



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**“Estudio de la actividad fotoprotectora y antioxidante del coral *Pseudodiploria clivosa* (Ellis y Solander, 1786) y de la anémona *Actinostella flosculifera* (Le Sueur, 1817) pertenecientes al SAV”.**

**TESIS**

Que para obtener el título de:  
BIÓLOGA

**PRESENTA**

HELENA AGUILAR MARTÍNEZ

**DIRECTOR DE TESIS:**

DR. JOSÉ GUILLERMO AVILA ACEVEDO

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México 2017





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ***AGRADECIMIENTOS***

**A la UNAM por brindarme el gran honor de realizar mis estudios de Licenciatura en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala y por darme la oportunidad de formar parte de esta comunidad.**

**A mi tutor Dr. Guillermo Avila Acevedo por creer en mí para la realización de este proyecto, por todos sus consejos y enseñanzas, su confianza, por siempre recibirme y apoyarme.**

**A la Dr. Ana María García Borez por todo su apoyo, por sus enseñanzas, sus comentarios, por siempre tenerme paciencia, y por confiar en mí.**

**Al Biol. Jose Luis Tello Musi por todos sus consejos y su disposición de ayudarme siempre y ser parte primordial de este proyecto.**

**Al Dr. Guillermo Horta-Puga y su equipo que fueron parte fundamental para la realización de este proyecto.**

**Al Dr. Ignacio Peñalosa por el apoyo brindado.**

**Al M. en C. Luis Barbo Hernández Portilla por su todo su apoyo técnico para la realización de este proyecto.**

**Al Dr. Israel Valencia Quiroz por sus enseñanzas, su paciencia y sus consejos para la realización de este proyecto.**

## DEDICATORIAS

A Claudia por ser lo más hermoso que me ha dado la vida, por ser mi motor, mi inspiración y mi ejemplo, por ser siempre mi estrella te amo mi princesa.

A mis padres Emma y Hermenegildo por su amor incondicional, por ser un gran ejemplo de superación, por su apoyo para realizar mis estudios, por aguantar todas mis locuras, por siempre estar conmigo y confiar en mí.

A Sergio por ser mi amor, compañero y amigo, por enseñarme a vivir de muchas formas y por tu amor incondicional Te amo.

A mi hermana por siempre cuidarme y enseñarme, por creer en mí, por echarme porras siempre y por todas las alegrías que desde pequeñas hemos compartido.

A mi cuñado Luis por sus consejos, por su gran entusiasmo siempre y su disposición de apoyarme a mí y a mi familia.

A mis amigos Ariadna, Jaime y Lola por compartir muchos momentos a lo largo de la carrera, por darme su amistad y por hacerme reír siempre.

A mis profesores Anita y Memo por compartir sus conocimientos conmigo, por las charlas, por ser una inspiración y son su fan.

A todos mis compañeros de laboratorio de fitoquímica que desde el principio de esta aventura me han regalado momentos inolvidables.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
Índice de figuras.....	VI
Índice de tablas.....	VII
Índice de espectros.....	VII
1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
2.1. El Sol.....	2
2.2. Efectos de la RUV en los seres vivos.....	3
2.3. Radiación en sistemas acuáticos.....	5
2.3.1. Cnidarios como fuente de compuestos bioactivos.....	8
3. Antecedentes de fotoquimioprotectores en cnidarios.....	15
4. Área de localización de los organismos de estudio.....	17
4.1. Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV).....	17
4.1.1. Arrecife Isla Verde.....	19
4.1.2. Arrecife La Gallega.....	19
5. Descripción de las especies.....	20
5.1. <i>Pseudodiploria clivosa</i> .....	20
5.2. <i>Actinostella flosculifera</i> .....	22
6. Justificación.....	24
7. Pregunta científica.....	25
8. Hipótesis.....	25
9. Objetivos.....	26
9.1. Objetivo general.....	26
9.2. Objetivos particulares.....	26
10. Estrategia metodológica.....	27
10.1. Recolecta.....	29
10.1.1. <i>P. clivosa</i> .....	29
10.1.2. <i>A. flosculifera</i> .....	29
10.2. Preparación de la extractos metanólicos de <i>P. clivosa</i> y <i>A. flosculifera</i> .....	29
10.3. Obtención del espectro electromagnético en la región UV-B de los extractos de <i>P. clivosa</i> y <i>A. flosculifera</i> .....	30
10.4. Determinación de la actividad antioxidante de <i>P. clivosa</i> y <i>A. flosculifera</i> .....	30
10.5. Evaluación del efecto fotoprotector de los extractos metanólicos de <i>P. clivosa</i> y <i>A. flosculifera</i> .....	31
10.6. Fraccionamiento del extracto metanólico de <i>A. flosculifera</i> .....	33
10.6.1. Espectrofotometría de Infrarrojo.....	35
10.7. Punto de fusión.....	36
11. Resultados y discusión.....	37
11.1. Rendimiento de los extractos de <i>P. clivosa</i> y <i>A. flosculifera</i> .....	37
11.2. Espectros de absorción en la región UV-B de los extractos metanólicos de <i>P. clivosa</i> y <i>A. flosculifera</i> .....	39

11.2.1.	<i>P. clivosa</i> .....	39
11.2.2.	<i>A. flosculifera</i> .....	41
11.3.	Evaluación de la actividad antioxidante.....	43
11.3.1.	<i>P. clivosa</i> .....	43
11.3.2.	<i>A. flosculifera</i> .....	45
11.4.	Evaluación del efecto fotoprotector.....	47
11.4.1.	<i>P. clivosa</i> .....	47
11.4.2.	<i>A. flosculifera</i> .....	50
11.5.	Espectrofotometría de infrarrojo de las fracciones obtenidas del extracto de <i>A. flosculifera</i> .....	52
11.6.	MAAs y su relación con los ácidos grasos.....	64
11.6.1.	Punto de fusión de la fracción 79.....	66
12.	Conclusiones.....	67
13.	Perspectivas.....	68
14.	Bibliografía.....	69
15.	Anexo.....	81

## Índice de figuras

	Página
Figura 1. Penetración de luz UV en el océano.....	6
Figura 2. Interacciones metabólicas y proceso de calcificación en corales..	10
Figura 3. Posible ruta biosintética de las MAAs.....	12
Figura 4. Estructura química de la micosporina-glicina (MG).....	13
Figura 5. Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV).....	18
Figura 6. Ejemplar de <i>P. clivosa</i> en el arrecife Isla Verde.....	21
Figura 7. Ejemplar de <i>A. flosculifera</i> del arrecife La Gallega.....	23
Figura 8. Estrategia metodológica.....	28
Figura 9. Extracción de tejido de <i>P. clivosa</i> .....	29
Figura 10. Reducción del radical difenil-picril-hidracilo (DPPH•).....	30
Figura 11. Modelo de muerte celular bacteriana inducida por radiación UV.....	32
Figura 12. Espectro de absorción de <i>P. clivosa</i> en la región UV-B.....	39
Figura 13. Espectro de absorción de <i>A. flosculifera</i> en la región UV.....	41
Figura 14. Capacidad antioxidante del residuo sólido de <i>P. clivosa</i> .....	43
Figura 15. Capacidad antioxidante del extracto metanólico de <i>A. flosculifera</i> .....	45
Figura 16. Muerte celular inducida por la RUV en <i>E. coli</i> : experimentos con protección (residuo sólido y extracto cristalino de <i>P. clivosa</i> ) y control negativo.....	47
Figura 17. Muerte celular inducida por la RUV en <i>E. coli</i> : experimento con protección (extracto metanólico de <i>A. flosculifera</i> ) y control negativo.....	50
Figura 18. Estructuras químicas y máximos de absorción de 5 MAAs identificados en organismos acuáticos (Modificado de Korbee et al, 2006).....	54

## Índice de tablas

	Página
Tabla 1. Fraccionamiento del extracto metanólico de <i>A. flosculifera</i> .....	34
Tabla 2. Condiciones para obtener los espectros de absorción de las fracciones del extracto metanólico de <i>A. flosculifera</i> .....	36
Tabla 3. Máximos de absorción del extracto metanólico de <i>P. clivosa</i> .....	40
Tabla 4. Grupos funcionales característicos de las MAAs de cada fracción.....	53
Tabla 5. Simbología utilizada en el presente estudio para la identificación de los grupos funcionales característicos de las MAAs en los espectros de infrarrojo.....	55

## Índice de espectros

	Página
Espectro 1. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción L.....	56
Espectro 2. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción E-1.....	57
Espectro 3. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción 93.....	58
Espectro 4. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción J.....	59
Espectro 5. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción K.....	60
Espectro 6. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción N.....	61
Espectro 7. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción G-1.....	62
Espectro 8. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción L-1.....	64
Espectro 9. Espectrofotometría de infrarrojo del ácido icosanóico.....	65



## 1. RESUMEN

El Sol es la principal fuente de energía de nuestro planeta, este emite radiaciones entre las cuales se encuentra la radiación UV. Aunque esta no llega en su totalidad a la superficie terrestre el flujo se ha incrementado debido a la pérdida de la capa de ozono, provocando un aumento de daños inducido por RUV para la mayoría de los organismos vivos. Para reducir estos daños es necesario buscar compuestos que tengan actividad antioxidante y/o fotoprotectora. Los arrecifes de coral experimentan altos flujos de radiación UV, por lo que los organismos marinos que conforman estos ecosistemas deben de estar provistos de mecanismos antioxidantes y fotoprotectores. En cnidarios se reporta que las moléculas encargadas de la fotoprotección son los aminoácidos tipo micosporina (MAAs), las cuales actúan como pantalla ante la RUV y algunas de ellas poseen actividad antioxidante. Debido a lo anterior el objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de compuestos antioxidantes y fotoprotectores del coral *Pseudodiploria clivosa* y de la anémona *Actinostella flosculifera*, ambas especies forman parte del Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV).

La recolecta de llevó a cabo en dos arrecifes que conforman el SAV, Isla Verde para el coral y la Gallega para la anémona, esto debido a que la abundancia de ambas especies varía en cada arrecife.

Se realizaron extractos metanólicos de ambas especies. Del coral se obtuvieron dos partes, un residuo sólido y un extracto cristalino. De la anémona se obtuvo solo el extracto metanólico. Se obtuvieron los espectros electromagnéticos en la región UV-B, ambas especies presentaron máximos de absorción en esta región.

La actividad antioxidante se evaluó mediante la decoloración de radical (DPPH•), ambos extractos mostraron actividad antioxidante discreta.

La actividad fotoprotectora fue determinada mediante un modelo de muerte celular bacteriana, expuestas a la RUV con y sin protección. El residuo sólido del coral protegió a las bacterias hasta los 6 min, y el extracto de anémona las protegió hasta los 10 min; mientras que el control negativo (MeOH) sólo las protegió hasta los 3 min. Ya que el rendimiento del extracto de anémona se procedió a aislar sus componentes mediante técnicas cromatográficas, las fracciones fueron analizadas por espectrofotometría de infrarrojo, sólo 7 de estas mostraron grupos característicos de las MAAs. Los resultados obtenidos por el análisis IR de estas fracciones, el espectro electromagnético del extracto de anémona y la comparación con la literatura nos lleva a inferir que en el extracto de anémona las MAAs que posiblemente estén presentes sean porfira y shinorina.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1. El Sol

El Sol es una esfera gaseosa, sus principales componentes son el Hidrógeno y el Helio, dentro de él y debido a las altas presiones dichos elementos llevan a cabo reacciones de fusión y fisión nuclear; el hidrógeno del núcleo se transforma en helio liberando una ráfaga de energía en forma de radiaciones electromagnéticas, las cuales van perdiendo intensidad en su camino a la superficie terrestre (Fligge et al, 2001; García 2010).

La radiación emitida por el Sol comprende una variedad continua y muy extensa de longitudes de onda que va, desde los rayos gama hasta las ondas de radio pasando por los rayos X, ultravioleta (UV), infrarrojo (IR) y microondas (Libkind et al, 2004).

Desde hace más de 3000 millones de años, cuando las cianobacterias poblaban los océanos, éstas cambiaron la composición atmosférica, ya que al producir oxígeno este se fue acumulando en ella y al alcanzar la estratósfera, se transformó en ozono. Este suceso, dada la capacidad de este gas para absorber la radiación ultravioleta (UV), fue lo que permitió el desarrollo de la vida sobre la superficie del planeta Tierra (Agusti, 2007).

En la actualidad, la capa de ozono sigue protegiendo de la RUV tanto a la superficie terrestre, como a la de los océanos, sin embargo, esta capa ha sido alterada durante los últimos años, debido principalmente a actividades antropogénicas, cuyo resultado es un agujero presente especialmente en la Antártida y un adelgazamiento de esta capa en el ecuador y en los polos (Agusti, 2007). Debido a lo anterior se ha incrementado el flujo de radiación UV sobre la superficie terrestre y los sistemas acuáticos (Donat-P et al, 2005).

La mayoría de los procesos que ocurren en la Tierra tienen su origen último, en la energía que proviene del Sol, por lo tanto, la atmósfera juega un papel importante en la distribución de calor. En ella se encuentra una mezcla de gases que incluye al ozono, este gas es responsable de filtrar las radiaciones más energéticas de la RUV antes de llegar a la tierra (Lowe et al, 1997).

En 1932 en el congreso sobre la luz en Copenhagen, Dinamarca, William Coblentz propuso dividir el espectro ultravioleta en 3 regiones UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) y UV-C (< 280 nm) (Lentner et al, 1992)

La radiación UV-C es la de mayor energía y, por tanto, la más dañina de la radiación UV, no obstante, aunque la concentración del ozono se redujera drásticamente, la atmósfera todavía sería capaz de filtrar en su totalidad la radiación solar UVC incidente, además de que ésta no se produce de forma natural en la superficie terrestre. La radiación UV-B es absorbida casi totalmente por el ozono, aunque a medio día representa un 10% de la radiación total que llega a la tierra y el 1.65% de ella puede alcanzar la superficie terrestre. Esta radiación tiene un grave impacto biológico sobre los seres vivos terrestres y acuáticos; debido a que la absorción estos fotones muy energéticos dada su reducida longitud de onda, por parte de diversos componentes celulares, puede generar el desprendimiento de electrones con la consecuente generación de radicales libres (Agusti, 2007).

Por último, la radiación UV-A es la más cercana al espectro visible, se considera menos dañina, por tener menor energía, prácticamente no es filtrada por el ozono y tiene un papel importante ya que participa como activador de diversos mecanismos biológicos de fotoprotección y reparación; (Agusti, 2007) y en la síntesis de la vitamina D. Aproximadamente llega un 90% a la superficie terrestre (Lowe et al, 1997). Cabe aclarar que la radiación UV-A también produce daños ya que su mayor longitud de onda penetra con mayor intensidad en las células epidermales y dermales estimulando la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Garmyn et al, 2007)

## 2.2. Efectos de la RUV en los seres vivos

La RUV provoca daños sobre las células vivas que pueden ser de dos tipos directos e indirectos. Los directos son provocados por la incidencia directa de los rayos UV y estos afectan a las macromoléculas como proteínas, ADN y ARN resultando en su degradación o transformación por lo que la función biológica se daña o se pierde, por ejemplo en el ADN se forman dímeros de pirimidina por unión covalente entre dos pirimidinas adyacentes en la misma cadena, y también se pueden formar fotoproductos denominadas pirimidin-pirimidona 6-4 (6-4PP), aquí la unión se lleva a

cabo en los carbonos 6 y 4 de las bases adyacentes de timina; y los indirectos, estos se producen cuando la radiación UV es absorbida por compuestos intermedios los cuales producen ERO y otros radicales libres, estos son altamente reactivos y pueden oxidar o alterar los componentes celulares (Libkind et al, 2004). Por otra parte, las ERO también participan en muchas funciones celulares ya que son intermediarios de rutas metabólicas, sin embargo la producción de éstas varía significativamente debido al gradiente dado por los factores ambientales, por lo que estas defensas antioxidantes mantienen a las ERO en un estado estacionario bajo para prevenir el estrés oxidativo y el daño celular (Lesser, 2006).

Los antioxidantes juegan un rol importante en los sistemas biológicos que incluyen señalización celular, rutas y defensa contra el daño oxidativo; la actividad antioxidante intracelular previene el daño causado por ERO; estas se producen como un producto del funcionamiento celular normal, las cantidades excesivas causan efectos dañinos en el ADN, el ARN y proteínas, que, en teoría, contribuyen a la fisiología del envejecimiento y pueden estar implicados en muchas enfermedades humanas, como la aterosclerosis, el cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares y neurológicas como la enfermedad de Alzheimer y de Parkinson (Alencar et al, 2015).

Todos los organismos tenemos mecanismos de control ante la RUV entre los cuales se encuentran las moléculas absorbentes de RUV como son compuestos fenólicos entre los cuales se encuentran flavonoides y fenilpropanoides, además carotenos, las micosporinas (MAAs) en los animales, uno de los principales compuestos capaces de absorber la RUV es la melanina (Cockell et al, 1999). Otra línea de defensa con la que contamos los seres vivos son los antioxidantes que se clasifican en dos categorías enzimático y no enzimático; la primera línea de defensa corresponde al sistema enzimático que incluye a enzimas como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, tioredoxina reductasas y al glutatión reductasa, el segundo sistema el no enzimático trabaja en paralelo con el primer sistema y es útil especialmente cuando el primero se satura en él se incluyen al glutatión, bilirrubina, flavonoides, vitamina A, C y E (Zamora, 2007).

Cuando estos mecanismos de defensa fracasan las biomoléculas afectadas por RUV activan sus sistemas propios de reparación como en el ADN se llevan a cabo por

escisión en el cual el fragmento dañado y previamente reconocido los cortan y pegan el nuevo fragmento que ha sido sintetizado por la ADN polimerasa, otro mecanismo es la fotoreactivación esta se lleva a cabo por una enzima, la fotoliasa la cual revierte la dimerización separando el anillo del ciclobutano de los dímeros de pirimidina restableciendo las bases nitrogenadas a su forma original (García,2010).

La RUV se considera un carcinógeno completo porque induce y promueve el cáncer de piel. Actúa como un iniciador al provocar y fijar mutaciones en el genoma de la célula. Posteriormente, actúa como promotor al activar varios sistemas de trasducción de señales en la membrana celular que estimulan la proliferación de las células transformadas que van a desarrollar el carcinoma (Ziegler et al, 1996; García, 2010).

El cáncer de piel es el más frecuente en el ser humano, en los últimos años ha aumentado; en México hay un subregistro de casos, pues la mayoría de ellos no causan mortalidad (Gutierrez, 2003). El cáncer de piel se presenta de dos maneras los no melanómicos, el tipo más común, que incluyen el cáncer de las células escamosas y los cánceres de células basales; y los melanomas que son el tipo más grave y que se desarrolla en los melanocitos (Freedberg et al, 1999; Gutiérrez, 2003). En una nota periodística publicada por El Fianciere la Fundación Mexicana para la Dermatología (FMD) en 2014 informó que en México el cáncer de piel ocupa el segundo lugar de incidencia en México.

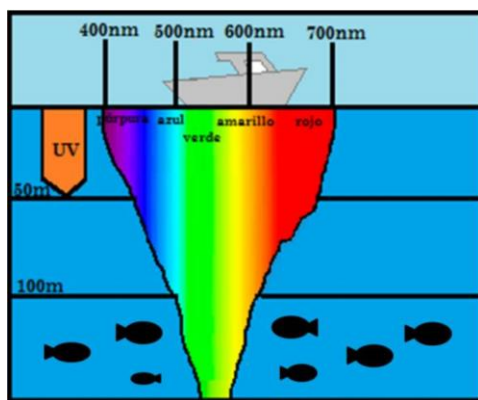
### **2.3 Radiación en sistemas acuáticos**

La vida se originó bajo condiciones de ausencia de ozono por consecuencia con niveles altos de radiación UV-B, por lo que debido a la exposición a la radiación la protección UV, y las características físicas y químicas cambiantes desde entonces en los océanos, han debido ser un importante carácter en la evolución de los primeros eucariotas y por lo tanto, en el proceso de selección natural (Korbee et al, 2006).

Hace algunos años se pensaba que los organismos acuáticos no sufrían daños por la radiación UV, ya que se creía que esta era absorbida en los primeros centímetros de la superficie. Los efectos de la RUV en los sistemas acuáticos incidentes sobre los organismos serán diferentes dependiendo de cómo sea transmitida en la columna de agua pues depende de cuatro factores: el agua la cual es un filtro natural que absorbe

de forma diferencial la RUV y a mayor profundidad penetran mayores longitudes de onda, esto es menos energéticos; los compuestos disueltos, la materia inanimada y los organismos fotosintéticos (Kirk, 1994; Helbling, 1997).

Debido al descubrimiento del agujero en la capa de ozono y al avance en las técnicas de investigación de productos naturales marinos, fue que se pudo evaluar el impacto de la radiación debajo del agua; en la actualidad se sabe que la radiación UV penetra varios metros (Fig. 1) por lo que el daño oxidativo puede ser observado en los organismos acuáticos (Korbee et al, 2006).



**Fig. 1 Penetración de luz UV en el océano.**

(Modificado de <https://manoa.hawaii.edu/exploringourfluidearth/physical/ocean-depths/light-ocean>).

Fue hasta la década de los 50's cuando se dieron grandes avances en la taxonomía de organismos marinos y el desarrollo en el buceo hizo que la recolección de muestras para la investigación de estos en el océano fuera accesible; este campo se expandió durante los años 70's y 80's (Patiño, 2013).

De igual forma los métodos de extracción y elucidación estructural han tenido gran avance y la adecuada elección de sitios de recolecta es un aspecto clave en la búsqueda de nuevos productos marinos; lo que hace que los sitios con mayor diversidad sean los más populares para las investigaciones; además esta tendencia se combina con ciertos phylla y metabolitos en particular (Keck et al, 2011; Patiño, 2013). La tendencia

química observada en invertebrados marinos son metabolitos derivados de mevalonato como los más abundantes, seguido de aminos y amidas; mientras que los derivados de

nitrógeno y acetato constituyen las cinco primeras clases principales de metabolitos encontrados en microorganismos marinos (Kelecom, 2002)

En términos de biodiversidad, el medio marino se encuentran entre los ecosistemas más ricos y complejos. Las condiciones químicas y físicas del medio han sido factores importantes para la producción de una variedad de moléculas con características estructurales únicas (Jain et al, 2008; Rocha et al, 2011).

