

Búsqueda de productos con actividad antiproliferativa y antiparasitaria de cultivos de microalgas

Autor: Daniel F. Cano Cruz

Tutor: Elsa María Rodríguez Pérez

Cotutor: Ana Raquel Díaz Marrero

Introducción

En los últimos años, un problema clave para la salud es el aumento a la resistencia a los fármacos antiproliferativos, haciendo que las terapias no sean efectivas totalmente, y también hay que sumar el crecimiento de los casos de enfermedades parasitarias. [1],[2],[3]

La biodiversidad existente en el medio marino, hace que el ecosistema marino, y en concreto las microalgas, se postule como una fuente importante de metabolitos secundarios con actividad antiparasitaria y antiproliferativa, desempeñando así un papel importante en el tratamiento de dichas enfermedades y en la industria farmacéutica. [4]

Los ensayos de actividad antiparasitaria mostraron que *Euglena cantabrica* fue la única especie que presentaba actividad frente a *Acanthamoeba castellanii* (92.47 µg/mL) y *Leishmania amazonensis* (78.06 µg/mL). Por ello el aislamiento bioguiado se centró en esta especie.

Resultados

El Banco Español de Algas proporcionó muestras liofilizadas de 7 especies de microalgas:

Tabla 1: Especies estudiadas

Especie	Filum	Peso (g)
<i>Klebsormidium cf. nitrens</i> BEA 0030B	Streptophyta	0.0754 g
<i>Cylindrospermum stagnale</i> BEA 0605B	Cyanobacteria	0.2504 g
<i>Euglena cantabrica</i> BEA 0937B	Euglenophyta	0.1725 g
<i>Nostoc sp.</i> BEA 0915B	Cyanobacteria	0.1423 g
<i>Porphyridium cruentum</i>	Rhodophyta	2.0493 g
<i>Isochrysis galbana</i>	Haptophyta	2.0318 g
<i>Phormidium ambiguum</i> BEA 0880B	Cyanobacteria	2.0033 g

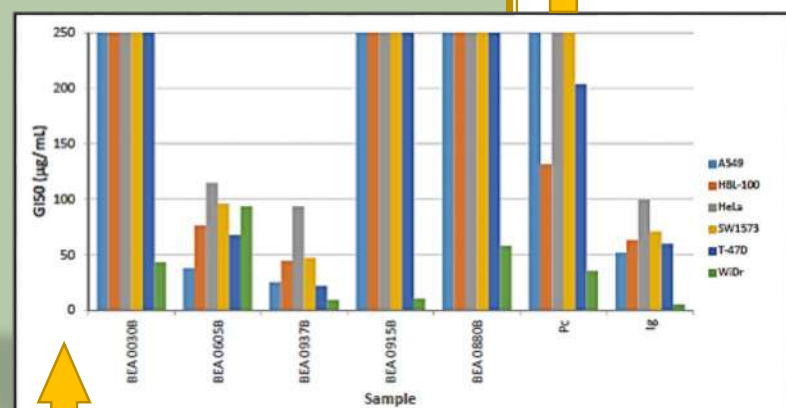


Figura 1: Resultados de actividad antiproliferativa de los 7 extractos de microalgas frente a 6 líneas celulares de cáncer. Especies con actividad: *Isochrysis galbana*, *Cylindrospermum stagnale* y *Euglena cantabrica*

Se parte de 101.50 g de microalga liofilizada y se deja macerar 48 h en MetOH:Acetona (1:1). Tras el filtrado se obtiene una masa de 19.72 g. Se hacen pasar 8.50 g por la columna E.C.1, y se obtienen 62 fracciones agrupadas en base a los resultados de TLC. Las fracciones con actividad antiproliferativa E.C.1.5-6, E.C.1.7-10 y E.C.1.20. Las fracciones con actividad antiparasitaria E.C.1.5-6, E.C.1.7-10. Mediante TLC se observa que las fracciones E.C.1.5-6 y E.C.1.7-10 presentan composición química muy parecido. Sin embargo, se opta por una etapa de purificación de la fracción E.C.1.5-6 mediante el uso de una columna de Sephadex LH-20 (E.C.2). De las 32 fracciones obtenidas y agrupadas, se observó que la fracción E.C.2.9-12 manifestaba una similitud en cuanto a naturaleza química con la fracción E.C.1.7-10. El aislamiento bioguiado prosiguió uniendo estas dos fracciones y haciéndolas pasar a través de la columna E.C.3, obteniendo 38 fracciones que fueron reunidas en 7 grupos. La fracción E.C.3.9 se purificó y separó en 10 sustancias diferentes mediante cromatografía preparativa. Sólo la sustancia E.C.3.9-P.6 presentó actividad antiproliferativa.

