ambiental, además de la existencia de otros fenómenos que pueden estar interactuando en la producción de estos metabolitos. Bajo este contexto, el presente trabajo representa una primera aproximación a la comprensión molecular y bioquímica que existe detrás de la producción de TPAs en *Cecropia angustifolia* ^[8].

Palabras clave:

Triterpenos pentacíclicos ácidos, enzimas CYP450, metabolitos secundarios, *Cecropia*.



Referencias/References

- [1] FANANI, M. Z., *et al.* (2019). Molecular Basis of C-30 Product Regioselectivity of Legume Oxidases Involved in High-Value Triterpenoid Biosynthesis. *Frontiers in Plant Science* **Volume 10 - 2019**. [URL](#)
- [2] GUTIÉRREZ, G., *et al.* Pentacyclic Triterpene Profile and Its Biosynthetic Pathway in *Cecropia Telenitida* as a Prospective Dietary Supplement. *Molecules*. (2021). [\[DOI\]](#)
- [3] CADENA-ZAMUDIO, J. D., *et al.* Integrated Analysis of the Transcriptome and Metabolome of *Cecropia Obtusifolia*: A Plant with High Chlorogenic Acid Content Traditionally Used to Treat Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*. (2020). [\[DOI\]](#)
- [4] HU, D., *et al.* 1.18 - Biosynthesis of Triterpenoid Natural Products. In: LIU, H.-W.yBEGLEY, T. P. (eds.). *Comprehensive Natural Products Iii*. Oxford: Elsevier, (2020). p. 577-612. [\[DOI\]](#)
- [5] SØREN, B., *et al.* (2011). Cytochromes P450. *The Arabidopsis Book* **2011**(9). [\[DOI\]](#)
- [6] GHOSH, S. (2017). Triterpene Structural Diversification by Plant Cytochrome P450 Enzymes. *Front Plant Sci* **8**: 1886. [\[DOI\]](#)
- [7] MIETTINEN, K., *et al.* (2017). The Ancient Cyp716 Family Is a Major Contributor to the Diversification of Eudicot Triterpenoid Biosynthesis. *Nature Communications* **8**(1): 14153. [\[DOI\]](#)
- [8] VASQUEZ-DELGADO, J. S., *et al.* (2023). Pharmacokinetic Assessment and Phytochemical Triterpene Control from *Cecropia Angustifolia* Using Plant Biotechnology. *Phytochem Anal* **34**(6): 641-651. [\[DOI\]](#)