Existe un creciente interés en los organismos marinos para explorar la bioactividad de varios compuestos marinos asociados con la vida humana, en décadas recientes se ha incrementado el descubrimiento de nuevas sustancias aisladas de organismos marinos; estas sustancias son biológicamente activas y pueden tener propiedades biológicas bien definidas (Blunt et al, 2014, Radjasa et al, 2011, Senthilkumar et al, 2013; Alencar et al, 2015), como son los que poseen actividad específica, por ejemplo: antitumorales, antimicrobiales, antimalaria, antituberculosis, antiinflamatorios, anti-VIH, anti cáncer, etc., han sido reportados de diversos organismos marinos (Rastogi et al, 2010).

Aunque casi 18.000 compuestos han sido descubiertos ya que el campo de la bioquímica comenzó a mediados de la década de 1960, sólo un número muy limitado han visto aplicación industrial (Rocha et al, 2011).

La diversidad de compuestos químicos en el ambiente marino puede deberse, en parte, a la extrema competencia entre los organismos por el espacio y los recursos. Esta hipótesis es referida a organismos sésiles, los cuales logran biosintetizar una diversidad de compuestos químicos o metabolitos secundarios, utilizados para la defensa en un medio muy competitivo; pueden matar, sedar, o impedir el asentamiento de otras especies, proporcionándoles ventajas evolutivas en la prevención de la depredación y adherencia (Ordaz et al, 2010).

Otro factor importante que influye en la formación de metabolitos secundarios son las relaciones simbióticas que los organismos marinos poseen, estas relaciones pueden ser mutualistas, parasitarias o patogénicas. En invertebrados los simbiosomas incluyen bacterias, y eucariotas unicelulares, como los dinoflagelados (Patiño, 2013).

Los primeros programas del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los EE.UU. demostraron que los invertebrados marinos son una excelente fuente de moléculas con potencial citotóxico, incluso más que los organismos terrestres (Fenical et al, 2009; Rocha et al, 2011). Por lo anterior, no es sorprendente que en los últimos 40 años se han dado importantes avances en el descubrimiento de fármacos marinos que han sido registrados en los ensayos clínicos para el cáncer (Hill et al, 2010; Rocha et al, 2011).

Además de la actividad contra el cáncer, estos compuestos han demostrado ser una fuente abundante de agentes farmacológicamente activos para la producción de entidades terapéuticas concluyendo por todo lo anterior que los organismos marinos son una fuente importante de compuestos bioactivos (Glaser et al, 2009; Rocha et al, 2011).

### **2.3.1. Cnidarios como fuente de compuestos bioactivos.**

El Filo Cnidaria es un grupo grande, diverso y ecológicamente importante de invertebrados marinos que incluye más de 11000 especies existentes. La capacidad de los cnidarios para producir toxinas potentes y venenos ha sido bien documentada. Sin embargo, la investigación adicional ha demostrado que productos naturales marinos producidos por cnidarios son más que toxinas y venenos. Más de 3.000 productos naturales marinos han descrito de este filo, mayormente en la última década. (Daly 2007; Rocha et al, 2011).

Los cnidarios se llaman así por que poseen células especializadas, exclusivas y características de este grupo llamadas cnidocitos, los cuales tienen función urticopunzante, que utilizan para atrapar a sus presas y defenderse de sus depredadores (Hyman, 1940; Marshall y Williams, 1980; González, 2005).

En este grupo se encuentran los corales, anémonas y medusas, la mayoría de ellos mantiene una relación simbiótica con un alga llamada zooxantella generalmente del género *Symbiodinium*. Los corales constructores de arrecifes, los cuales tienen una distribución vertical de 90 m o menos por debajo de la superficie, esta restricción está dada probablemente por la relación simbiótica que mantienen con las zooxantella que viven en el tejido de los corales, estas requieren luz para la fotosíntesis, el oxígeno es aprovechado por los corales y las algas facilitan la formación de depósitos para el



esqueleto de coral, pues la calcificación se acelera con la fotosíntesis y es más rápida en organismos que contienen a este tipo de alga (Barnes, 1969).

La simbiosis presentada en los cnidarios no debe ser estudiada por separado ya que esta ha dado lugar a nuevos perfiles metabólicos y a una mayor competitividad. El beneficio más importante es nutricional ya que el simbiote conserva la capacidad fotosintética y transfiere al hospedero el carbono orgánico producido por la fotosíntesis; mientras que el hospedero transloca nutrientes esenciales al endosimbionte como nitrógeno, fósforo y compuestos de azufre, además de brindarle protección y hábitat (Muscatine, 1990; Furla et al, 2005).

En las interacciones metabólicas se da un sistema de reciclaje de nutrientes, entre el huésped y sus simbioses, proporcionándoles una ventaja competitiva en las aguas tropicales poco profundas y bajas en nutrientes (Yellowlees et al, 2008; Fournier, 2013).

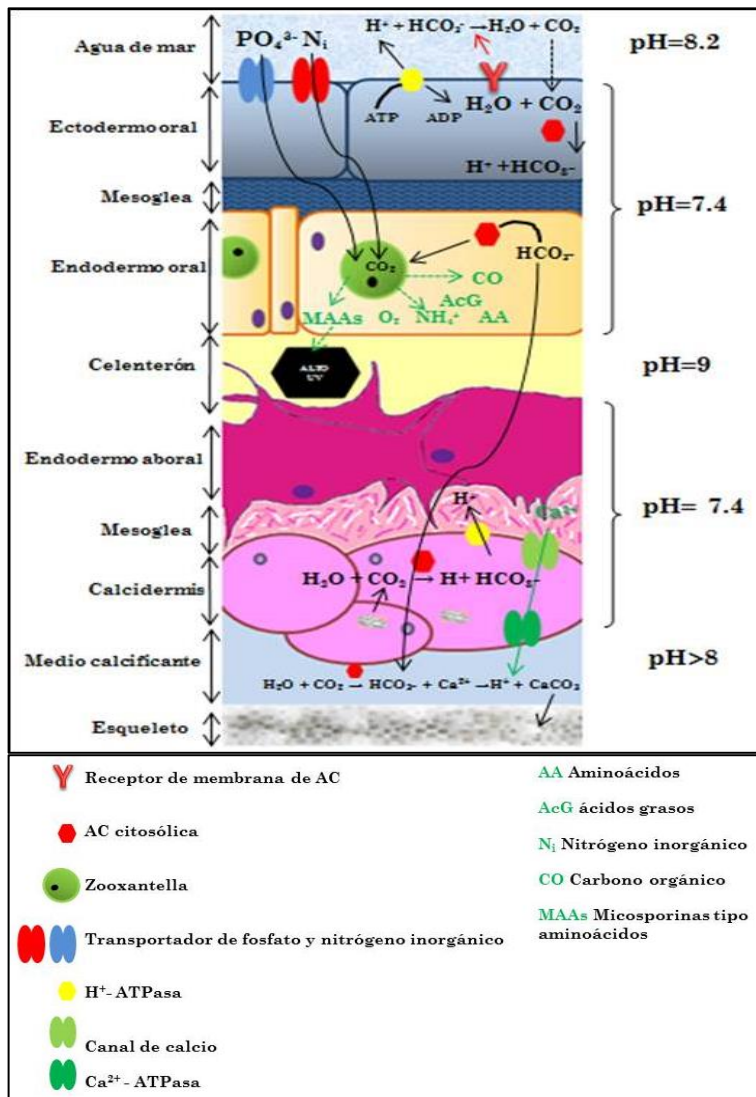
En los corales, estos intercambios de nutrientes deben ocurrir a través de la membrana del simbiosoma. Los antozoos han sufrido una serie de cambios fisiológicos, tales como la localización y actividad de sus enzimas, para transportar activamente carbono inorgánico del exterior a su endodermo interno y realizar mecanismos de concentración de CO<sub>2</sub>. Los compuestos producidos por *Symbiodinium* son muy diversos; el glicerol es el principal producto extracelular, pero otras moléculas incluyen aminoácidos, glucosa, maltosa, moléculas del ciclo de Krebs, piruvato, etc. *Symbiodinium* es el productor primario de la energía reservada de los corales y lo hacen del acetato derivado del metabolismo del anfitrión (Gordon et al, 2010; Fournier, 2013)

En los arrecifes de coral, la fotosíntesis y la calcificación no ocurren de forma independiente. El carbono inorgánico disuelto (CID) necesario para la fotosíntesis también es utilizado para construir el esqueleto, compuesto por una fracción mineral (carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) cristalizado en aragonita) y una matriz orgánica. Los simbioses toman CO<sub>2</sub> para la fotosíntesis, esto favorece la precipitación de CaCO<sub>3</sub>, después eliminan fosfatos que pueden inhibir la calcificación y potencian la cristalización de CaCO<sub>3</sub>, la energía y el suministro de O<sub>2</sub> al huésped aumenta su

metabolismo y permite una calcificación más rápida (Tambutte et al, 2011; Fournier, 2013).

El nitrógeno se obtiene en forma de amonio  $\text{NH}_4^+$  o nitrito  $\text{NH}_3^-$  ambos lo asimilan pero el huésped es el responsable de la mayor parte de asimilación este controla su disponibilidad para las algas, así regula la población del simbionte. (Fig. 2) (Godinot et al, 2011; Fournier, 2013).

Los invertebrados marinos que alojan a *Symbiodinium* se ven obligados a vivir en aguas claras y poco profundas, en donde están constantemente expuestos a altos niveles de radiación solar. Para contrarrestar el efecto de los niveles de luz nocivos, sus simbiontes producen compuestos absorbentes de la RUV, como aminoácidos tipo micosporina (MAAs); estas también tienen el potencial de actuar como depuradores de radicales libres, entre otras funciones (Rosic, 2012; Fournier, 2013).



**Fig.2 Interacciones metabólicas y proceso de calcificación en corales.** Las algas adquieren nitrógeno, fosfatos y otros compuestos inorgánicos del huésped; estas producen el 95% de la demanda energética del huésped. La absorción de carbono requiere H<sup>+</sup> y una ATPasa para acidificar la capa límite y formar HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (ácido carbónico) que se deshidrata rápida y externamente en CO<sub>2</sub> mediante una CA (anhidrasa carbónica) en la membrana. El CO<sub>2</sub> se difunde en el huésped donde se convierte nuevamente en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> por una CA citosólica, evitando la fuga de CO<sub>2</sub>. El carbono inorgánico disuelto se suministra entonces a la Rubisco para la reducción de sitios de calcificación. La calcificación requiere también de calcio del agua de mar circundante y una exportación de protones resultado del proceso mismo (Modificado de Fournier, 2013).

En los arrecifes de coral esta asociación los hace altamente productivos pues estos soportan densas poblaciones de organismos marinos ya que contienen un cuarto de la biodiversidad mundial marina (Reaka-Kudla et al, 1997; Furla et al, 2005).

Los arrecifes de coral proporcionan un hábitat para aproximadamente un 25% de especies marinas. Además estos ecosistemas proveen beneficios económicos a través del turismo y pesca. Sin embargo, las actividades humanas, incluyendo el desarrollo de las zonas costeras, la pesca excesiva y la contaminación han contribuido a una pérdida global de más del 10 por ciento de estos valiosos ecosistemas (Buddemeier et al, 2004).

Los sistemas arrecifales están formados principalmente por corales escleractinios, y otros actinarios como las anémonas que son típicamente oligotróficos. Aunque la luz solar determina el crecimiento de los corales, esta puede ser perjudicial pues altera la relación endosimbiótica tanto en los corales como en las anémonas, un claro ejemplo es el fenómeno de blanqueamiento que consiste en la decoloración del tejido coralino debido a la pérdida del alga fotosintética (Riegl et al, 2009; Buddeimer et al, 2004) el cual se ha observado en los últimos años, asociado a una mayor intensidad de luz (Dunlap et al, 2000). Otros factores que afectan a los arrecifes de coral son: el incremento en las concentraciones de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) procedentes de la combustión de combustibles fósiles, ya que esto impulsara un cambio en la química de los océanos y el cambio climático en general (Buddemeier et al, 2004).

Debido a lo anterior y a que los arrecifes de coral se desarrollan en aguas tropicales relativamente transparentes a la RUV, y ya que no todos los organismos acuáticos poseen movilidad ni capacidad para elegir su posición en la columna de agua, como es el caso para los corales y anémonas, para estos organismos su única defensa consiste en desarrollar mecanismos de protección, los cuales resultan muy variados tras años y años de evolución (Buddemeier et al, 2004).

Los corales y anémonas tienen mecanismos que protegen la fotosíntesis y absorben la RUV dañina, pues la exposición a altos flujos de RUV puede inducir la formación de ERO como es el superóxido ( $\text{O}^{\bullet-}_2$ ), este anión es el primer radical producido durante el estrés oxidativo y es removido por la super oxido dismutasa (SOD) que constituye la primera línea de defensa; el oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ) y peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) son eliminados por las catalasas y peroxidases. Otras enzimas antioxidantes son la

glutación peroxidasa (GPx), la glutación-s-transferasa (GST). Las ERO pueden alterar la síntesis de proteínas, dañar a las membranas celulares, y en particular el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induce la formación de un radical altamente reactivo el hidroxilo (•OH), el cual puede impulsar el daño oxidativo resultando en el blanqueamiento de los arrecifes de coral (Furla et al, 2005). Otros sistemas antioxidantes con los que cuentan son los pigmentos fotosintéticos como las clorofilas, los pigmentos carotenoides y los antioxidantes liposolubles como es el β-caroteno y el α-tocoferol (Dunlap et al, 2000).

Otro mecanismo de defensa que tienen los organismos marinos como los cnidarios contra la RUV es la biosíntesis y acumulación de moléculas que actúan como pantalla a esta. Entre estas sustancias se encuentran las ficobiliproteínas, los fenoles, las cumarinas y los aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) que son de derivados imino-carbonil de la ciclohexenona y tienen conjugado en el anillo sustituyentes nitrogenados, aminoácidos o amino-alcoholes. La biosíntesis de estas moléculas se presume ocurre mediante un intermediario de la ruta del ácido shikímico (Fig. 3), esto ha sido motivo de discusión ya que los animales carecen de esta ruta, sin embargo en los invertebrados y gracias a su relación endosimbiótica en donde hay intercambio de nutrientes esta puede ser posible (Singh et al, 2008).

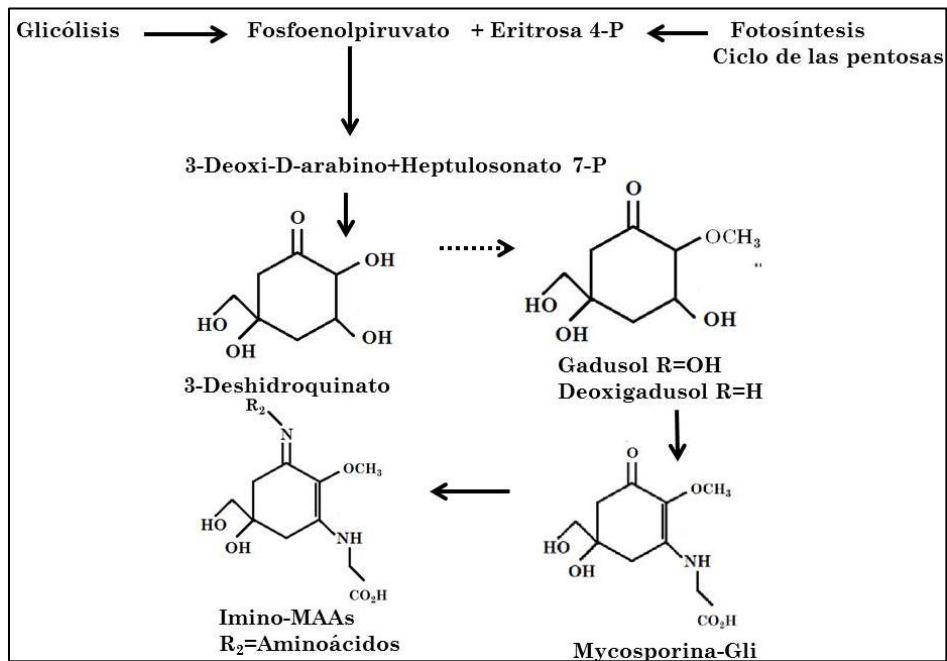


Fig.3 Posible ruta biosintética de las MAA a partir de un intermediario de la ruta del ácido shikímico. (Modificado de Korbee et al, 2006).

Las MAAs actúan protegiendo la relación simbiótica, los efectos sinérgicos entre la RUV y los organismos, además de las altas concentraciones de oxígeno. Tanto los efectos de las MAAs como su abundancia están en función de la cantidad de radiación recibida por el organismo así como de la disponibilidad de moléculas para su biosíntesis (Dunlap et al, 1998a).

Las MAAs fueron descubiertas en 1961 por Tsujino y Saito, quienes encontraron un compuesto al que le llamaron “sustancia 334” el cual absorbía la radiación UV en algas rojas. En 1965 fueron caracterizadas por primera vez en un hongo como metabolito asociado a la esporulación inducida por luz, pero no fue hasta 1976 que Favre-Bonvin; Korbee et al, 2006., describieron la estructura química de una micosporina y fue llamada micosporina-310, estos compuestos se han aislado de distintos organismos como algas, cianobacterias y otros organismos marinos. La glicina es el aminoácido más común presente en las MAAs; y estas se pueden encontrar intracelularmente y extracelularmente (Fig. 4).

La absorción máxima de las MAAs va desde los 310 nm a los 360 nm. Entre sus características fisicoquímicas figuran como anfólitos, su desnaturalización ocurre a alta temperatura y son solubles en agua, además poseen alta fotoestabilidad y baja emisión de fluorescencia lo que apoya a que tengan un papel como agentes pantalla o fotoprotectores. Las funciones que se han atribuido a las MAAs son muchas entre las que se encuentra la osmorregulación, un posible papel en la reproducción ya que en algunos invertebrados marinos se han encontrado en altas concentraciones en el periodo de desove (Bandaranayake et al, 1999; Korbee et al, 2006). Sin embargo el papel más importante y el más documentado es quizá como fotoprotector, ya que estos componentes son capaces de absorber longitudes de onda corta y de disipar la radiación absorbida sin producir ERO (Conde et al, 2000 citado en Singh et al, 2008).

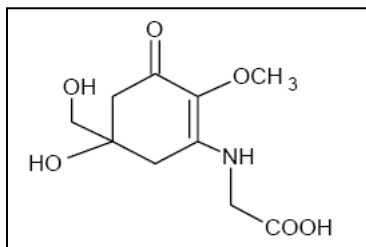


Fig. 4 Estructura química de la micosporina-glicina (MG).

Las MAAs han sido encontradas en diversos grupos taxonómicos de organismos marinos como en los Echinodermata, Chordata, Porifera, Mollusca, Arthropoda y Cnidaria. En estos se han descrito 23 MAAs entre las que se encuentran micosporina-glicina y asterina-330, shinorina, porfira-334, palitina, palitinol, paliteno, micosporina-aurina y micosporina-2-glicina, entre otras (Dunlap et al, 1995; Korbee, 2006). Cabe destacar que en la revisión de Dunlap et al, 1998a mencionan que la micosporina-glicina mostró una moderada actividad antioxidante sin embargo su rol principal es de la fotoprotección.

### 3. ANTECEDENTES DE FOTOQUIMIOPROTECTORES EN CNIDARIOS

Alphonse Kelecom en el 2002 realizó un estudio de los metabolitos secundarios en organismos marinos.

En 2002 Shick y cols., examinaron la incidencia de micosporinas en cuatro especies de anémonas del género *Anthopleura* siendo las más frecuentes shinorina, porfira-334, micosporina-aurina y micosporina-2-glicina.

En el 2004 Yakovleva y cols., estudiaron la importancia de micosporina-glicina en dos especies de corales escleractinios, demostrando que es un antioxidante biológico en el tejido del coral y en la zooxantela.

Korbee et al, 2006 realizaron una revisión sobre las MAAs reportando funciones, como osmoreguladoras, posible papel en procesos reproductivos, fotoprotección y antioxidante además la posible ruta de biosíntesis de estas, en diferentes organismos incluyendo invertebrados marinos.

Banaszak et al, 2006 realizaron un estudio sobre la distribución de MAAs en el caribe mexicano determinaron MG está presente en *Pseudodiploria clivosa*.

En 2009 Ahmad y colaboradores evaluaron la concentración de MAAs en seis especies de corales escleractinios de la costa oriental del Mar Rojo, evaluaron las concentraciones a distintas profundidades y la mayor concentración se encontró a los 5 metros de profundidad y la MAAs más abundante fue Porfira-334.

Cubillos et al, 2014 su estudio se basó en determinar por medio de diferentes tratamientos y en diferentes estaciones del año si la concentración de MAAs aumentaba en la anémona *Actinia tenebrosa*.

Shahbudin et al, 2011 realizaron un ensayo de capacidad aox del coral suave *Dendronephyta sp.* frente al radical DPPH•, no mostró resultados óptimos y le atribuyeron este resultado a la gran cantidad de sales y a que no hay métodos estandarizados para los cnidarios.

Ye Jin Lee, et al, 2015 determinaron la capacidad antioxidante, antimicrobiana y hemolítica de la anémona *Urticina crassicornis* obtenidos de distintas como

tentáculos, faringe, disco pedal, vísceras y moco de la anémona. Los autores encontraron que la actividad antioxidante solo se presentó en el extracto visceral a una concentración de 0,38-1,5 mg comparable a la del ácido ascórbico 1 mM. Estos datos los atribuyen a que los procedimientos utilizados no facilitaron la extracción de compuestos antioxidantes de la anémona.