Conclusiones

- La especie *Euglena cantabrica* es seleccionada frente al resto de microalgas estudiadas en base a la presencia de actividad antiproliferativa y antiparasitaria frente a *Acanthamoeba castellanii* y *Leishmania amazonensis*.
- Los procesos de extracción y purificación de las diferentes fracciones obtenidas mediante la aplicación de técnicas cromatográficas, permitieron aislar finalmente un total de 10 sustancias, de las cuales solo la denominada E.C.3.9-P.6 exhibió actividad antiproliferativa.
- Los espectros obtenidos mediante RMN, no permitieron dilucidar la naturaleza química de la sustancia activa aislada debido a que la muestra mostraba un alto grado de complejidad y un cúmulo de señales. Además, la cantidad obtenida de la sustancia E.C.3.9-P.6, a partir de la cromatografía preparativa, fue muy pequeña, no siendo viable una segunda etapa de purificación.

Objetivos

El objetivo principal es explorar el potencial biotecnológico de una colección de microalgas y las propiedades biológicas de los metabolitos secundarios que producen.

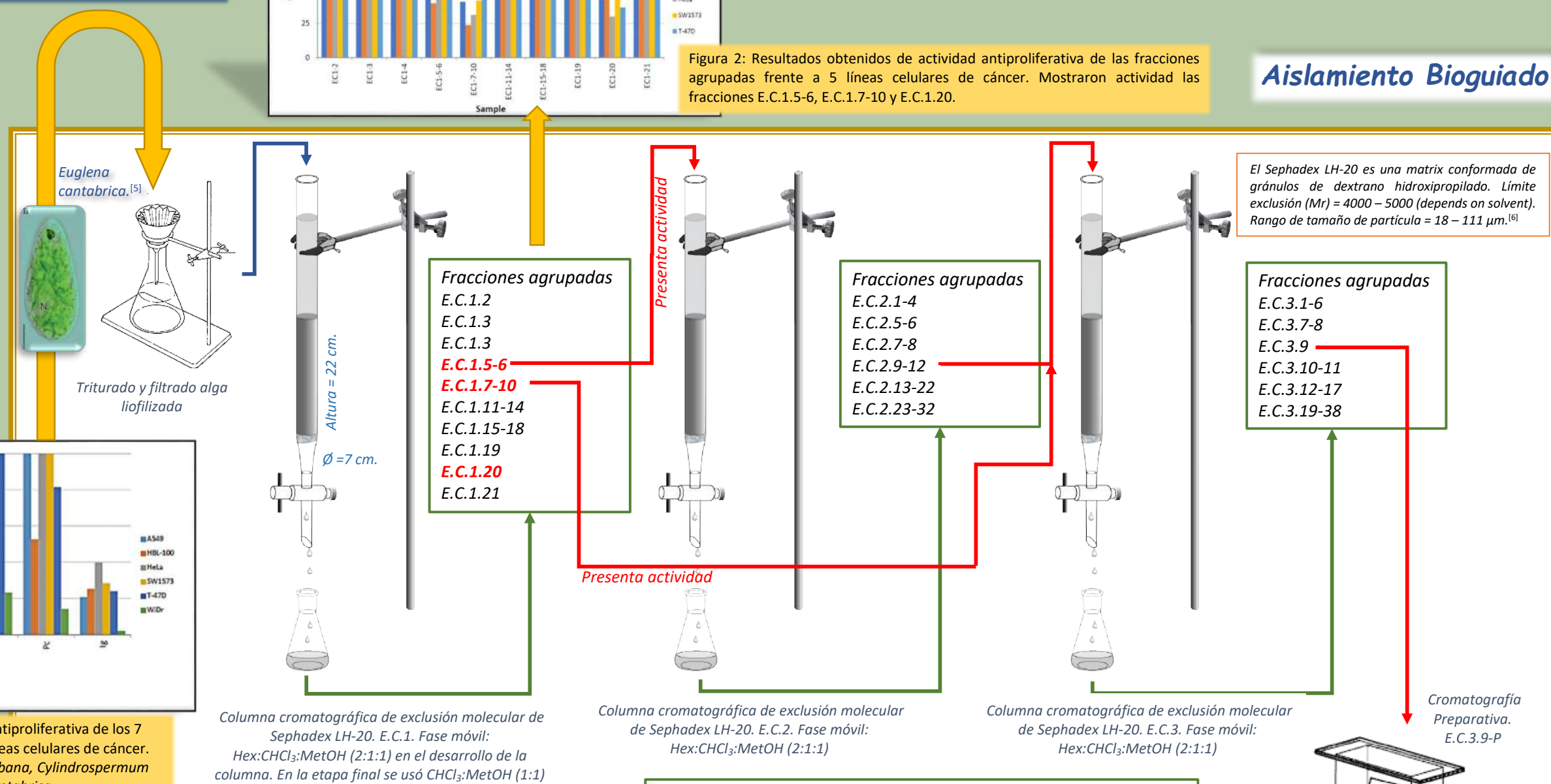
Para alcanzar esta meta, proponemos los siguientes objetivos específicos:

- Analizar el potencial antiproliferativo y antiparasitario de una colección de extractos de microalgas.
- Desarrollar el aislamiento bioguiado de los extractos activos de las especies de microalgas seleccionadas mediante diferentes técnicas cromatográficas.
- Identificar la naturaleza química de los compuestos bioactivos mediante resonancia magnética nuclear (RMN).