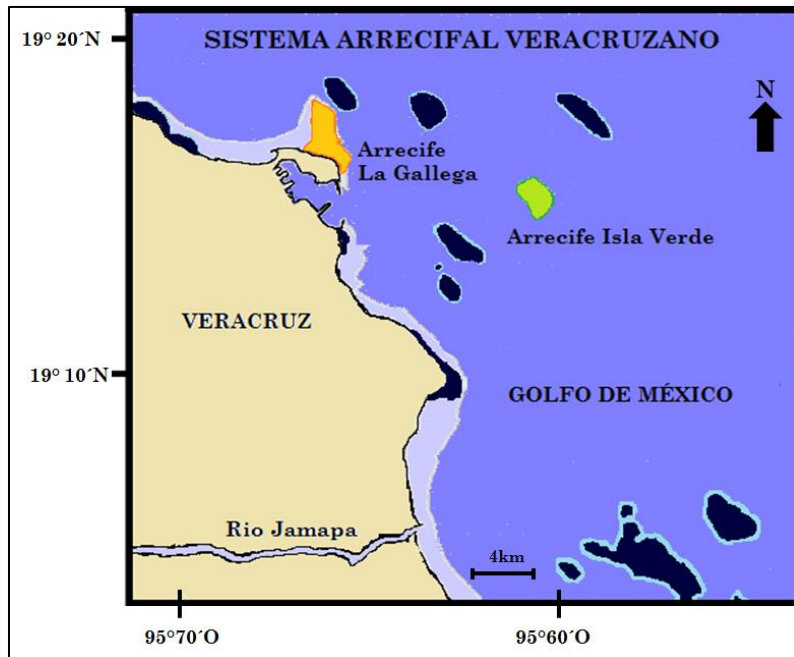
## 4. ÁREA DE LOCALIZACIÓN DE LOS ORGANISMOS DE ESTUDIO

### 4.1. Sistema arrecifal veracruzano (SAV)

El SAV es uno de los arrecifes mexicanos de mayor importancia ya que representa el sistema arrecifal más grande de la región centro del Golfo de México (GM), alberga la mayor diversidad de especies arrecifales del oeste del GM, es el hogar de varias especies protegidas muchas de las cuales son únicas en el mundo (Horta et al, 2009). Desde el punto de vista ecológico, genético y por su posición geográfica el SAV es un punto estratégico importante en las rutas de dispersión de especies bénticas arrecifales como son los corales escleractinios (Roberts, 1997, Jordán Dahlgren, 2004). Además el SAV provee servicios ambientales como son: provisión de alimento, servicios de protección a la costa frente a fenómenos naturales como huracanes (Reyna-González et al, 2014) y como regulador de ciclos biogeoquímicos produciendo oxígeno y captando dióxido de carbono a través de la fijación de calcio de los corales escleractinios (Ortiz, 2011). Cabe resaltar que a pesar de que el grado de perturbación en el SAV es considerable (Horta-Puga, 2007) ha prosperado exitosamente no obstante de desarrollarse en un ambiente de alta sedimentación su capacidad de crecimiento coralino no ha disminuido lo que evidencia una gran capacidad de resiliencia (Horta et al, 2005).

Debido a lo anterior se optó por elegir a dos arrecifes del SAV para colectar los organismos que se estudiaron en el presente trabajo.

El SAV (Fig. 5) tiene un origen postglacial (Carricart et al, 1993; Ramos 2003) y se encuentra desarrollado sobre fondo de material bioclástico a unos 35 m de profundidad (Emery 1963; Ramos 2003). Está formado por bajos, islas y arrecifes situados en la porción interna de la plataforma continental (Pemex, 1987; González 2003) y se localiza entre las coordenadas geográficas 19°03'00"-19°14'15" latitud norte y 95°47'36"-96°08'13" longitud oeste (Ramos 2003).



**Fig. 5 Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV).**  
(Modificado de Liddell et al, 2007).

El clima para esta zona está considerado como tipo A (W2'')(W)(i') escala de Köppen, caliente-húmedo con lluvias en verano y sequía intraestival con temperatura media anual mayor a los 18°C (Soto y García, 1989; Ramos 2003).

El SAV está conformado principalmente por corales escleractinios, entre los que destacan los géneros *Montrastea*, *Colpophylia*, *Siderastrea*, *Acropora* y *Pseudodiploria* entre otros, particularmente estos se han desarrollado en un ambiente de aguas turbias generado por la desembocadura del Río Jamapa (Horta et al, 2008). En cuanto a la anémofauna los géneros que destacan son *Stichodactyla*, *Aiptasia*, *Phymanthus*, *Zoanthus*, *Palythoa* y *Actinostella* entre otros (González, 2005).

El SAV Los arrecifes que componen el Sistema Arrecifal Veracruzano SAV se encuentran delimitados por los ríos La Antigua al Norte y Papaloapan al Sur (González, 2005). Cada arrecife difiere en complejidad topográfica, cantidad de  $\text{CaCO}_3$  depositada, riqueza de especies y cobertura viva (Gutiérrez et al, 1993a).

Debido a que la abundancia de corales y anémonas que existe en el SAV se estableció que las especies de estudio fueran *P. clivosa* y *A. flosculifera* pues estas se han desarrollado con éxito y ya que la abundancia de cada una de estas varía en cada

arrecife que forman el SAV, se determinó que el muestreo se llevara a cabo en dos arrecifes de la parte norte, arrecife Isla Verde para el coral *Pseudodiploria clivosa* (Ellis y Solander, 1786) y en La Gallega para el caso de las anémona *Actinostella flosculifera* (Le Sueur, 1817).

#### **4.1.1. Arrecife Isla Verde**

Se ubica geográficamente a los 19°11'50" latitud norte y 96°04'06" longitud oeste (señalado en verde Fig.5) (Carricart et al, 1993) es una formación coralina cuya plataforma arrecifal es de forma alargada en dirección NO-SE midiendo 1100m de largo y 750m de ancho, la profundidad media es de 0.8m y el sustrato está constituido por arena de origen coralino y restos de moluscos principalmente. Los corales más abundantes en la plataforma pertenecen al género *Pseudodiploria* y *Siderastrea* y en menor proporción *Porites* (Barba, 1998)

#### **4.1.2. Arrecife La Gallega**

Se localiza geográficamente en los 19°13'13" latitud Norte y 96°07'37" longitud Oeste (señalado en naranja Fig. 5). Por su origen es de tipo plataforma al igual que la mayoría de arrecifes formadores del SAV está formado por arena de origen coralino y restos de moluscos principalmente, tiene una profundidad de entre 35 y 40m (Carricart et al, 1993), actualmente corre a lo largo de la línea costera, a partir del rompeolas Norte que protege y limita la entrada al puerto (Vargas, et al, 1993; González 2003). Los órdenes de anémonas que se encuentran en este arrecife son: Zoantharia y Actinaria y están condicionadas a zonas cercanas a la cresta arrecifal (González 2003), debido a que la mayoría necesitan un sustrato duro para fijarse, sin embargo *A. flosculiera*, tiene su mayor abundancia en zonas arenosas y de *Thalassia* (Tello-Musi Com. Per.)

## 5. Descripción de especies

### 5.1. *Pseudodiploria clivosa* (Ellis y Solander, 1786)

Pertenece a la Clase Anthozoa, son generalmente coloniales y siempre provistos de un exoesqueleto calcáreo (Carricart, 1985) Uno de los géneros más abundantes dentro de los arrecifes del atlántico y en especial de Veracruz es el género *Pseudodiploria*, en este género se encuentran 2 especies que son: *P. clivosa* Ellis y Solander, 1786 y *P. Strigosa* (Dana, 1846) (Barba, 1998).

Posición sistemática de *P. clivosa* (Fig. 6) de acuerdo a Wells (1957) (Barba, 1998):

Filo: Cnidaria Hatscheck, 1888

Clase: Anthozoa Ehrenberg, 1834

Subclase: Hexacorallia Haeckel, 1896

Orden: Scleractinia Bourne, 1900

Familia: Mussidae Ortmann, 1890

Subfamilia: Faviinae Gregory, 1900

Género: *Pseudodiploria* Fukami, Budd & Knowlton, 2012

Especie: *P. clivosa* (Ellis y Solander, 1786)

Descripción: Está formado por colonias meandroides hemisféricas ligeramente convexas. Con valles discontinuos de 3.4 a 5.8 mm de ancho y de 2 a 4 mm de profundidad con más de 31 escleroseptos por cm, exertos, con dientes unicúspidos, completos, que presentan lóbulos paliformes y se unen a una columela trabecular que corre a lo largo de todos los valles, e incompletos arreglados alternadamente, (Goreau y Goreau, 1959; Barba, 1998). Viven desde la superficie hasta profundidades de 90 m, encontrando a la mayoría a no más de 50 m, y el crecimiento más exuberante a menos de 20 m de profundidad puesto que la luz es esencial para un crecimiento vigoroso para los corales formadores de arrecifes (Yedid, 1982).



Fig. 6. Ejemplar de *P. clivosa* en el arrecife Isla Verde.

## 5.2. *Actinostella flosculifera* (Le Sueur, 1817)

Son organismos sésiles, bentónicos, exclusivamente marinos, solitarios y/o coloniales y cosmopolitas que están presentes en todas las latitudes y hasta profundidades de 10000 m (Daly, et al, 2008; Salgado 2013).

La especie *Actinostella flosculifera* (Fig. 7) habita generalmente en la región intermareal, extendiendo su disco oral al nivel del fondo marino en aguas someras, permaneciendo con la columna completamente enterrada (González, 2005).

Posición sistemática de *A. flosculifera* (González, 2005)

Filo: Cnidaria Hatscheck, 1888

Clase: Anthozoa Ehrenberg, 1834

Subclase: Hexacorallia Claus, 1868

Orden: Actinaria Hertwing, 1882

Familia: Actiniidae Rafinesque, 1815

Género: *Actinostella* Duchassaing, 1850

Especie: *Actinostella flosculifera*, Le Suer, 1817

Descripción: presentan un disco oral de 14-45 mm de diámetro. Cerca de 48 tentáculos dispuestos en cuatro ciclos hexaméricamente cónicos, lisos, estrechos distalmente, moderadamente largos, los interiores superiores a los exteriores, contráctiles, blancos, semitransparentes con pequeños puntos circulares blancos dispersos. Columna de 20-65mm de largo y un diámetro de 15-30 mm, suave, pero con pequeñas filas de verrugas distalmente. Por encima de la verrugas se encuentra un collar marginal formado por 48 filas de pequeñas papilas fusionadas, color café o verde olivo. Disco pedal bien desarrollado, de 15-29 mm de diámetro. Disco pedal y columna beige semitransparente. Zooxantelas presentes. Cnidoma: basitricos, microbásicos *p*-mastigóforos y espirocistos (tomada de González et al, 2012)





Fig. 7 Ejemplar de *A. flosculifera* en el arrecife La Gallega

## 6. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años el interés en la búsqueda de nuevas moléculas con bioactividad se ha intensificado debido a diferentes padecimientos en el ser humano; en el ambiente marino, en particular en los arrecifes de coral sus características físicas y químicas, así como factores como son la competencia por el espacio entre organismos y las relaciones endosimbióticas que estos mantienen han desarrollado la capacidad para formar moléculas con características estructurales únicas (Jain et al, 2008; Rocha et al, 2011).

Y ya que la vida tuvo su origen en el agua con altos niveles de radiación UV-B los organismos que se desarrollaron en esos escenarios como son los corales y las anemonas resultan de gran interés para la obtención de moléculas con actividad antioxidante y fotoprotectora.

Debido al incremento de radiación UV los humanos también se ven afectados por el estrés oxidativo causado por las ERO esta acumulación de daño oxidativo es en gran parte responsable de la disminución general de la salud que experimentamos con la edad (Dunlap et al, 2002) y han sido asociadas a enfermedades neurodegenerativas humanas, como: arterioesclerosis, artritis, demencia, envejecimiento, cáncer, etc. es por ello que el uso de antioxidantes, se estudia de forma intensiva, en diversas áreas de la salud. Actualmente, la incidencia del cáncer de piel ha aumentado, la FMD informó que en México el cáncer de piel ocupa el segundo lugar de incidencia (FDM, 2014).

El cáncer de piel se puede prevenir ya al utilizar compuestos bloqueadores o filtros solares los cuales son capaces de absorber o reflejar la radiación UV-A y UV-B evitando así la interacción de esta con las células de la piel (Gutiérrez, 2003). Dado el incremento de casos de cáncer de piel en el mundo es importante aislar e identificar nuevos compuestos que puedan proteger de los daños causados por la RUV.

Es por esto que los océanos del mundo y su biota representan un recurso importante para el descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos.



## 7. PREGUNTA CIENTÍFICA

En México no se cuenta con la información suficiente sobre los compuestos que absorban la RUV en organismos marinos, sin embargo se han estudiado corales escleractinios y anémonas en otras regiones del mundo, por lo que la pregunta científica del presente trabajo es:

- ▶ **¿El coral *Pseudodiploria clivosa* y la anémona *Actinostella flosculifera* que forman parte del SAV presentarán componentes que absorban la radiación UV-B y que posean propiedades antioxidantes?**

## 8. HIPÓTESIS

Los cnidarios *Pseudodiploria clivosa* y *Actinostella flosculifera*, presentan simbiosis con Zooxantellas. Esto provoca que se expongan a la radiación solar para que el simbionte reciba luz visible y pueda fotosintetizar; entonces los cnidarios hospederos tienen que tener mecanismos de protección mediante compuestos que los protejan del posible daño causado por la exposición a la luz UV. Dichos compuestos podrían tener actividad antioxidante y fotoprotectora.

## 9. OBJETIVOS

### 9.1 General:

- Evaluar la presencia de compuestos fotoprotectores y antioxidantes en el extracto de coral *Pseudodiploria clivosa* y en la anémona *Actinostella flosculifera*.

### 9.2. Particulares:

- Preparar los extractos metanólicos de coral y de anémona.
- Obtener los espectros de absorción en la región UV de los extractos metanólicos de coral y anémona.
- Cuantificar el potencial antioxidante de los extractos.
- Determinar el efecto fotoprotector de los extractos mediante un modelo de muerte bacteriana.
- Separar e identificar hasta donde sea posible los componentes fotoprotectores y antioxidantes de los extractos.

## 10. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

La estrategia experimental se muestra en la figura 8, tanto al extracto metanólico de coral como al de anémona, para ambos, se les realizó un estudio espectroscópico mediante un barrido en la región UV-B del espectro electromagnético; posteriormente se les evaluó la capacidad antioxidante y la capacidad fotoprotectora.

Debido a los resultados obtenidos en las pruebas anteriores y al rendimiento de ambos extractos se determinó que sólo el extracto de anémona fuera fraccionado para separar e identificar los componentes del extracto.

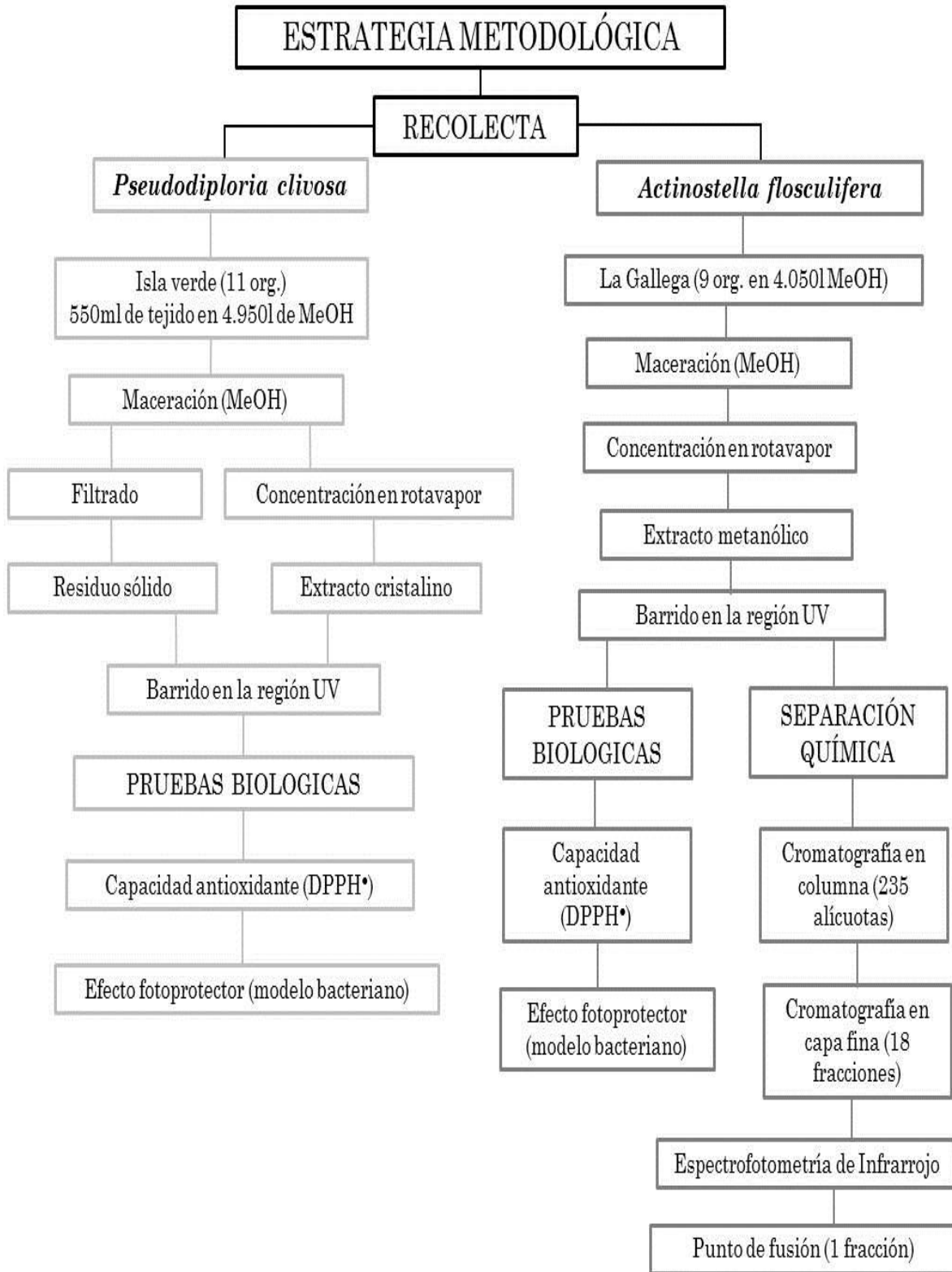


Fig. 8 Estrategia metodológica.

## 10.1 Recolecta

### 10.1.1. *P. clivosa*

Se recolectaron 11 organismos de la especie *P. clivosa*, mediante buceo libre, en el mes de abril de 2010, en el arrecife Isla Verde en la zona de sotavento, a los cuales se les extrajeron 50 ml de tejido a cada uno (Fig.9). El tejido se extrajo con jeringas y se maceró en 450 ml de metanol (MeOH), obteniendo un total de 550 ml de tejido en 4.950 L de MeOH para usarlo en los ensayos de laboratorio. Los organismos fueron identificados por el Dr. Guillermo Horta Puga.



Fig. 9 Extracción de tejido de *P. clivosa*.

### 10.1.2. *A. flosculifera*

En el caso de la anémona, la recolecta se realizó en el arrecife La Gallega, mediante buceo libre, en el mes de octubre de 2010. Los 9 organismos fueron extraídos de forma manual y se conservaron en 4.050 L de metanol hasta su uso en los ensayos. Los organismos fueron identificados por el Biol. José Luis Tello Musi.

## 10.2 Obtención de los extractos metanólicos de *P. clivosa* y *A. flosculifera*.

Después de que los organismos se sometieron a maceración a temperatura ambiente, se sometieron a filtración y se concentraron a presión reducida en un rotavapor Laborota 4000 hasta obtener los sólidos totales en gramos. Para el caso del coral se obtuvieron dos partes ya que al filtrarse se obtuvo un residuo sólido y posteriormente un extracto cristalino.

### 10.3. Obtención del espectro de absorción en la región UV de los extractos metanólicos de *P. clivosa* y *A. flosculifera*.

Para determinar la presencia de sustancias cromóforas a la RUV se realizó un barrido de 210 a 320 nm para el extracto de coral y de 200 a 400 nm para el extracto de anémona en un espectrofotómetro (UNICO 2800 UV/VIS) el cual mide la absorbancia de cada extracto. Sólo los extractos que presentaron máximos de absorción en la región UV-B fueron utilizados para los siguientes ensayos.

### 10.4. Determinación de la actividad antioxidante de *P. clivosa* y *A. flosculifera*.

La actividad antioxidante de los extractos fue medida mediante la capacidad de atrapar radicales libres usando el radical DPPH•, el método consiste en determinar el grado de decoloración de una solución metanólica de DPPH•, (Sigma D-9132) al 0.2%. El DPPH como atrapador de radicales libres tiene una absorbancia máxima a los 517 nm, al ser reducido por un antioxidante pierde la coloración (Fig.10).

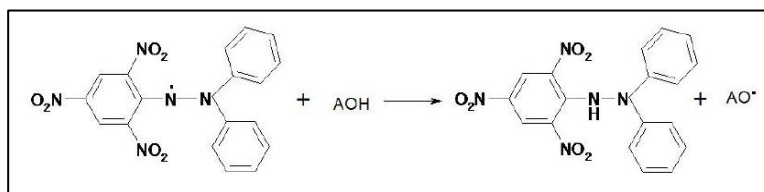


Fig. 10. Reducción del radical difenil-picril-hidracilo (DPPH•).

La CA<sub>50</sub> significa la cantidad necesaria para reducir en un 50% al radical DPPH•, los valores bajos de CA<sub>50</sub> indican un mayor potencial antioxidante. Para evaluar la CA<sub>50</sub> de los extractos se obtuvo el porcentaje de decoloración del DPPH•, de cada extracto a diferentes concentraciones de 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 y 640 ppm. El porcentaje de decoloración se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación (Joyeux et al., 1995; Mathiesen et al., 1995):

$$\% \text{ de decoloración} = \left( A - \frac{A_1}{A} \right) \cdot 100$$

Dónde: A es la absorbancia del control y A<sub>1</sub> es la absorbancia de la muestra.

Las sustancias de referencia que se usaron son butil-hidroxi-anisol (BHA) y  $\alpha$ -tocoferol en las mismas concentraciones, con los datos utilizados de forma rutinaria en el

laboratorio. Como blanco se utilizará metanol. Se realizaron 4 repeticiones de cada concentración para cada extracción del coral y 8 repeticiones de cada concentración para la anémona. Posteriormente se realizó un ANOVA simple para determinar las diferencias significativas en la CA<sub>50</sub> de cada extracto, seguido de una prueba de Tukey (García 2010).

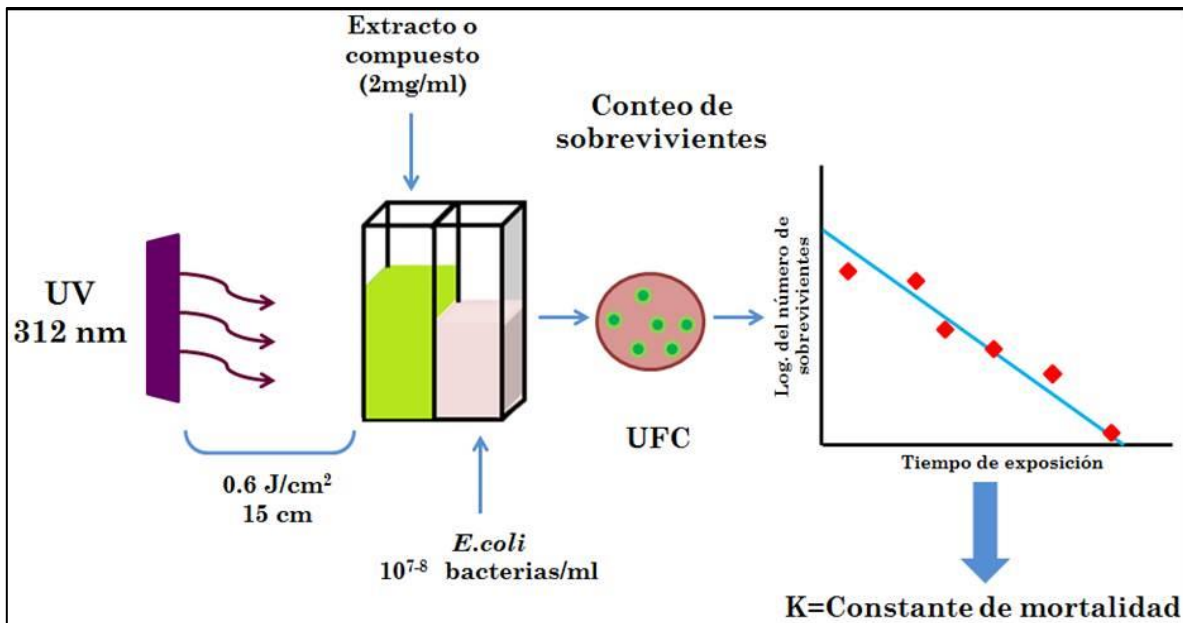
### **10.5. Evaluación del efecto fotoprotector de los extractos metanólicos de *P. clivosa* y *A. flosculifera*.**

Para evaluar la actividad fotoprotectora del extracto metanólico de coral se utilizó el modelo de muerte celular de bacterias inducido por radiación UV, propuesto por Avila et al, 2005. El modelo consiste en que las suspensiones de bacterias se exponen a la RUV con y sin protección, para determinar la constante de mortalidad (K) a partir de curvas de sobrevivencia.

La bacteria *Escherichia coli* (ATCC 25922) fue sembrada en caldo Mueller-Hinton durante 12 horas a 37°C, cuando el crecimiento poblacional alcanzó una densidad óptica (550 nm) de 0.3, el inóculo se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos. La pastilla fue suspendida en 100 ml de PBS (pH 7.0) para obtener un inóculo de aproximadamente 10<sup>7</sup> bacterias/ml de acuerdo a la escala de Mc Farland la cual consiste en una serie de patrones de turbidez previamente calibrados que contienen 1% de BaCl<sub>2</sub> + cantidades crecientes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1%. Por lo tanto, en cada tubo se origina un precipitado de BaSO<sub>4</sub>, esto da origen a la turbidez. Consecuentemente hay una equivalencia entre la turbidez de cada tubo y la concentración de bacterias que genera una turbidez similar ([http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/14\\_micro.htm](http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/14_micro.htm)). Finalmente, esta suspensión bacteriana se colocó en cubetas de cuarzo estériles (pye Unicam B538751 A de 1.0 mm de espesor) para posteriormente ser irradiadas con y sin protección.

Las sustancias a evaluar (extractos metanólicos de coral y anémona así como el control negativo) se colocaron en las cubetas de cuarzo a una concentración de 2.0 mg/ml, usando el MeOH para disolver cada extracto. Como control negativo se utilizó el solvente empleado para diluir cada una de las muestras a evaluar.

Las unidades experimentales se formaron por la unión una cubeta con la sustancia a evaluar y otra con las bacterias. Cada unidad experimental se colocó a 15 cm de una lámpara de luz UV-B (312 nm Spectroline EB-280C), (Fig.11) y fueron irradiadas a diferentes tiempos. La dosis de irradiación fue de  $0.60 \text{ Joule/cm}^2$  (medido con un radiómetro Spectroline DM-300HA) con intensidad de campo de  $130 \text{ Watt/m}^2$ .



**Fig. 11. Modelo de muerte celular inducido por radiación UV.**  
 Modelo propuesto por Avila et al, 2005 (Modificado de García, 2010).

En cada tiempo de exposición a la radiación se tomaron muestras de  $100 \mu\text{l}$  de cada una de las unidades experimentales con y sin protección, posteriormente se realizó el conteo de microorganismos sobrevivientes mediante la técnica de UFC (Camacho et al., 2009). En las muestras sin protección (cubetas únicamente con solventes), el primer tiempo de irradiación fue de 30 segundos y posteriormente se aumentó el tiempo de exposición cada 30 segundos hasta los 5 minutos. A los 10 minutos se tomó una última muestra. Para los experimentos con protección (extractos), los tiempos de exposición fueron de 30 seg, 1 min, 5 min, 10 min, y solo en el experimento con extracto de anémona se adiciona un tiempo a los 15 min.

Los resultados fueron expresados graficando el logaritmo del número de sobrevivientes con relación al tiempo de irradiación (curvas de supervivencia). De acuerdo a la ecuación de la recta donde la pendiente es considerada la constante de mortalidad.



## 10.6. Fraccionamiento de los componentes del extracto metanólico de *A. flosculifera*

El extracto de *A. flosculifera* fue fraccionado mediante una cromatografía de columna abierta (cca), primero se realizaron cromatografías de capa fina (ccf), para determinar la polaridad del eluyente, el que presentó mayor separación fue de 95:5 acetato de etilo-metanol (AcEt-MeOH); posteriormente en una columna se colocó 1 g de extracto y se preadsorbio en celita y la columna se preparó con 40 g de gel sílice.

La columna se eluyó con mezclas de polaridad ascendente de AcEt-MeOH 95:5 hasta llegar a MeOH.

Las alícuotas obtenidas fueron 235 las cuales se destilaron a presión reducida y se analizaron por ccf, para agruparse de acuerdo a su similitud cromatográfica, se reunieron 20 fracciones, cabe mencionar que las dos primeras fracciones la A y B no se analizaron debido a que mostraron un patrón cromatográfico complejo es decir estaban impuros, para poder ser analizadas mediante la siguiente técnica (EIR), por lo que solo se utilizaron 18 fracciones de las cuales a algunas de ellas se les realizó un decantado debido a que sus características cambiaron antes de ser analizadas por EIR, en total se obtuvieron y analizaron 28 fracciones.

En la tabla 1 se resumen los sistemas de elución empleados y las fracciones resultantes, cabe aclarar que debido a que cambiaron algunas características físicas como presencia de precipitados, ceras o cristales en algunas fracciones se obtuvo un decantando y por lo que tanto a la fracción como a los sobrenadantes fueron analizadas posteriormente por espectrofotometría de infrarrojo IR. Debido al bajo rendimiento de cada fracción el peso no fue determinado.

Tabla 1. Fraccionamiento del extracto metanólico de *A. flosculifera*.

ELUYENTE	PROPORCIÓN	ALÍCUOTAS	CLAVE DE IDENTIFICACIÓN DE LA FRACCION	DECANTADO
AcEt-MeOH	95:5	1	A	
AcEt-MeOH	9:1	2-47	B	
AcEt-MeOH	85:15	48	C	
		49 y 50	D	
		51 Y 52	L	L-1
		53-118	E	E-1/ E-2 (KBr)
		79	79	
		93	93	93-1
		119-136	F	F-1
		137-148	G	G-1
		149-152	H	
AcEt-MeOH	8:2	153-159	I	I-1
		160 Y 161	J	
		162 Y 163	K	
		164-189	M	M-1
		185-192	N	N-1
AcEt-MeOH	7:3	193-205	O	
AcEt-MeOH	6:4	206-215	P	P-1
AcEt-MeOH	5:5	216-225	Q	
MeOH	100%	226-235	R	

### 10.6.1. Espectrofotometría de Infrarrojo

Todas las fracciones fueron analizadas por espectrofotometría de infrarrojo (EIR) en el equipo Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer Lambda 2S.

La espectrofotometría infrarroja es una técnica de análisis utilizada para identificar un compuesto y/o investigar la composición de una muestra. El espectro se divide en regiones según su aplicación: IR cercano que va desde las longitudes más altas del espectro visible, es decir alrededor de los 700 nm hasta los 1400 nm; IR medio que va desde los 1400- 3000 nm, este fue el utilizado en el presente estudio ya que en esta región del infrarrojo se registran vibraciones de tensión de moléculas orgánicas, pues estos presentan absorciones características y relativamente invariantes, y por último el IR que va de los 3000 a los 10000 nm.

La radiación infrarroja (RIR) provoca vibraciones moleculares. Una muestra en un espectrofotómetro IR y expuesta a longitudes de onda de RIR continuamente cambiantes absorberá luz cuando la radiación que incide corresponda al energía de una vibración molecular concreta, es decir cuando los átomos en una molécula vibran alrededor de sus posiciones de equilibrio, en otras palabras cuando las moléculas están en este estado absorben la radiación esta se registra y se obtiene un espectro infrarrojo (Pine et al, 1988).

Existen dos formas de analizar las muestras, la primera es una muestra líquida, que es prensadas entre dos planchas de sal de alta pureza, pues deben de ser transparentes a la luz infrarroja; y las muestras sólidas se preparan mezclando una cantidad de la muestra con una sal como es el bromuro de potasio, esta mezcla se tritura y se prensa con el fin de formar una pastilla por la pueda pasar la luz, el bromuro de potasio no absorbe la radiación infrarroja por lo tanto no interfiere en los resultados (Herzberg, 1945).

En la tabla 2 se muestran las condiciones para obtener los espectros de absorción de las fracciones en el espectro infrarrojo, como se observa las mayoría de las fracciones

se prepararon en forma líquida pero con diferentes solventes y solo las fracciones E-2, Q y R se prepararon en forma sólida.

**Tabla 2. Condiciones para obtener los espectros de absorción de las fracciones.**

Fracción	Eluyente
C, D, F, F-1, G, G-1, H, J, M, M-1, N, N-1, O, L-1, E, E-1	Acetona
I, I-1 K,	Acetato de etilo
P, P-1, L, 93, 93-1 Y 79.	Metanol
E-2, Q, R	Bromuro de potasio

### 10.7. Punto de fusión

El punto de fusión se determinó con un aparato Fisher-Johns. Este parámetro sólo se determinó en las muestras del extracto cristalino de coral para indagar si se trataba de sales orgánicas o inorgánicas; y a 1 fracciones obtenidas del fraccionamiento del extracto de anémona, pues estas cambiaron de forma física.

## 11. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 11.1. Rendimiento de los extractos de *P. clivosa* y *A. flosculifera*.

De los 11 corales colectados de la especie *P. clivosa* a los que les fueron extraídos 450 ml de tejido, se obtuvo un rendimiento total del 5.8 % en peso húmedo. Se obtuvieron 26.2718 g en peso seco, al momento de filtrar y macerar se obtuvieron dos partes: 1° un residuo sólido que fue de 0.3485 g y 2° un extracto cristalino de 25.9233 g.

El extracto cristalino del cual se obtuvo el mayor rendimiento no mostró actividad ni antioxidante ni fotoprotectora, en éste se formaron sales orgánicas por lo que no se descarta que haya compuestos con bioactividad. Mientras que el residuo sólido sí mostró actividad favorable para este estudio, sin embargo su rendimiento fue insuficiente para poder realizar más pruebas a distintas concentraciones y para poder fraccionarlo para así conocer sus compuestos con mayor certeza.

Para el caso de *A. flosculifera* de los 9 organismos colectados con un peso promedio de 4 g, se obtuvo un rendimiento total del 3 %. Se obtuvieron 1.0859 g de sólidos totales.

El rendimiento de los extractos de organismos marinos es muy bajo debido al contenido de agua y sales que estos presentan esto es una limitante para el análisis de nuevos compuestos bioactivos (Shahbudin et al, 2011), además de que no se cuenta con técnicas estandarizadas para la extracción metanólica en cnidarios es por esto que muchos estudios se quedan en la etapa de descubrimiento dificultando la creación de nuevas drogas (Patiño, 2013). Debido a lo anterior no se puede comparar con las extracciones de material vegetal pues por ejemplo en el caso reportado para *Yucca periculosa* Baker que de 1 kg de peridermis se obtuvo un rendimiento 241 g sólo de la extracción metanólica (García, 2010), el cual es muy superior al rendimiento de los extractos de coral y anémona.

En diversos estudios de productos naturales de origen marino se han buscado metabolitos secundarios que pertenecen a la vía del mevalonato encargada de sintetizar terpenos principalmente. No obstante los compuestos derivados nitrogenados y del acetato se encuentran dentro de las principales clases de

metabolitos secundarios con los que cuentan estos organismos marinos como son los cnidarios (Kelecom, 2002).

El presente estudio se enfoca en la búsqueda de moléculas con propiedades antioxidantes y fotoprotectoras como son las MAAs que pertenecen al grupo de metabolitos nitrogenados que tienen las características de ser polares (Wada, 2015).

En organismos como son los cnidarios se encuentran un gran gama de metabolitos secundarios entre los cuales se encuentran terpenos, saponinas, esteroides, fenoles, alcaloides entre otros, los cuales han despertado el interés de científicos para determinar un perfil farmacológico ya que se han demostrado su efectividad en tratamientos anticancerígenos, antiinflamatorios, antitumorales, etc. Con estructuras orgánicas diferentes a los fármacos conocidos y con distinto mecanismo de acción. (Hernández & Hernández, 2005; Ordaz et al, 2009)

## 11.2. Espectro de absorción en la región UV-B de los extractos metanólicos de *P. clivosa* y *A. flosculifera*.

### 11.2.1. *P. clivosa*

En la región UV-B que va de los 280-320nm del residuo sólido del extracto de coral se obtuvo un máximo de absorción de 0.7 a 280 nm de longitud de onda, mientras que el extracto cristalino a la misma longitud de onda presentó un máximo de absorbancia de 0.9 (Fig. 13); a partir de ahí hasta los 320 nm la absorción fue disminuyendo hasta llegar a una absorbancia de 0.3 a los 320 nm.

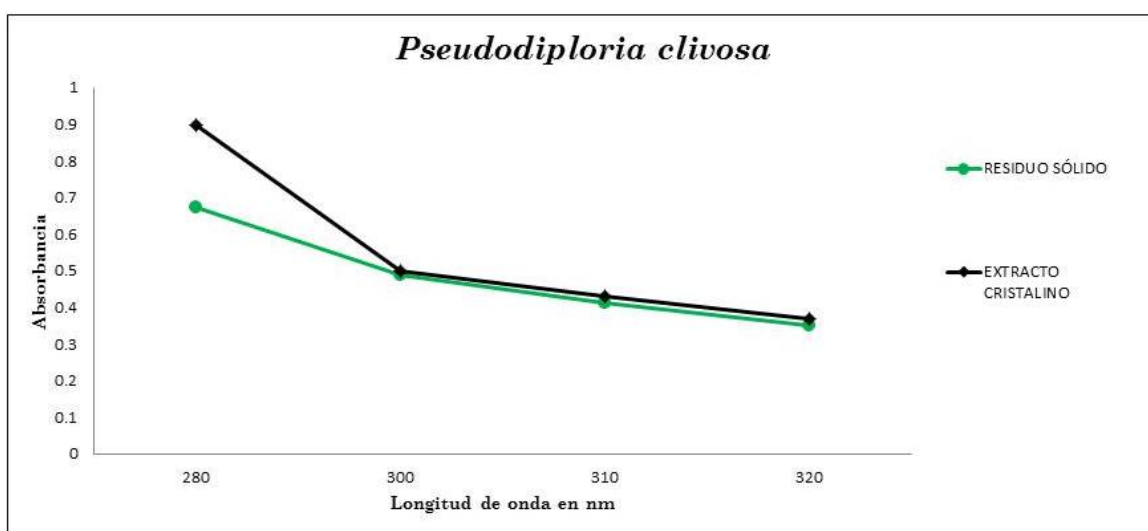


Fig. 12 Espectro de absorción de *P. clivosa* en la región UV-B.

Sin embargo, el barrido en el espectro electromagnético se inició a los 210 nm y a los 220 nm para el residuo sólido y el extracto cristalino respectivamente y se obtuvieron máximos de absorción que corresponde a la región UV-C, los resultados de la medición de absorción del espectro electromagnético en toda la región en la que se realizó el barrido fue desde los 210 nm a 320 nm se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 3. Máximos de absorción del extracto metanólico de *P. clivosa*.

$\lambda$ nm	Absorbancia	
	1 <sup>a</sup> extracción (pigmento)	2 <sup>a</sup> extracción (sales)
210	2.7	*
220	*	3.7
280	0.7	0.9
300	0.5	0.5
310	0.4	0.4
320	0.3	0.3

\*datos no obtenidos

Lo anterior nos indica que las dos particiones obtenidas del extracto metanólico si presentaron al menos un pico de absorbancia en la región UV-B, por lo que podemos deducir que están presentes distintos compuestos los cuales al mostrar absorbancia en esta región se encuentran moléculas con actividad fotoprotectora.

El residuo sólido y el extracto cristalino de coral mostraron máximos, por lo que no se descarta que se encuentren moléculas con bioactividad y en específico con actividad fotoprotectora. En cnidarios las moléculas fotoprotectoras son las MAAs, y se sabe que estas son producidas en el coral gracias a la relación simbiótica que mantienen con la zooxantellas (Fournier, 2013). Conjuntamente si consideramos que en el residuo sólido presentó una coloración verdosa se deduce que estaban presente una mayor cantidad de simbioses y estos niveles de absorbancia son semejantes a lo que reportado en Banaszak et al. 2006, quien obtuvo espectros de absorción de los organismos simbioses de distintas especies de coral.

También se ha reportado que en organismos como los corales existe una relación entre el clado del simbiote y MAAs, (Banaszak et al 2000; Barba 2004). Para *P. clivosa* se reporta que el clado predominante es el B (Banaszak, 2006).

En un estudio realizado por Banaszak et al, 2000 se determinó que el clado B no sintetiza MAAs en condiciones de cultivo sin embargo se desconoce si lo hace en el ambiente natural y aunque se ha reportado que los corales solo tienen un tipo de



simbionte perceptible (LaJeunesse 2002; Barba 2004). Debido a lo anterior, no se puede descartar que existan poblaciones de otros clados como el A el cual si sintetiza MAAs, pero colonias de este clado pueden ser no representativas y no detectables al hacer diversos análisis (Barba, 2004).

En resumen, se puede inferir que en el extracto de coral no había concentraciones altas de moléculas fotoprotectoras, sin embargo esto no se descarta la presencia de éstas y por lo antes mencionado estarían en bajas concentraciones.

Cabe aclarar que aunque el extracto cristalino sí mostró un pico máximo en la región UV-B, los resultados no fueron favorables en las siguientes pruebas por lo que no se exponen los resultados de los mismos.

### 11.2.2. *A. flosculifera*

El extracto metanólico de anémona presentó un pico máximo de absorción en la región UV-C a los 225 nm con una absorbancia de 3.6, 2 máximos de absorción en la región UV-B a los 280 y 320 nm con una absorbancia de 1.3 y 1.5 respectivamente. Mientras que en la región UV-A solo se presentaron dos máximos de absorción uno a los 330 nm y otro a los 345 nm con una absorbancia de 1.8 y 1 respectivamente (Fig. 13).

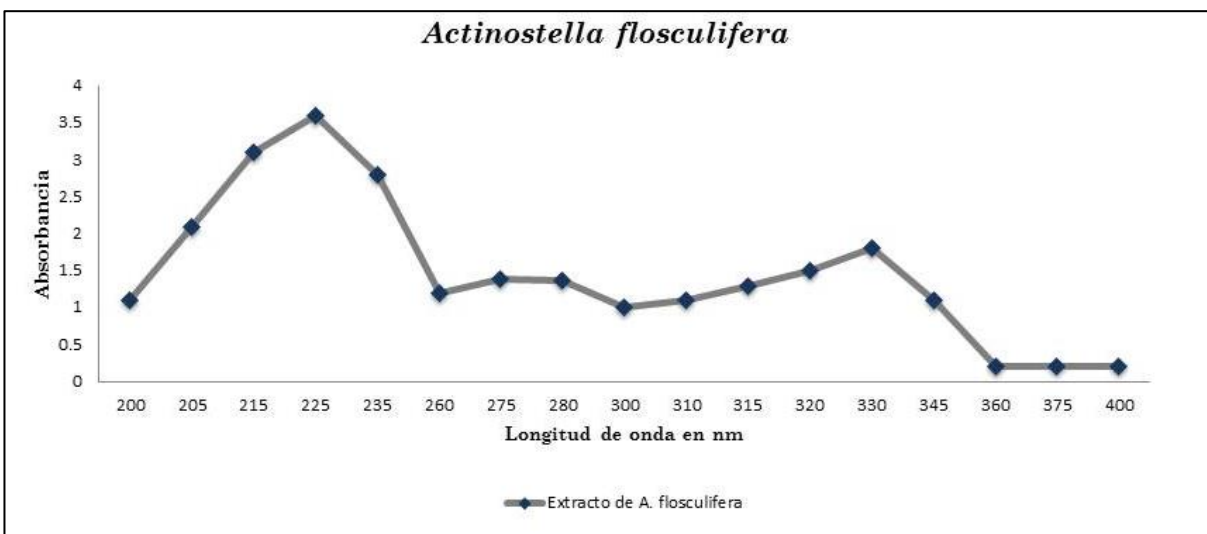


Fig. 13 Espectro de absorción en la región UV del extracto metanólico de *A. flosculifera*.

Como podemos observar en la gráfica el extracto de anémona presentó máximos de absorbancia mayores a 1 en toda la región UV. Esto nos indica que en este extracto se encuentran en mayor concentración con respecto al extracto de coral diversas moléculas con bioactividad. En el presente estudio nos enfocamos en buscar compuestos fotoprotectores y el extracto de anémona mostró al menos 2 máximos de absorción en la región UV-B, lo cual es un buen indicador de que se encuentran moléculas con actividad fotoprotectora.