Figura 2: Resultados obtenidos de actividad antiproliferativa de las fracciones agrupadas frente a 5 líneas celulares de cáncer. Mostraron actividad las fracciones E.C.1.5-6, E.C.1.7-10 y E.C.1.20.

Aislamiento Bioguiado



Metabolitos aislados

- E.C.3.9 P.1
E.C.3.9 P.2
E.C.3.9 P.3
E.C.3.9 P.4
E.C.3.9 P.5
- E.C.3.9 P.6
E.C.3.9 P.7
E.C.3.9 P.8
E.C.3.9 P.9
E.C.3.9 P.10

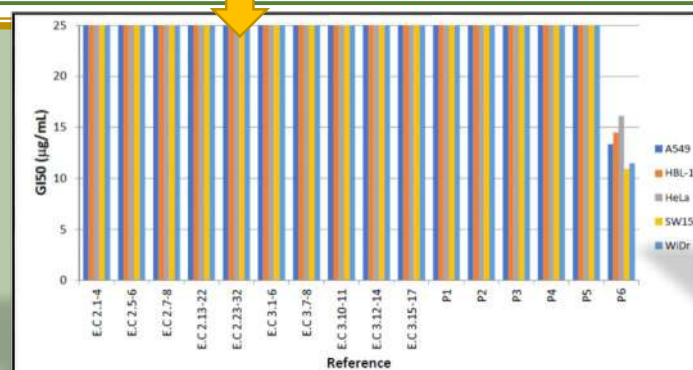


Figura 3: Resultados obtenidos de actividad antiproliferativa de las diferentes fracciones preparadas para su estudio frente a 5 líneas celulares de cáncer. Sustancia con actividad solo E.C.3.9-P.6

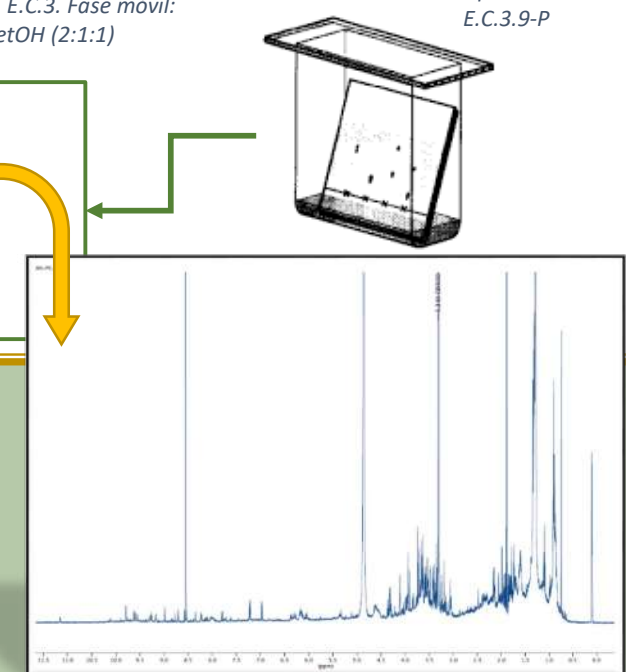


Figura 4: Espectro 1H-RMN de la fracción E.C.3.9-P.6 (MeOD-d4, 600 MHz, 298 K).

Referencias

- Fernández, M. D., Hernández I., Regueira, S. M. (2015). Bioactivos marinos en el tratamiento del cáncer. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, Vol. 40, No. 7.
- Fernández I. (2022, 08 03). *Greentech*. Retrieved from Péptidos Marinos Anti Cáncer, un Remedio de la Naturaleza: <https://www.greentech.es/peptidos-marinos-anti-cancer/>
- Pradhan, B. et al. (2021). Evaluation of the anti-bacterial activity of methanolic extract of *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] with special reference to antioxidant modulation. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1-11.
- Imhoff, J. F., Labes, A., Wiese J. (2011). Bio-mining the microbial treasures of the ocean: New natural products. *Biotechnology Advances*, 29, 468 - 482.
- Triemer R.E. & Zakry's B. (2015). Photosynthetic Euglenoids. In *Freshwater-Algae-of-North-America* (pp. 459-483). London: Elsevier.
- Cytiva. (2022, julio 28). *Gel filtration media, Sephadex™ LH-20*. Retrieved from <https://es.vwr.com/store/product/10613068/gel-filtration-media-sephadex-lh-20>