Como ya se mencionó, en cnidarios las moléculas que reportan actividad fotoprotectora son las MAAs y sus espectros se caracterizan por mostrar  $\lambda$  máximas específicas que van de los 309 nm a los 362 nm (Karentz 1994, Carroll & Shick 1996); Korbee et al, 2006). El extracto de anémona mostró distintos máximos de absorción en este rango y aunque la espectrofotometría UV no es específica para cada compuesto podemos inferir que es posible que algunas MAAs estén presentes en el extracto de anémona.

El espectro de absorción del extracto metanólico de *A. flosculifera* fue el que mostró máximos de absorción en las 3 regiones del UV, incluyendo el rango en donde se encuentran  $\lambda$  max de las MAAs. Esto también puede deberse a que las anémonas no están protegidas por un exoesqueleto calcáreo como el coral *P. clivosa* que al ser un coral escleractinio no puede estar desprovisto de este; por lo tanto las anémonas al estar totalmente expuestas y enfrentarse a factores como el depredación y competencia por espacio y recursos deben de producir en mayor diversidad metabolitos que los protejan del medio (Ordáz et al, 2009).

Las anemonas son una fuente viable para la obtención de compuestos con potencial farmacológico por contener en su veneno, citolisinas, neurotoxinas, fosfolipasa, inhibidores de proteasas y bloqueadores de canales de sodio y potasio (Garateix, 2003). Además de sintetizar diversas especies de metabolitos secundarios (Kelecom 2003) por lo que hace posible que el extracto metanólico haya arrastrado diversas moléculas que absorben a diferentes longitudes de onda de entre los 200 a 400 nm.

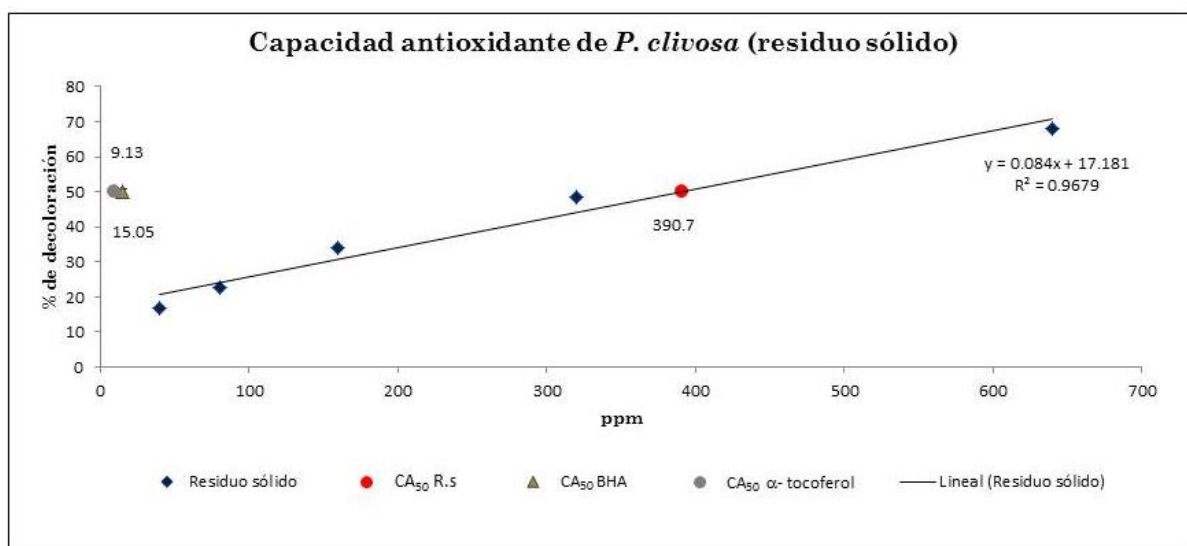
Por último, y no siendo menos importante, ambos extractos de las especies mostraron máximos de absorción en la región UV-C. En el caso del *P. clivosa* el residuo sólido a los 210 nm con una absorbancia de 2.79 y el extracto cristalino a los 220 nm con una

absorbancia de 3.7 (datos mostrados en la tabla x). Y en *A.flosculifera* a los 225 nm con una absorbancia de 3.6. Lo anterior se explica porque en cnidarios están reportados compuestos halogenados, los cuales absorben en la región UV-C; el cloro en lugar de bromo es el halógeno dominante (Kelecom 2002).

### 11.3. Evaluación de actividad antioxidante

#### 11.3.1. *P. clivosa*

La actividad antioxidante sólo se presentó en el residuo sólido de *P. clivosa* con un porcentaje de decoloración del radical DPPH• del 67.27 % a una concentración de 640 ppm del extracto (Fig. 14). La capacidad antioxidante media (CA<sub>50</sub> ppm) fue de 390.7 ± 38.92 ppm, mientras que la sustancia BHA (antioxidante de referencia) fue de 15.05 ± 0.8 ppm y α-tocoferol es de 9.13 ± 0.4 ppm, (García, 2010). Lo anterior nos indica que la capacidad antioxidante del residuo sólido es baja en comparación de los controles.



**Fig. 14. Capacidad antioxidante del residuo sólido de *P. clivosa* con un porcentaje de decoloración del 67.27% a los 640 ppm. En rojo la CA<sub>50</sub> del residuo sólido con valor de 390.7 ± 38.92 ppm**

Shahbudin et al 2001, realizaron un estudio de actividad antioxidante con el radical DPPH• en extracto crudo de un coral en este obtuvieron una CA<sub>50</sub> menor a 1000 µg ml<sup>-1</sup> a una concentración del DPPH• 2 µg ml<sup>-1</sup>. Los autores atribuyen que sus resultados

se deben a que los compuestos extraídos pueden ser lábiles, o las mismas condiciones de pH, luz, temperatura, aire, hayan afectado en cualquier parte de la extracción. Estos factores también pudieron haber influido en el presente estudio pues estas condiciones se encuentran en todos los ambientes, así como quizá sea necesario un mayor número de organismos para realizar los ensayos.

El efecto antioxidante observado en el extracto de *P. clivosa* fue bajo en comparación a los controles. De acuerdo a la literatura se puede atribuir a que en esta especie la única micosporina que aloja este organismos es micosporina-glicina (MG); esta es la única micosporina reportada con actividad antioxidante y actúa capturando radicales libres (Banaszak et al, 2006). Cabe destacar es que la absorbancia de la MG pura llega apenas al 0.8 de absorbancia a una concentración de 10 µl, a 310 nm (De la Coba, 2007) lo cual es importante para este estudio ya que de estar presente MG en el extracto de *P. clivosa* es semejante con la absorbancia que se obtuvo en este estudio. A pesar de lo mencionado pueden estar presentes otros compuestos antioxidantes, los cuales se encuentran en todas la células animales, y solos o en combinación con MG pudieron dar el efecto antioxidante.

Con respecto al presente estudio podemos concluir que la actividad antioxidante en los corales es muy variable esto puede deberse a que cada especie tiene diferentes mecanismos de protección antioxidante. Además no se cuenta con técnicas estandarizadas para la extracción de compuestos antioxidantes en cnidarios. Sin embargo no se descarta la presencia de estos pues tanto en la literatura citada y en el presente estudio en particular se observó un efecto antioxidante lo cual quiere decir que si existen compuestos antioxidantes pero no sabemos en qué cantidad se pudieran encontrar, ni cuáles son los responsables de la actividad antioxidante.

El extracto cristalino no mostró actividad antioxidante, pues no se observó decoloración en el ensayo, se propone que fue debido a que quizá los compuestos antioxidantes se encontraban en el residuo sólido. Otra razón es que se concentró una gran cantidad de sales en esta lo cual pudo interferir en el ensayo así como factores ambientales, lo que pudiera haber ocasionado que el ensayo fue inexacto (Shahbudin et al, 2011).

### 11.3.2. *A. flosculifera*

El extracto de anémona presentó un porcentaje de decoloración del 46.43% con una concentración de 640 ppm, con una  $CA_{50}$  de  $718.57 \pm 32.6$  ppm (Fig. 15) la cual se obtuvo extrapolando y al igual que en el caso de *P. clivosa*. Los controles utilizados fueron la sustancia BHA (antioxidante de referencia) fue de  $15.05 \pm 0.8$  ppm y  $\alpha$ -tocoferol es de  $9.13 \pm 0.4$  ppm, lo que nos indica que la capacidad antioxidante del extracto de anémonas es baja en comparación con los controles.

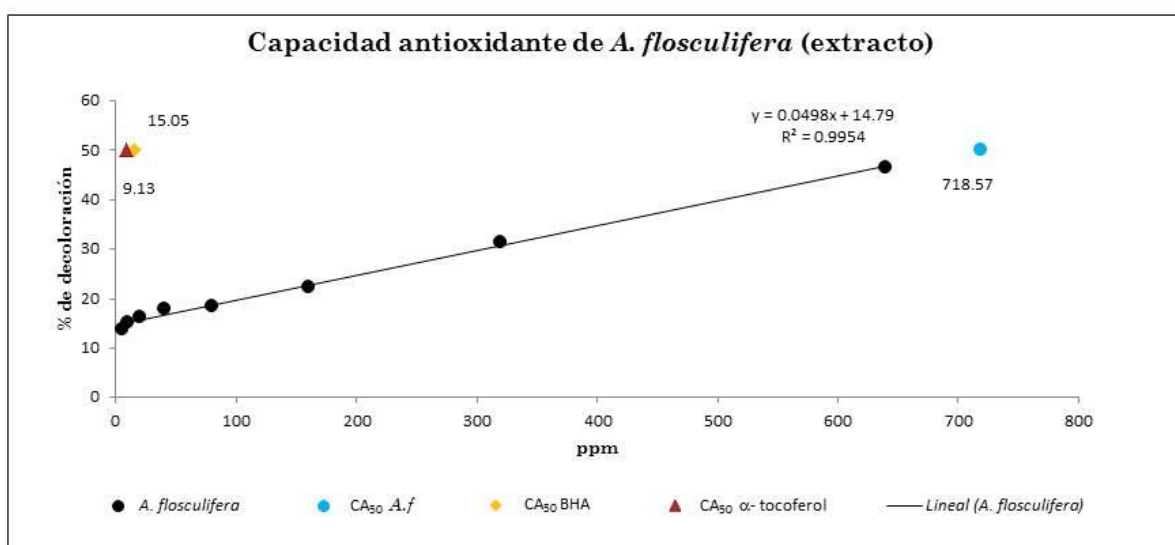


Fig. 15. Capacidad antioxidante del extracto metanólico de *A. flosculifera*. En azul la  $CA_{50}$  del extracto con valor de  $718.57 \pm 32.6$  ppm.

En el estudio de Ye Jin Lee et al, 2015 realizaron extractos de diferentes partes de una anémona y determinaron la capacidad antioxidante de estos mediante el método de DPPH a una concentración 0.2 mM, no obtuvieron resultados significativos de decoloración del radical DPPH en sus diferentes extractos los cuales sumergieron en agua precalentada y le añadieron ácido acético para posteriormente hervirlos y al final fueron homogenizados sobre hielo; ellos atribuyen los resultados a la técnica utilizada para su ensayo.

En el presente estudio la técnica de obtención de extracción fue distinta a la de Ye Jin Lee et al, 2015 sin embargo los resultados igualmente no fueron favorables pues a las 640 ppm de concentración del extracto apenas se alcanzó una decoloración del 46.43 %. Esta decoloración indica que si existen compuestos antioxidantes, pues las anémonas al igual que muchos organismos marinos que viven en relación simbiótica y ya que esta genera ambientes de hiperoxia, deben de contar con sistemas antioxidantes que les ayuden a moderar estas condiciones (Dykens et al, 1992). De igual forma que en los corales estarían otros tipos de antioxidantes (como pueden ser las MAAs reportadas para organismos marinos y como ya se mencionó solo la MG es la que aporta un efecto antioxidante).

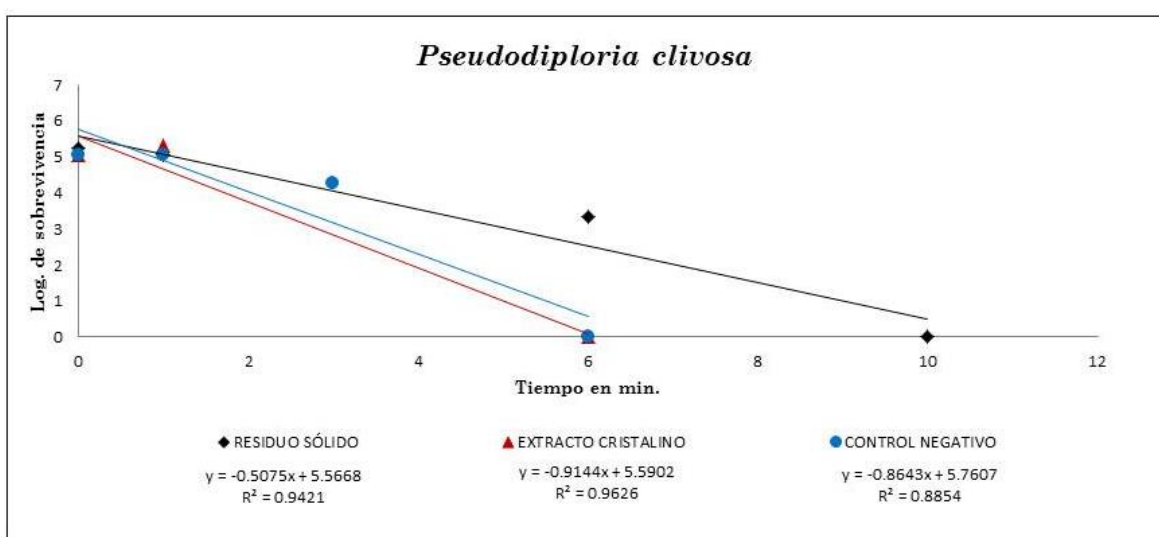
Cabe mencionar que en un estudio realizado por Banaszak, et al, 2006, reporta para el orden Actinaria la presencia de MG, Porfira y Shinorina. Sin embargo y por lo anterior al encontrarse otros tipos de micosporinas no sabemos en qué cantidad pudiera presentarse MG en el extracto metanólico de *A. flosculifera*, la cual le pudiera proporcionar un efecto antioxidante sin omitir que estén presentes otros mecanismos de protección frente al daño oxidativo.

Con este ensayo podemos concluir solo de forma cualitativa que si hay compuestos antioxidantes presentes en el extracto de *A. flosculifera*. Otras razones a las que se le puede atribuir los resultados son: al igual que en el extracto de coral pueden influir ser factores ambientales, el método de extracción, concentración de sales y la fragilidad de los componentes en organismos marinos.

## 11.4. Evaluación del efecto fotoprotector

### 11.4.1. *P. clivosa*

La capacidad fotoprotectora de ambas partes del extracto metanólico de coral y del control negativo que fue con metanol fueron evaluadas por el modelo bacteriano propuesto por Avila et al., 2005; García 2010. Los resultados se muestran en la figura 16.



**Fig. 16. Muerte celular inducida por RUV en *E. coli*:** experimentos con protección (residuo sólido y extracto cristalino de *P. clivosa*) y control negativo sin protección

El control negativo sin protección (metanol) presentó una  $K=-1.16$  mientras que el residuo sólido presentó una constante de mortalidad  $K=-0.08$ , mientras que del extracto cristalino se obtuvo una  $K=-0.06$ , esto nos indica que el residuo sólido sí presenta actividad fotoprotectora, ya que protege a las bacterias el doble de tiempo que el control, y el extracto cristalino sólo las protege al primer minuto. Esto puede explicarse debido a que en el extracto cristalino se encontraron una gran cantidad de sales orgánicas, lo cual se comprobó al determinar el punto de fusión que fue de  $260^{\circ}$  C, y las moléculas con capacidad fotoprotectora reportada en cnidarios; las MAAs,

estas en su estructura incluyen un aminoácido los cuales al tener grupos amino y ácido estos son susceptibles a la ionización, por lo que se pueden agrupar en forma de sales.

El ajuste de una curva exponencial a una recta indica que el efecto de la luz UV-B sobre la población de *E. coli* es de un solo impacto, ya que solo se presenta una recta con un valor único para la pendiente (K) (Davis y Dulbecco, 1996; García, 2010). La luz altera a un componente celular importante que compromete la sobrevivencia de las bacterias por lo que en los primeros minutos de exposición deja sin oportunidad a estos organismos de activar mecanismos que de reparación que permitan su viabilidad (García, 2010).

En organismos marinos se han identificado compuestos que absorben y que los protegen contra efectos dañinos provocados por altos flujos de RUV; en corales incluyen daño a ADN y proteínas, oxidación de lípidos de membrana e inhibición de fotosíntesis de algas. Estos compuestos son las MAAs los cuales tienen diferentes roles en corales como ya se ha mencionado están implicados en la fase reproductiva, osmoregulación etc., (Shick & Dunlap, 2002).

Los corales escleractinios se han adaptado a aguas poco profundas donde el nivel de radiación es alto. Se sabe que las MAAs están presentes en el tejido coralino para absorber luz UV la cual liberan como calor (Kuffner 2002; Ahmad, 2009). Estos compuesto son capaces de disipar eficazmente la radiación absorbida sin producir ROS (Conde et al, 2000; Singh et al, 2008). Esta propiedad podría estar relacionada con la capacidad de las MAAs de bloquear la formación de fotodímeros de timina y se ha propuesto un amortiguamiento del estado de excitación de las moléculas de timina mediante un proceso de transferencia energética directa de las MAAs relajándose posteriormente estas y disipando el calor (Misonou et al, 2003; Korbee et al, 2006).

Se han elaborado estudios en los cuales determinaron la cantidad de MAAs de acuerdo a ciertas estaciones del año (verano e invierno) (Ahmad, 2009), mientras que en otros estudios las han cuantificado batimétricamente, lo que se observa es que a mayor profundidad se encuentran en menor cantidad debido a que la exposición a la RUV va disminuyendo cuando la profundidad aumenta (Dunlap et al, 1986).



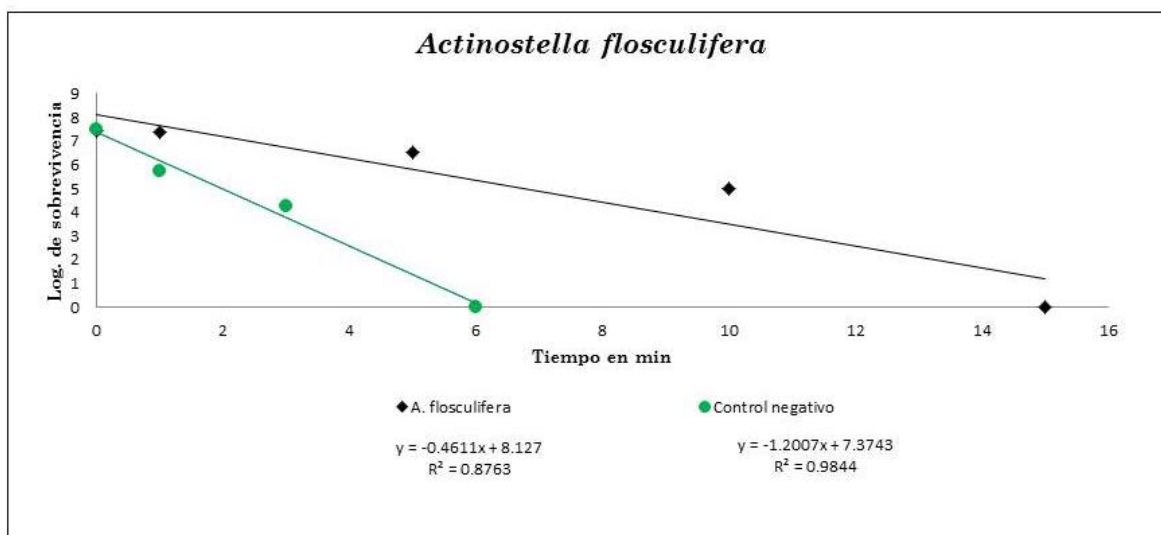
Todos los estudios en los cuales se han analizado diferentes variables como batimetría y concentración de MAAs según la época del año que han sido reportados, así como los resultados de este proyecto nos llevan a la conclusión de que sin duda los corales escleractinios sintetizan MAAs ya sea a través de su dieta, debido a la relación simbiótica que mantienen con la zooxantella y por obtención propia (Singh et al, 2008).

En el presente estudio los resultados obtenidos en el experimento de fotoprotección también se pueden explicar con lo que se ha reportado en diversas investigaciones ya que la época de colecta no fue realizada en el verano que es cuando se ha reportado un incremento de producción de MAAs, y ya que solo se extrajo el tejido de coral el rendimiento del residuo sólido fue de 0.3485 g, bajo en comparación con lo reportado en Ahmad que obtuvo un rendimiento de 8g de extracto utilizado para determinar cada una de sus variables. Mientras que en el presente estudio se obtuvo un rendimiento total de 26.27 g de lo cual 25.92 g pertenecen al extracto cristalino el cual no mostró actividad fotoprotectora. Por lo anterior, se deduce que se necesita hacer una purificación de esta extracción pues como se mencionó la los aminoácidos de las MAAs pudieran haberse agrupado en forma de sal, así como utilizar una mayor cantidad de organismos para obtener en mayor proporción del residuo sólido la cual si mostró actividad fotoprotectora ante las bacterias, y también para poder realizar el ensayo a diferentes concentraciones.

Cabe resaltar como ya menciono en el apartado de resultados de actividad antioxidante, en 2006 Banaszak et al, reportaron que la única micospolina presente en *P. clivosa* es MG, la cual tiene un rol sobresaliente como antioxidante más que como compuesto fotoprotector, esto no quiere decir que no lo tenga, sin embargo se conoce que también actúa como antioxidante (Korbee, et al 2006). Esto también respalda los resultados del experimento de fotoprotección pues si los responsables de este efecto fueron las MAAs solo se encontraría según lo reportado MG.

### 11.4.2. *A. flosculifera*

El extracto de anémona presentó una  $K=-0.46$  (Fig. 17) lo que nos indica que si tiene actividad fotoprotectora ya que protegen a las bacterias de la muerte celular inducida por la RUV casi el triple de tiempo que el control negativo el cual presentó una  $K=-1.16$ .



**Fig. 17. Muerte celular inducida por RUV en *E. coli*:** experimento con protección (extracto metanólico de *A. flosculifera*) y sin protección control negativo (metanol).

Las moléculas que actúan como filtros solares en cnidarios son las MAAs, tanto en anémonas como en corales y tienen la misma función pues se considera que desempeñan un papel importante en la protección de anémonas de mar a partir de daños inducidos por UV-B. Al igual que en el coral se han elaborado ensayos en diferentes estaciones del año (verano- invierno) lo se comprueba que las MAAs son sintetizadas en mayor cantidad en la época de verano pues estos organismos las utilizan como defensa a altas radiaciones UV. También se han documentado niveles elevados de MAAs en especies marinas en organismos que viven en entornos intermareales y submareales, con concentraciones que disminuyen con el aumento de la profundidad del agua (Cubillos et al, 2014).

Ya que el extracto de *A. flosculifera* mostró que a los 10 minutos de ser irradiadas las bacterias aun había sobrevivientes se concluye que si hay compuestos fotoprotectores como las MAAs, aunque no se pudo elucidar en que cantidad están presentes.

Para *A. flosculifera* no se ha reportado que MAAs están se encuentran presentes en esta especie específicamente. Sin embargo en un estudio realizado en *Actinia tenebrosa*, especie relacionada a nivel de familia con nuestro ejemplar de estudio, indican que las MAAs encontradas son MG-2, porfira-334 y shinorina, de estas ninguna esta reportada con actividad antioxidante (Cubillos et al, 2014). Esto también se revalida con en el estudio realizado en el que de igual forma está relacionado con nuestra especie a nivel de familia, en los cuales se mencionan las mismas micosporinas presentes solo agregan una más encontrada que es micosporina-aurina (Banaszak, 1995). Por lo anterior se sugiere que algunas de estas micosporinas pueden estar presentes en el extracto y son las responsables de los resultados obtenidos en el presente estudio, pues son los encargados de la fotoprotección en cnidarios (Shick, et al 2002).

Por lo anterior y debido a que el rendimiento del extracto fue de 1.08 g, se procedió a realizar aislamiento de los componentes del extracto de *A. flosculifera*.

### **11.5. Espectrofotometría de Infrarrojo de las fracciones obtenidas del extracto de *A. flosculifera*.**

Las 28 fracciones obtenidas del fraccionamiento del extracto de coral se analizaron por espectrofotometría de infrarrojo (IR). Primero, se interpretaron de acuerdo las tablas de análisis reportadas por Shiriner et al, 2004, en las cuales se encontraron diferentes grupos funcionales característicos, como son el grupo alcohol (OH), ácido carboxílico (COOH), éter (R-O), amino(NH<sub>2</sub>)<sup>+</sup> e imino (RH=C). Los espectros de absorción en el IR de cada fracción se compararon con reporte publicados por Garvita et al, 2013, y Avital et al, 2006, en los cuales se identificaron y analizaron por FTIR a shinorina, porfira-334 y a una alícuota que presentó los mencionados grupos característicos de las MAAs. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

CLAVE DE IDENTIFICACIÓN	GRUPOS FUNCIONALES BÁSICOS PRESENTES EN LAS MAAs						OBSERVACIONES	
	OH	O-R	C=O	COOH, COO <sup>-</sup> , o C=C	NH <sub>2</sub>	RN=C	ARTICULOS	
	3200-3550 (b,s)	1085-1150 (s, 1125)	1690-1750 (s)	1710-1780 (s)	3300-3500(m)			
C	✓			✓				
D	✓			✓			[5], [45]	
L	✓	✓	✓	✓	✓	✓	[45]	
L-1		✓	✓	✓			[45] (100%)	*ac. graso
E	✓	✓	✓	✓			[45] (100%)	*ac. graso
E-1	✓			✓	✓	✓	[45]	
E-2 (KBr)	✓			✓			[45]	
79		✓	✓		✓		[45]	
93		✓	✓	✓	✓		[45]	
93-1			✓	✓	✓	✓	[5], [45] (100%)	*ac. graso
F			✓	✓	✓		[5], [45]	
F-1		✓			✓		[5], [45]	
G					✓		[5], [45]	
G-1	✓		✓	✓	✓		[5], [45]	
H		✓		✓	✓		[45]	
I	✓	✓	✓	✓	✓		[5], [45] (100%)	
I-1	✓		✓	✓	✓			
J	✓	✓	✓	✓	✓		[45] (100%)	
K		✓	✓	✓	✓		[5], [45] (100%)	
M	✓	✓	✓	✓			[5], [45]	
M-1	✓		✓	✓	✓		[5], [45] (100%)	
N	✓		✓	✓	✓		[5], [45] (100%)	
N-1			✓	✓	✓		[5], [45]	
O			✓	✓	✓		[5], [45] (100%)	
P		✓			✓		[45]	
P-1	✓		✓	✓	✓		[5], [45]	
Q (KBr)						✓	[5], [45]	
R (KBr)	✓						[5], [45]	

Tabla 4. Se muestran los grupos funcionales característicos de las MAAs que cada fracción presentó y en sombreado las fracciones que mostraron una mayor cantidad de estos grupos y los números en el apartado de observaciones corresponden a la coincidencia con lo reportado para las MAAs porfira y shinorina; mientras que donde se indica ácido graso es porque el espectro de infrarrojo muestra una forma semejante a la de estos compuestos.

De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla 4 se determinó que hay 7 fracciones que muestran los grupos amino y carboxilo. Esto es relevante ya que las MAAs en su estructura química tienen conjugado en su anillo sustituyentes nitrogenados (amino o imino), aminoácidos o sus aminos- alcoholes, (Fig. 18). los espectros se muestran y explican a continuación.

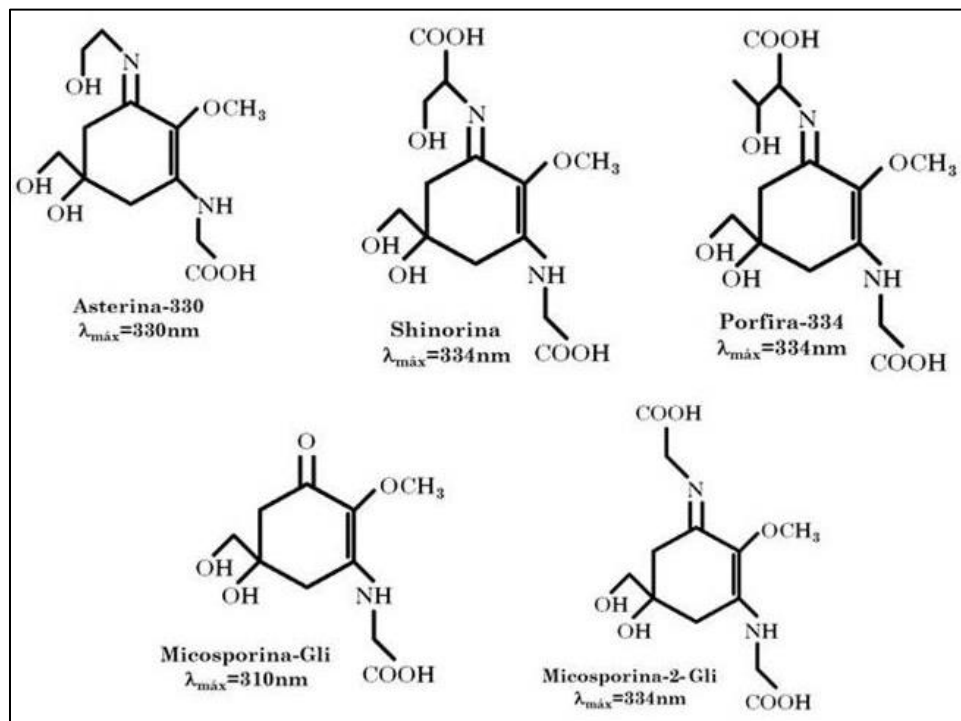


Fig. 18. Estructuras químicas y máximos de absorción de 5 MAAs identificadas en organismos acuáticos. (Modificado de Korbee et al, 2006).

Los espectros de infrarrojo que no fueron decisivos para este estudio por no tener presentes la mayoría de grupos funcionales característicos se muestran en un anexo.

Los espectros concluyentes para este estudio son los de las fracciones: L, E-1, 93, G-1, J, K, y N del extracto de anémona. A continuación se muestra la simbología (tabla 5) utilizada para su análisis así como la literatura con la que fue comparada.







COLOR	GRUPO FUNCIONAL
	Alcohol (OH)
	Éter (R-O-R')
	Ceto (C=O)
	Ác. Carboxílicos (COOH)
	Amina (NH <sub>2</sub> )
	Comprueban la presencia del grupo funcional correspondiente

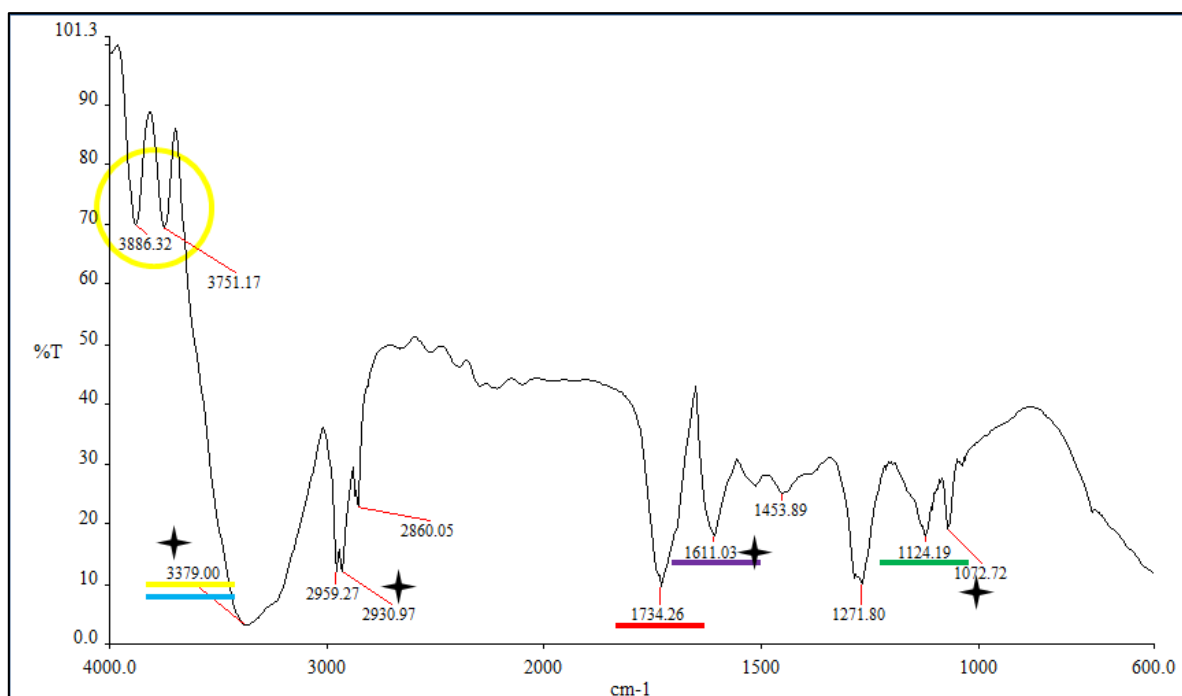
Tabla 5. Simbología utilizada en el presente estudio para la identificación de los grupos funcionales característicos de las MAA's en los espectros de infrarrojo.

✦ Las bandas señaladas con la estrella de 4 puntas, corresponden a lo reportado por Garvita et al, 2013. En este aislaron MAAs de un extracto de dos especies de *Anabaena* por HPLC en cual encontraron un pico desconocido a este pico le realizaron un análisis FTIR con el cual concluyeron que era una micosporina, ya que muestra los grupos funcionales característicos de estas, como son los grupos OH, NH<sub>2</sub><sup>+</sup> y grupos COOH.

◆ En este también le realizaron un análisis FTIR a una fracción purificada de Shinorine las bandas que coinciden se señalan con un diamante.

✦ Análisis FTIR de Porphyra-334 Micosporina aislada de extracto metanólico de *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA) por Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción L



**Espectro 1. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción L.**

201 Grupo alquilo- general

401 Compuesto hidroxil- grupo hidroxilo no ligado

4911 Compuesto carbonilo- clase 11 (Consulte el diagrama de estructura del PSU)

4916 Compuesto carbonilo- clase 16 (Consulte el diagrama de estructura del PSU)

4920 Compuesto carbonilo- posiblemente tipo amida

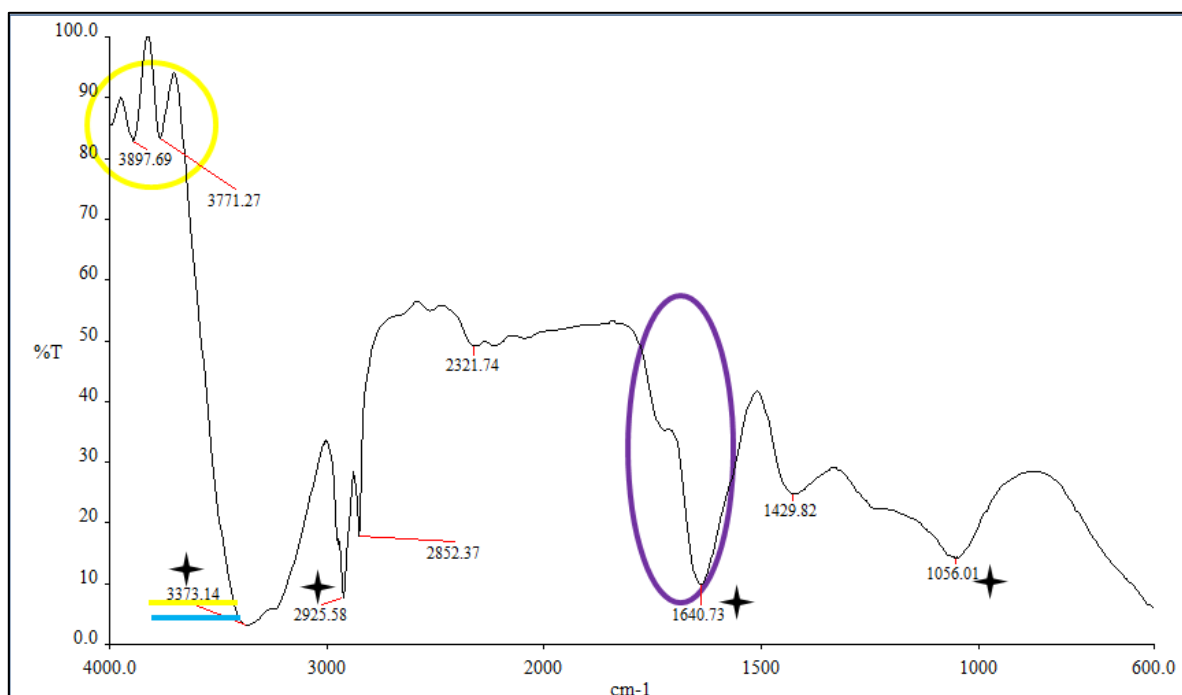
4924 Compuesto carbonilo- cetona o posiblemente compuesto amida.

El espectro de la fracción L muestra dos picos, ambos prácticamente con el mismo % de transmitancia el primero muestra una banda a 3886.32 y la siguiente a 3751.17; esto es una señal característica del grupo amino  $\text{NH}^+$  y ya que se observa un pequeño sobretono se infiere que se trata del grupo imino, otra señal a 3379 indica la presencia del grupo OH. Además se observan el grupo ceto con una banda a 1734.26, a 1611.03 del anión carboxilo y a 1124.19 la banda corresponde al grupo éter.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita *et al*, 2013; solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas.



### Espectro de la fracción E-1



**Espectro 2. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción E-1**

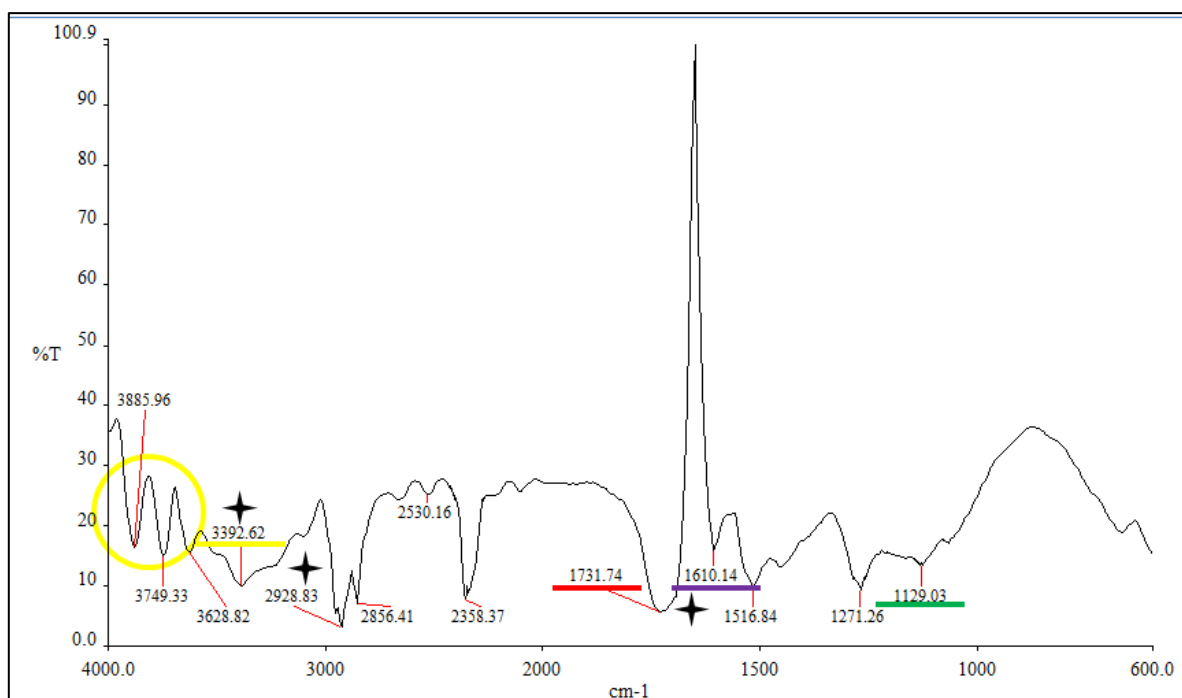
201 Grupo alquilo- general

4920 compuesto carbonilo- posiblemente tipo amida

En el espectro de la fracción E-1, se observan dos picos característicos de las aminas primarias con una banda a 3897.69 y otra a 3771.24 con casi el mismo % de transmitancia, la banda a 3373.14 comprueba la presencia del grupo imino. La zona circulada y con banda a los 1640.73 es también es una señal característica de que esta banda corresponde al grupo carboxilo.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita *et al*, 2013; solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas.

### Espectro de la fracción 93



**Espectro 3. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción 93.**

201 Grupo alquilo-general

401 Compuesto hidroxil- grupo hidroxilo no ligado

4911 Compuesto carbonilo- clase 11 (Consulte el diagrama de estructura del PSU)

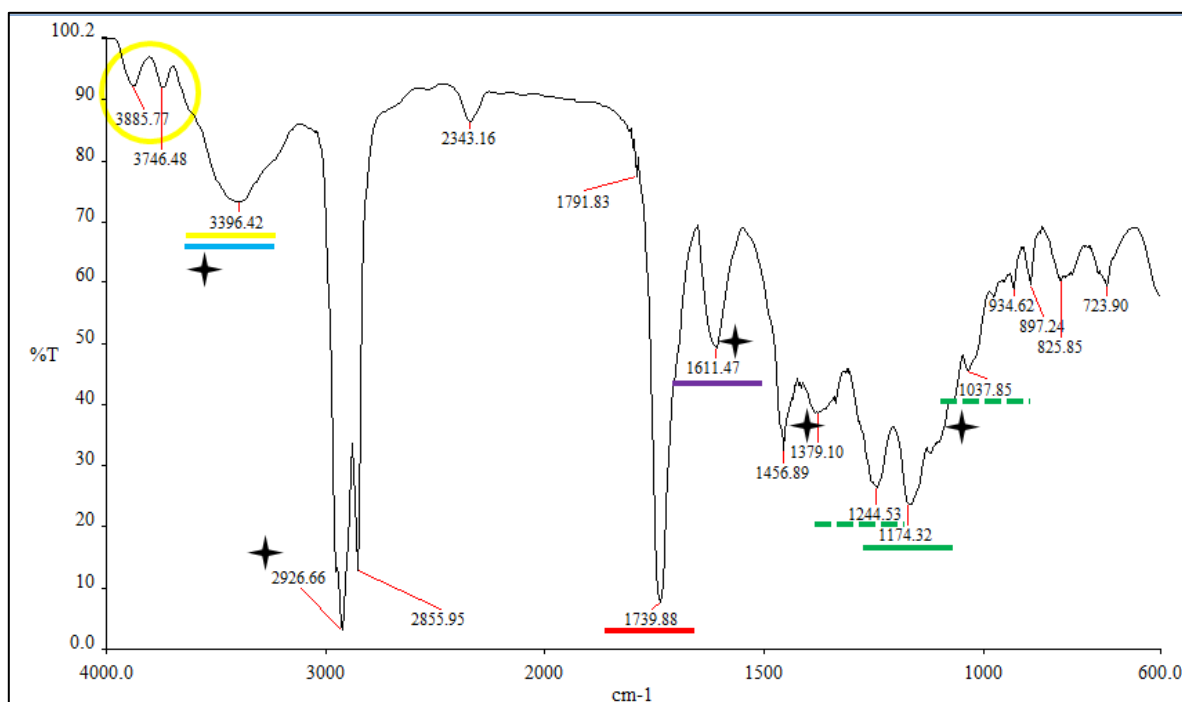
4924 Compuesto carbonilo- cetona o posiblemente compuesto amida

4942 Compuesto carbonilo. Cetona conjugada o amida terciaria

En el espectro de la fracción 93, se observan dos bandas con casi el mismo % de transmitancia una a 3885.96 y la otra a 3749.33 son características de la presencia del grupo amino mientras que la banda a 3392.62 comprueba la presencia de este grupo. También se observa a 1731.74 el grupo ceto, mientras que las bandas 1610.14 y 1129.03 indican el anión carboxilo y grupo éter respectivamente.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita *et al*, 2013; solo coinciden 3 de las 5 bandas reportadas.

## Espectro de la fracción J



## Espectro 4. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción J.

201 Grupo alquilo-general

204 Grupo alquilo- sustituyente de cadena larga

3504 Éster de ácido carboxílico- posiblemente arilo sustituido

3513 Éster de ácido carboxílico- general

4911 Compuesto carbonilo- Clase 11 (Consulte diagrama de estructura de PSU)

4915 Compuesto carbonilo- Clase 15 (Consulte diagrama de estructura de PSU)

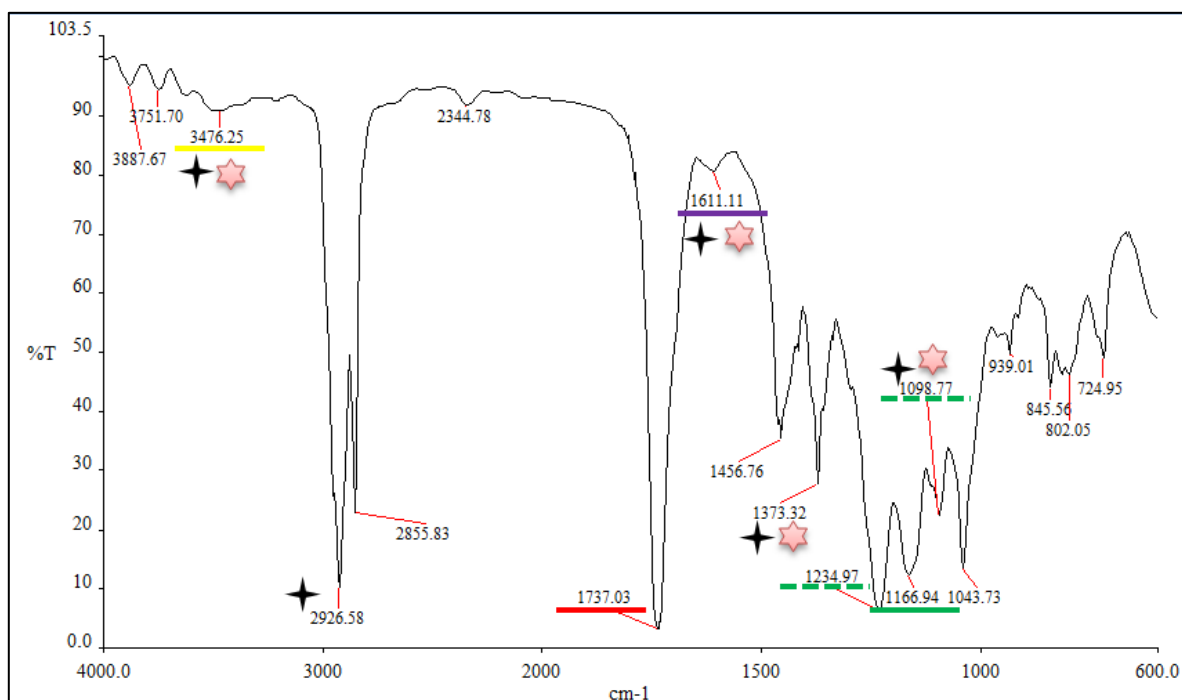
4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

4928 Compuesto carbonilo- Alifático con cadena larga

La zona circulada en el espectro de la fracción J indica la presencia del grupo amino y debido a su forma puede tratarse de un amina primaria; Las bandas a 1739.88 y a 1611.47 indica la presencia del grupo ceto y anión carboxilo respectivamente mientras que las bandas a 1174.32 así como las dos bandas punteadas a su alrededor en 1037.85 y 1244.53 indican la presencia del éter vinílico.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita *et al*, 2013.

### Espectro de la fracción K



#### Espectro 5. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción K.

201 Grupo alquilo- general

208 Grupo alquilo-sustituyente de metilo

1401 Éster de ácido carboxílico- posiblemente alifático

1407 Éster de ácido carboxílico- posiblemente acetato alifático

1413 Éster alifático- diéster o sustituyente de cadena larga

4905 Compuesto carbonilo- clase 5 (Consulte diagrama de estructura de PSU)

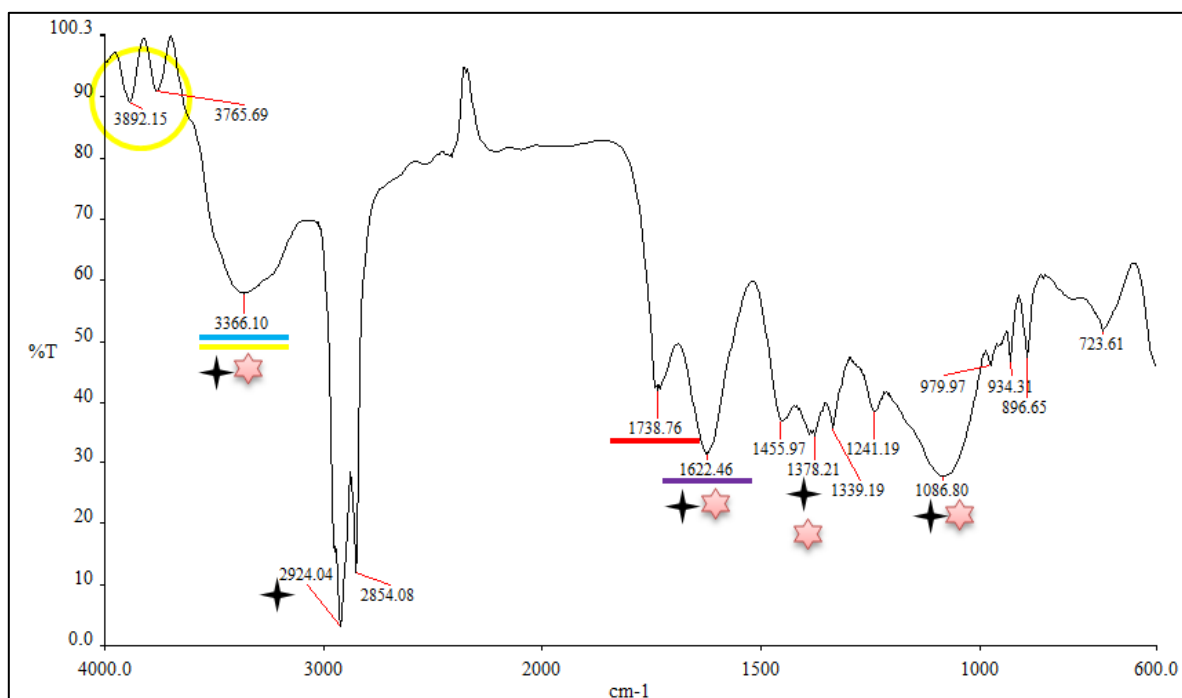
4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

En el espectro de la fracción K, la banda que se observa a 3476.25 corresponde al grupo amino y debido a sus características de tamaño y forma se puede indagar en que se trata de una amina secundaria. Las bandas 1737.03 y 1611.11 indican la presencia del grupo ceto y el anión carboxilo mientras que las bandas a 1166.94 así como las dos bandas punteadas a su alrededor una en 1043.73 y 1234.97 indican la presencia del éter vinílico.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita *et al*, 2013.

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital *et al*, 2006.

## Espectro de la fracción N



## Espectro 6. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción N.

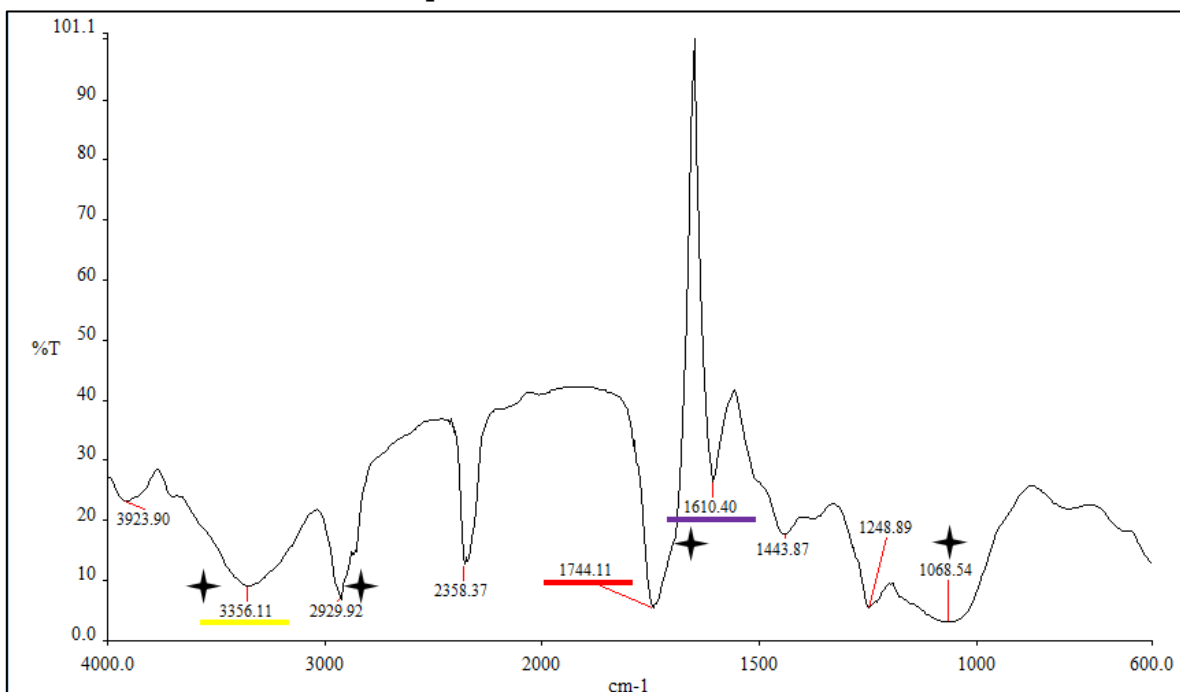
- 202 Grupo alquilo- general
- 205 Grupo alquilo- compuesto de cadena larga
- 401 Compuesto hidroxil- grupo hidroxilo no ligado
- 402 Compuesto hidroxil o amino- general
- 405 Amino o posiblemente compuesto hidroxil (Consulte diagrama de estructura PSU)
- 2915 Amina aromática- arilo sustituido guanidina o hidracina
- 4911 Compuesto carbonilo- clase 11 (Consulte diagrama de estructura PSU)
- 4913 Compuesto carbonilo- clase 13 (Consulte diagrama de estructura PSU)
- 4916 Compuesto carbonilo- clase 16 (Consulte diagrama de estructura PSU)

En el espectro de la fracción N, la zona circulada con bandas a 3892.15 y 3765.69 corresponden al grupo amino por su forma se puede inferir que es una amina primaria; mientras que la banda a 3366.10 comprueba la presencia del amino y del grupo OH. La banda a 1738.76 indica la presencia del grupo ceto y la de 1622.46 del anión carboxilo.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013; solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.

### Espectro de la fracción G-1



#### Espectro 7. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción G-1.

201 Grupo alquilo- general

4904 Compuesto carbonilo- Clase 4 (Consulte diagrama de estructura PSU)

49424911 Compuesto carbonilo- cetona conjugada o amida terciaria

En el espectro de la fracción G-1, se observa a 3356.11 que corresponde al grupo amino y otras dos a 1744.11 y 1610.40 indican los grupos ceto y anión carboxilo respectivamente.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013; solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas

Como se observa en los 7 espectros de las fracciones del extracto de anémona, estos muestran los desplazamientos propios de grupos funcionales característicos de las MAAs, en todos se encuentran presentes los grupos amino y carboxilo. Lo anterior comprueba que las moléculas que se encuentran en el extracto de *A. flosculifera* muy probablemente se traten de MAAs, ya que también hay señales del grupo alcohol y el éter en alguno de los casos éter vinílico, este se forma cuando está unido a una doble ligadura como se observa en las estructuras mostradas en la figura 17.

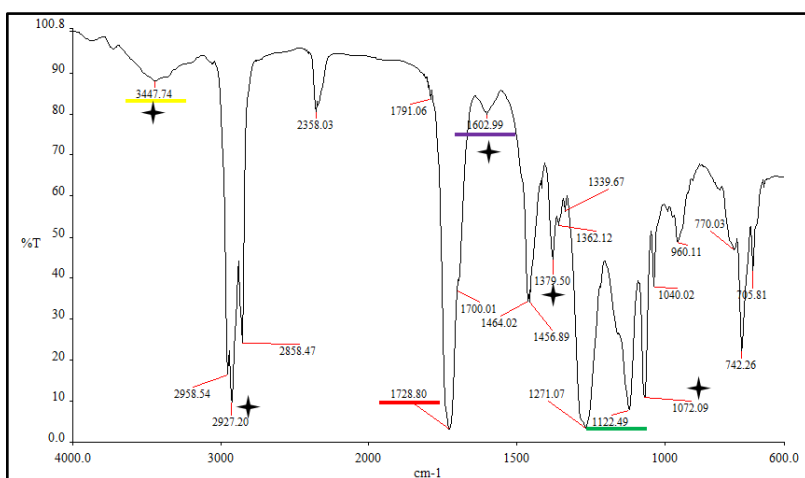
Debido a los resultados arrojados en la espectrofotometría de infrarrojo y a lo que se ha reportado se puede concluir que las micosporinas que se encuentran en el extracto metanólico de *A. flosculifera* son probablemente porfira-334 y shinorina-334 ambas absorben a 334 nm y los anterior se sustenta debido a lo siguiente.

- Los espectros de las fracciones I, J, K y la N coinciden prácticamente al 100% con las bandas reportadas para la micosporina shinorina en el estudio realizado por Garvita et al, 2013.
- También podemos determinar que algunas de estas mismas fracciones coinciden con lo reportado por Avital et al, 2006, el cual realizó un estudio de las características física y químicas de Porfira-334 en este se muestra una dato muy importante para nuestro estudio pues reporta que este compuesto absorbe a los 334 nm de la región UV-VIS. Esto comprueba que sí están presentes las MAAs en el extracto de *A. flosculifera*, en la medición de absorbancia UV mostró un pico a 330 nm con una absorbancia de 1.8, esto coincide con lo reportado para varios tipos de mycosporinas que absorben entre 330 y 334 nm entre estas se encuentran asterine-330, mycosporina-ácido glutámico-glicina, palythanol, mycosporina-2-glicina así como shinorina-334 y porfira-334 (Singh. et al, 2008 y en Avital et al, 2006).
- Por último, en estudios realizados en otras anémonas de la misma familia las micosporinas reportadas incluyen a porfira-334 y shinorina, micosporina-aurina y M-2-G, (Shick et al, 2002). De estas últimas dos no podemos concluir que están presentes en el extracto ya que no contamos con literatura que reporte su espectrofotometria de infrarrojo.

De acuerdo a los resultados encontrados en este estudio y a lo reportado para algunas micosporinas se puede explicar porqué el extracto de *A. flosculifera* protegió casi el triple de tiempo a las bacterias más que el control negativo, pues sí, se encuentran micosporinas que son las responsables de la fotoprotección en organismos acuáticos como son los cnidarios (Cubillos et al, 2014). Y Aunque no podemos determinar en qué cantidad estaban presentes los resultados se respaldan con los espectros tanto como el electromagnético como los de infrarrojo.

### 11.6 MAAs y su relación con los ácidos grasos.

Otro resultado que se obtuvo de las fracciones analizadas por infrarrojo fue que algunas fracciones mostraron espectros que tenían una similitud con los reportados para los ácidos grasos (espectro 9 y 10). Esta similitud puede atribuirse en primer lugar que la extracción con MeOH permite no sólo la extracción de micosporinas sino de otras moléculas que como son los ácidos grasos, por lo que no se descarta que también hayan podido ser arrastrados en la extracción. No sin dejar de mencionar que nuestras especies mantienen una relación simbiótica con zooxantelas las cuales aportan el 95 % de nutrientes entre los más importantes se encuentra el glicerol y este puede estar esterificado con ácidos grasos para formar triglicéridos y ayudar a la nutrición de estos organismos (Fournier, 2013)

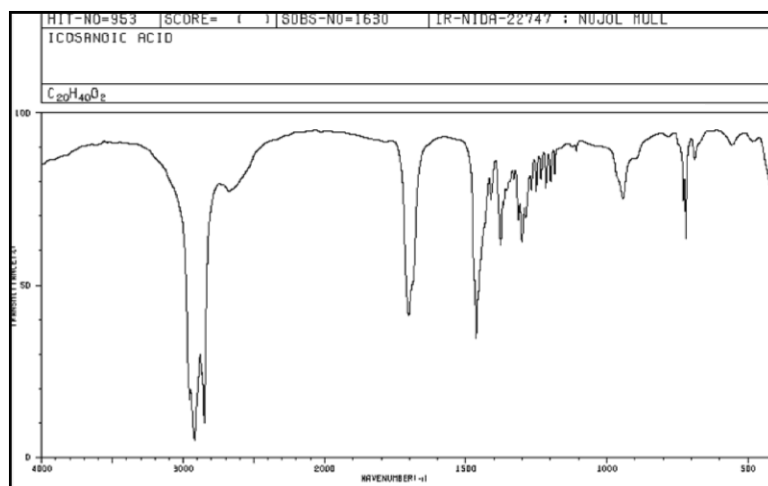


**Espectro 8.**  
**Espectrofotometria de**  
**infrarrojo de la fracción**  
**L-1.**



**Espectro 9. Espectrofotometria de infrarrojo del ácido icosanóico. Tomado de la página Spectral Database for Organic Compounds SDBS**

[http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct\\_frame\\_top.cgi](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi)



Los ácidos grasos son una de las principales fracciones de la biomasa del fitoplancton juegan un papel importante en el control del crecimiento y la reproducción de muchos animales marinos (Fábregas et al., 2004; Conde de 2011).

La producción de lípidos en las células de microalgas se ve afectada por muchas condiciones ambientales como la luz y la UVR, la temperatura, la salinidad, los nutrientes y la concentración de CO<sub>2</sub> (Renaud et al., 1995; Conde, 2011).

Los ácidos grasos han sido reportados por varios investigadores para desempeñar funciones importantes en las industrias de cosméticos, farmacéutica, nutracéutica y acuícola. También se ha demostrado que los ácidos grasos poliinsaturados desempeñan un papel protector contra los radicales libres (Natrah et al., 2007 Conde, 2011).

Lo anterior explica porque algunos de los espectros se asemejan a los de ácidos grasos ya que el extracto de anémona al mostrar primero que absorbe en varias regiones de la luz UV pueden estar presentes diferentes compuestos entre los cuales se incluyen los ácidos grasos.

### 11.6.1. Punto de fusión de la fracción 79

La fracción 79 no cristalizó, adoptó una condición cerosa, por tal motivo se le determinó el punto de fusión, se disolvió a los 68°C, lo que indica que nos indica que es una cera pues estas tienen puntos de fusión de entre los 40° y 90°C [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/LIPIDOS\\_2340.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/LIPIDOS_2340.pdf). Estas son ésteres de los ácidos grasos, se obtienen mediante una reacción química entre un ácido carboxílico y un alcohol, grupos presentes en micoporinas y/o ácidos grasos.

## 12. Conclusiones generales

- De la especie *P. clivosa* se obtuvo un extracto metanólico con un rendimiento total de extracto 5.8 %.
- El rendimiento total del extracto metanólico de *A. flosculifera* fue del 3 %.
- Ambos extractos mostraron máximos de absorción en la región UV-B y UV-C además, el extracto metanólico de *A. flosculifera* también mostró máximos de absorbancia en la región UV-A.
- El residuo sólido del extracto metanólico de *P. clivosa* y el extracto metanólico de *A. flosculifera* mostraron actividad antioxidante.
- El residuo sólido de *P. clivosa* y el extracto metanólico de *A. flosculifera* presentaron actividad fotoprotectora.
- Los espectros de infrarrojo y los reportados en la literatura indican que las posibles moléculas responsables del efecto fotoprotector presentes en el extracto de *A. flosculifera* son las MAAs Porfira-334 y Shinorina-334.
- Este es el primer estudio de fotoprotección y de actividad antioxidante realizado a *A. flosculifera*.

### 13. Perspectivas

- ✓ Estudiar con mayor profundidad a ambas especies en cuanto a sus actividades fotoquimioprotectoras.
- ✓ Tratar de separar la totalidad de los componentes fotoquimioprotectores de *A. flosculifera* y elucidar sus estructuras químicas mediante técnicas espectroscópicas. Para poder sintetizar químicamente a las MAAs.

## 14. Bibliografía

1. Agusti S., Duarte C. 2007. Aumento de la radiación ultravioleta: Impacto sobre los océanos polares. Impactos del calentamiento global sobre los ecosistemas polares. Fundación BBVA. Pág. 25-45
2. Ahmad A., Al-Utaibi., Gul R. N., Sultan S. Al-Lihaibi. 2009. Mycosporine-like amino acids in six scleractinian coral species. *Oceanología*. 51(1): 93-104.
3. Alencar D. B., Melo A. A., Silva G. C., Lima R. L., Kelma M.S. Pires-Cavalcante., Romulo F. Carneiro., Rabelo A. S., Sousa O. V., Vieira R. H. S. F. R., Viana F. A., Sampaio A. H., Saker-Sampaio S., 2015. Antioxidant, hemolytic, antimicrobial, and cytotoxic activities of the tropical Atlantic marine zoanthid *Palythoa caribaeorum*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87(2): 1113-1123.
4. Avila A. J. G., Castañeda, M.C., Benitez, F.J.C., Durán, D.A., Barroso, V.R., Martínez, C.G., Muñoz, L.J.L., Martínez, C.A., Romo de Vivar, A. 2005. Photoprotective activity of *Buddleja scordioides*. *Fitoterapia*. 76:301-309.
5. Avital T., Claes D. Enk., Malka H., Morris Srebnik. 2006 *Porphyra-334*, a potential natural source for UVA protective sunscreens. *Photochemical & Photobiological Sciences* 5, 432–435.
6. Banaszak A.T., Barba-Santos M.G., LaJeunesse., Lesser M. P. 2006. The distribution of mycosporine-like amino acids (MAAs) and the phylogenetic identity of symbiotic dinoflagellates in cnidarian hosts from the Mexican Caribbean *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 337: 131–146.
7. Banaszak, A.T., Trench, R.K., 1995. Effects of ultraviolet (UV) radiation on microalgal–invertebrate symbiosis. II. The synthesis of mycosporine- like amino acids in response to exposure to UV in *Anthopleura elegantissima* and *Cassiopeia xamachana*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 194, 233–250.
8. Banaszak A.T., T.C. LaJeunesse y R. K. Trench. 2000. The synthesis of mycosporine–like amino acids (MAAs) by cultured, symbiotic dinoflagellates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 249(2):219-233.

9. Bandaranayake W., Des Rocher A. 1999. Role of secondary metabolites and pigments in epidermal tissues, ripe ovaries, viscera, gut contents and diet of the sea cucumber *Holothuria atra*. *Marine Biology*. 133: 163-169.
10. Barba S. M. G. 1998. Estructura poblacional de *Pseudodiploria spp.* (cnidaria, anthozoa, scleractinia) en la planicie del arrecife Isla Verde, Veracruz, Méx. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM pp. 88
11. Barba S. M. G. 2004. Efecto de la radiación ultravioleta (RUV-A y RUV-B) en la eficiencia fotoquímica y la presencia de micosporinas parecidas a los aminoácidos (MAAs) en dos corales con simbiontes de filotipo diferente. Tesis de maestría en ciencias. Posgrado en ciencias del mar y limnología. UNAM pp. 85
12. Barnes D. R. 1969. Zoología de los Invertebrados. Capítulo 5 Celentéreos. 2ª Ed. Interamericana, S.A. México pág.113.
13. Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, Munro MHG and Prinsep MR. 2014. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 31: 160-258.
14. Buddemeier R.W., Kleypas J A., Aronson R. B. 2004. Potential Contributions of Climate Change to Stresses on Coral Reef Ecosystems. *Coral reefs & Global climate change*. For Pew Center on Global Climate Change. Pp. 44
15. Carricart-Ganivet J. P. 1985. Descripción de las especies de corales scleractinios de isla de en medio, Ver. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM pp. 116
16. Carricart-Ganivet, J.P. y G. Horta-Puga. 1993. Arrecifes de Coral en México. Pp 81-92. En: S.I. Salazar-Vallejo y N.E. González (EDS). *Biodiversidad Marina y Costera de México*. CONABIO y CIQRO, México, 865p.
17. Carroll A.K., Shick J.M. 1996 Dietary accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Marine Biology* 124: 561-569.
18. Cockell Charles y Jonh Knowland. 1999. Ultraviolet radiation screening compounds. *Biol. Rev.* (1999), 74, pp. 311-345.
19. Conde F.R., Churio M.S., Previtali C.M. 2000. The photoreceptor mechanism of mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous solution. *Photochem Photobiol.* 56:139 En: Singh P.

- S., Kumari S., Rastogi P. R., Singh L.K., Sinha R. P. 2008. Mycosporine-like amino acids (MAAs): Chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/screening compounds. *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol. 46:7-17.
20. Conde De A. De. S.F J.L. 2011. Search for mycosporine-like amino acids and fatty acids in *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis gaditana*. Tesis de maestría en biotecnología de recursos marinos. Escuela superior de turismo y tecnología del mar del instituto politécnico de Leiria. Pp.45
21. Cubillos V.M., Lamare M.D., Peake B. M., Burrit D.J. 2014. Cellular changes associated with the acclimation of the intertidal sea anemone *Actinia tenebrosa* to ultraviolet radiation. *Photochemistry and Photobiology*, 90: 1314–1323
22. Daly, M.; Brugler, M.R.; Cartwright, P.; Collins, A.G.; Dawson, M.N.; Fautin, D.G.; France, S.C.; McFadden, C.S.; Opresko, D.M.; Rodriguez, E.; et al. The phylum Cnidaria: A review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. *Zootaxa* 2007, 1668, 127–182.
23. Davis, R.D., Dulbecco, R. 1996. Aspectos moleculares de la replicación y variación del ADN. En: Davis, R D., Dulbecco, R., Eisen, H.N., Ginsberg, H.S. (eds). *Tratado de Microbiología*. 4a. Edición. Masson. México.
24. De la Caba L. F. 2007 evaluación de la capacidad fotoprotectora y antioxidante de aminoácidos tipo micosporina aplicaciones biotecnológicas. Tesis doctoral. Facultad de ciencias. Universidad de Málaga. pp 312.
25. Donat-P. Häder, Rajeshwar P. Sinha, 2005. Solar ultraviolet radiation-induced DNA damage in aquatic organisms: potential environmental impact. *ELSEVIER*. 571: 221-233.
26. Dykens, J. A., Shick, J. M., Benoit, C., Buettner, G. R. & Winston, G. W. 1992. Oxygen radical production in the sea anemone *Anthopleura elegantissima* and its endosymbiotic algae. *J. Exp. Biol.* 168:219–41.
27. Dunlap W. C. and Chalker B. E. (1986) Identification and quantitation of near UV absorbing compounds (S-320) in a hermatypic scleractinian. *Coral Reefs* 5, 155 159.
28. Dunlap W.C., Malcolm Shick J. 1998a. Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: a biochemical and environmental perspective *J. Phycol.* 34:418–430

29. Dunlap W.C., Malcolm Shick J. 2000 Photobiological Chemistry of Coral Symbiosis. Environmental Biochemistry.
30. Dunlap W. C., Fujisawa A., Yamamoto Y. 2002. Marine biotechnology for anti-aging research. Environmental biochemistry and photobiology. pp 1-5
31. Dunlap W.C., Yamamoto Y. 1995. Small-molecule antioxidants in marine organisms-antioxidant activity of mycosporine-glycine. Comparative Biochemistry Physiology B 112: 105-114.
32. Eisenstadt, E., Carlton, B., C. and Brown, B., J. 1994. Gene mutation. In: Gerhardt, P. (ed). Methods for general and molecular bacteriology. ASM, Washington D.C. USA. pp. 297-303.
33. Emery, K.O. 1963. Estudios regionales. Arrecifes coralinos en Veracruz, México. Geofís. Int. 3(1):11-17
34. Fábregas J, Maseda A, Domínguez A, Otero A (2004) The cell composition of *Nannochloropsis sp.* changes under different irradiances in semicontinuous culture. W J Microbiol Biotechnol 20: 31-35.
35. Favre-Bonvin J, N Arpin & C Brevard. 1976. Structure de la mycosporine (P-310). Canadian Journal of Chemical 54: 1105-1113.
36. Fenical, W.; Jensen, P.R.; Palladino, M.A.; Lam, K.S.; Lloyd, G.K.; Potts, B.C. Discovery and development of the anticancer agent salinosporamide A (NPI-0052). Bioorg. Med. Chem. 2009, 17, 2175–2180.
37. Fligge, M., Solankib, S.K., Papc, J.M., Fröhlichd, C., Wehrlid, Ch. 2001. Variations of solar spectral irradiance from near UV to the infrared—measurements and results. Journal of Atmospheric and Solar-Terrestrial Physics. 63: 1479–1487.
38. Freedberg, Eisen, Wolff, et al. 1999 Dermatology in General Medicine. Editorial Mc Graw-Hill. En: Gutiérrez V. R. Ma., 2003b. Cáncer de piel Revista Facultad de Medicina UNAM Vol.46 No.4.
39. Fournier Alice. 2013. The story of symbiosis with zooxanthellae, or how they enable their host to thrive in a nutrient poor environment. BioSciences Master Reviews. Pp 8.
40. Fundación Mexicana para la Dermatología 2014. En: Servín M. R. (Eds). El financiero. Recuperado de: <http://www.elfinanciero.com.mx/sociedad/cancer-de-piel-segundo-lugar-de-incidencia-en-mexico-fmd.html>.



41. Furla P., Allemand D., Shick M., Ferrier-Page` C., Richier S., Plantivaux A., Merle P., Tambutte´ S. 2005. The Symbiotic Anthozoan: a Physiological Chimera between Alga and Animal. *Integr. Comp. Biol.*, 45:595–604.
42. Garateix A., Salceda E., Aneiros A., Soto E. 2003. *Bunodosoma granulífera*: fuente de péptidos con acción sobre canales iónicos. *Avicennia* 16:13-21.
43. García B. A. M. 2010. Evaluación de la actividad fotoprotectora y antioxidante de *Yucca periculosa* Baker. Tesis de doctorado en ciencias. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. Pp. 195.
44. Garmyn, M., Yarosh, D.B. 2007. The molecular and genetics effects of ultraviolet radiation exposure on skin cells. In: Lim, H.W., Hönigsmann, H., Hawk, J.L.M. (Eds). *Photodermatology*. Informa Healthcare. New York.
45. Garvita S., Piyooosh K.B., Rajeshwar P.S., Tyag M.B., Kumar A. 2013. Enzymatic and non-enzymatic defense mechanisms against ultraviolet-B radiation in two *Anabaena* species. *Process Biochemistry* 48:796–802.
46. Glaser, K.B.; Mayer, A.M.S. A renaissance in marine pharmacology: From preclinical curiosity to clinical reality. *Biochem. Pharmacol.* 2009, 78, 440–448.
47. Godinot C, Houlbrequé F, Grover R, Ferrier-Pagès C: Coral uptake of inorganic Phosphorus and Nitrogen negatively affected by simultaneous changes in temperature and pH. *PloS one* 2011, 6:e25024. The effect of rising temperature and decreasing pH on nutrient uptake is precisely studied. The two factors are considered both separately and combined to asses their relative impact.
48. González M. C. 2003. Caracterización y Distribución de los Biotopos de la Planicie Arrecifal de la Gallega, Ver. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM pp. 63
49. González M. R. E. 2005. Estructura de la comunidad de anémonas del arrecife la galleguilla, Veracruz. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM pp. 53
50. González M. R. E., Simões N., Sánchez. R. J., Rodríguez E., Segura P. L. 2012. First Inventory of Sea Anemones (Cnidaria: Actiniaria) of the Mexican Caribbean. *Zootaxa*. 3556:1-38.
51. Gordon BR, Leggat W. 2010 Symbiodinium—invertebrate symbioses and the role of metabolomics. *Marine Drugs*. A complete overview of metabolic exchanges between hosts and symbionts, with a characterization of the

- bilateral exchanges of nutritional metabolites, of novel metabolic pathways that do not exist in either separate organism and description of the most enigmatic identified metabolites. 8:2546–2568
52. Goreau. T. F. y Goreau. N. T. 1959. The phydiology of skeleton formation in corals. II. Calcium deposition by hermatypic corals under varius conditions in the reef. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Holo. 117:239-250
53. Gutiérrez, D., García-Sáez C., Lara M., Padilla C. 1993a. Comparación de arrecifes Coralinos: Veracruz y Quintana Roo. En Salazar-Vallejo S.I., y González, N.E. Biodiversidad Marina y Costera de México. Com. Nal. Biodiversidad y CIQRO, México. pp. 787-806
54. Gutiérrez Vidrio R. M. 2003. Cáncer de piel. Revista de la Facultad de Medicina. UNAM Vol.46 No.4 .
55. Hill, R.T.; Fenical, W. Pharmaceuticals from marine natural products: Surge or ebb? Curr. Opin. Biotechnol. 2010, 21, 777–779.
56. Helbling E. W., Villafane V. E. Efectos de la radiación ultravioleta en la fotosíntesis del fitoplancton. Laboratorio de fotobiología y producción primaria. Universidad Nacional de la Patagonia. Pág. 43-53
57. Hernández, V. & M. Hernández. 2005. Bioactivos marinos en Venezuela. Saber 17: 5-10.
58. Herzberg G. Infrared and Raman spectra, Van Nostrand Reinhold Company, New York (1945). En: Raúl Gómez y Rogelio Murillo Espectroscopía infrarroja (<http://sistemas.fcencias.unam.mx/~fam/Infrarroja.pdf>).
59. Horta-Puga G., Carriquiry J.D. 2008. Crecimiento del coral hermatípico *Montastrea cavernosa* en el Sistema Arrecifal Veracruzano. Ciencias marinas 34(001):107-112.
60. Horta-Puga y Carriquiry, 2005 en Horta Puga, G. y J. L. Tello Musi. 2009. Sistema Arrecifal Veracruzano: condición actual y programa permanente de monitoreo: Primera Etapa. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Informe final SNIBCONABIO proyecto No. DM005. México D. F.
61. Horta-Puga, G., Tello Musi, J. L. Sistema Arrecifal Veracruzano: condición actual y programa permanente de monitoreo. Primera Etapa. UNAM. Informe Final SNIB^ CONABIO proyecto No. DM005. 2009.

62. Horta-Puga, G., Vargas-Hernández, J.M., Carricart-Ganivet, J.P., 2007. Reef corals. In: Tunnell, J.W., Chávez, E.A., Withers, K. (Eds.), Coral Reefs of the Southern Gulf of Mexico. Texas A&M Press, Corpus Christi, pp. 95-101.
63. Hyman, L.H.1940. The Invertebrates: Protozoa through Ctenofora. Vol. 1 Ed. Mc.Graw-Hill Co.,NewYork, 556-625 pp.
64. Jain, R.; Sonawane, S.; Mandrekar, N. Marine organisms: Potential source for drug discovery. Curr. Sci. 2008, 94, 292.
65. Jordan-Dahlgren, E. 2004. Los arrecifes coralinos del Golfo de México: caracterización y diagnóstico. M. Caso, I. Pisanty y E. Ezcurra, p. 554-570.
66. Joyeux, M., Lobstein, A., Anton, R. and Mortier, K. 1995. Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging properties of terpenes and biflavones from Ginkgo and some flavonoids. Planta Medica. 61(2):6-129.
67. Karentz D. 1994 Ultraviolet tolerance mechanisms in Antarctic marine organisms. Antarctic Research Series 62: 93-110.
68. Kelecom a. 2002. Secondary metabolites from marine microorganisms. Anales de Academia Brasileña de Ciencias. Sci. 74(1): 151–170
69. Keck, G ; Poudel, Y ; Cummins, T ; Covell, J; Rudra, A. J. Am. Chem. Soc. 2011. 133, 744-747.
70. Kirk, J. T. O. 1994. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Cambridge University Press, United Kingdom. En: Helbling, E. W. & V. E. Villafañe. 1997. Efectos de la radiación ultravioleta en la fotosíntesis del fitoplancton. Universidad Nacional de la Patagonia. pp. 43-53
71. Korbee N., Figueroa F.L., Aguilera J., 2006. Acumulación de aminoácidos tipo micosporina (MAAs): biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. Revista Chilena de Historia Natural. 79: 119-132.
72. Kuffner I.B., 2002, Effects of ultraviolet radiation and water motion on the reef coral, *Porites compressa* Dana: a transplantation experiment, J. Expt. Mar Biol. Ecol., 270 (2), 147–169.
73. LaJeunesse T.C. 2002 Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean Coral Reefs. Mar. Biol. 141:387-400.
74. Lesser M. 2006. Oxidative Stress in Marine Environments: Biochemistry and Physiological Ecology. Annu. Rev. Physiol. 68:253-780.

75. Lentner A. Geschichte der Lichttherapie. Aachen: Foto-Druck Mainz, 1992. In: Lim, H.W., Hönigsmann, H., Hawk, J.L.M. (Eds) 2007. Photodermatology. Informa Healthcare. New York. Pág. 2
76. Libkind D., Moliné M., Van Broock M. 2004 Posibles mecanismos de fotoprotección en levaduras. Radiobiología 4:84-88.
77. Liddell W. D., Tunnell J. W. Jr. 2007 Mexican Coral Reefs Cap.20 pp. 341-354.
78. Lowe N.J., Shaath N.A., Pathak M.A. 1997 Sunscreens: Development evaluation and regulatory aspects 2a Ed. Cosmetics science and technology. Pág.36
79. Marshall, A.J. and W.D.Williams.1980. Zoología Invertebrados. 7° ed. Ed. Reverté, S.A. Barcelona, España, 117-188 pp.
80. Mathiesen, L., Malterud, K.E., Sund, R.B. 1995. Antioxidant activity of fruit exudates and C-methylated dihydrochalcones from *Myrica gale*. Planta Medica. 61(6): 515-518.
81. Misonou T, J Saitoh, S Oshiba, Y Tokitomo, M Maegawa, Y Inoue, H Hori & T Sakurai. 2003. UV-absorbing substance in the red alga *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) block thymine photodimer production. Marine Biotechnology 5: 194-200.
82. Muscatine, L. 1990. The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. In Z. Dubinsky (ed.), Coral reefs. Ecosystems of the World 25. Elsevier, Amsterdam. pp. 75–87.
83. Natrah FMI, Yusoff FM, Shariff M, Abas F, Mariana NS (2007) Screening of Malaysian indigenous microalgae for antioxidant properties and nutritional value. J Appl Phycol 19:711-718.
84. Ordaz, G., D' Armas, H., Yáñez, D., Hernández, J., Camacho, A. 2010. Metabolitos secundarios, letalidad y actividad antimicrobiana de los extractos de tres corales y tres moluscos marinos de Sucre, Venezuela. Revista de Biología Tropical, vol. 58, núm. 2, pp. 677-688.
85. Ortiz L. L. D. 2011. El sistema arrecifal veracruzano. Reporte de un área natural protegida amenazada. Cemda.
86. Patiño C. L. P. 2013. Aislamiento y elucidación estructural de metabolitos secundarios a partir de esponjas, corales, tunicados y briozoos del Atlántico Sur

- y la Antártida. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Pp. 304
87. PEMEX. 1987. Evaluación de los corales escleractineos del sistema arrecifal Veracruzano. PEMEX y Sria. Marina, México. 119p.
88. Pine S. H., Hendrickson J.B., Cram D.J., Hammond G.S. 1988. Química orgánica. 4a ed. 2a e den español. Mc Graw Hill.
89. Radjasa OK, Vaske YM, Navarro G, Vervoort HC, Tenney K, Linington RG and Crews P. 2011. Highlights of marine invertebrate-derived biosynthetic products: Their biomedical potential and possible production by microbial associants. *Bioorg Med Chem* 19: 6658-6674.
90. Ramos R-E. A., 2003. Mesogastrópodos de la planicie arrecifal La Gallega, Veracruz. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM pp. 57
91. Rastogi R. P., Richa., Sinha R.P., Singh S. P., Hâder D.P. 2010. Photoprotective compounds from marine organisms. *J Ind Microbiol Biotechnol. Review.* 33:537-558.
92. Reaka-Kudla, M., D. Wilson., E. Wilson. 1997. Biodiversity II. Understanding and protecting our biological resources. Joseph Henry Press, Washington, D.C.
93. Reyna-González PC, Bello-Pineda J, Ortiz-Lozano L, Pérez-España H, Arceo P, Brenner J. 2014. Incorporating expert knowledge for development spacial modeling in assessing ecosystem services provided by coral reefs: a tool for decision-making. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 49:279:292.
94. Renaud SM, Zhou HC, Parry DL, Thinh LV, Woo KC. 1995. Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical microalgae *Isochrysis* sp., *Nitzschia closterium*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp. (clone T.ISO). *J Appl Phycol* 7:595-602
95. Riegl B., and G.M. Branch. 1995. Effects of sediment on the energy budgets of four scleractinian (Bourne 1900) and five alcyonacean (Lamouroux 1816) corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 186: 259-275.
96. Roberts 1997 en Horta Puga, G. y J. L. Tello Musi. 2009. Sistema Arrecifal Veracruzano: condición actual y programa permanente de monitoreo: Primera Etapa. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios

- Superiores Iztacala. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. DM005. México D. F.
97. Rocha J., Peixe L., Gomes Newton C.M., Calado Ricardo. 2011. Cnidarians as a Source of New Marine Bioactive Compounds—An Overview of the Last Decade and Future Steps for Bioprospecting. *Review Marine drugs*. 9:1860-1886.
98. Rosic NN: Phylogenetic analysis of genes involved in mycosporine-like amino acid biosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012, 94:29–37. [doi: 10.1007/s00253-012-3925-3]
99. Salgado O. N. 2013. Lista sistemática de anémonas marinas (Cnidaria, Anthozoa, Hexacorallia: Actiniaria, Corallimorpharia y Zoanthidea) del arrecife de Isla Sacrificios, Ver. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM pp.56
100. Senthilkumar K and Kim SK. 2013. Marine invertebrate natural products for anti-inflammatory and chronic diseases. *Evid-Based Compl Alt* 2013: 1-10.
101. Shahbudin S., Deny S., Zakirun A. M. T., Haziyaamin T.A.H., Akbar J. B., Taher M. 2011. Antioxidants properties of soft coral *Dendronephthya* sp. *International Journal of Pharmacology* 7(2): 263-267.
102. Shick J. M., Dunlap W. C., Pearse J. S., Pearse V. B. 2002. Mycosporine-like amino acid content in four species of sea anemones in the genus *Anthopleura* reflects phylogenetic but not environmental or symbiotic relationships. *Biol. Bull.* 203:315-330.
103. Shriner R.L., Hermann C. K. F., Morrill T. C., Curtin D. Y., Fuson R. C. 2004. *The systematic identification of organic compounds* 8th edition. John Wiley and Sons. Hoboken, NJ.
104. Singh S.P., Kumari S., Rastogi R.P., Singh K.L., Sinha R.P. 2008. Mycosporine-like amino acids (MAAs): Chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/screening compounds. *Review Article. Indian Journal of Experimental Biology*. Vol. 46. Pp 7-17
105. Soto, M. y E. García. 1989. *Atlas Climático del Estado de Veracruz*. Instituto de Ecología. Xalapa, 125p.
106. Tambutté S, Holcomb M, Ferrier-Pagès C, Reynaud S, Tambutté É, Zoccola D, Allemann D: Coral biomineralization: From the gene to the

- environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 2011, 408:58–78. [doi: 10.1016/j.jembe.2011.07.026]. A complete overview of the skeleton composition and structure, the genes and mechanisms involved in biomineralization, and the environmental factors impacting on the process.
107. Tsujino I y T Saito (1961) Studies on the compounds specific for each group of marine alga. I. Presence of characteristic ultraviolet absorbing material in Rhodophyceae. *Bulletin of the Faculty of Fish, Hokkaido University (Japón)* 12: 49-58.
108. Vargas-Hernández, J. M., A., Hernandez-Gutierrez y L. F. Carrera-Parra, 1993. Sistema Arrecifal Veracruzano. P.p. 559-575. In *Biodiversidad marina y costera de México*. S.I. Salazar-Vallejo y González, N.E. (eds.). Com. Nal. Biodiversidad y CIQRO, México, 865 pp.
109. Wada N., Sakamoto T., Matsugo S. 2015. Mycosporine-Like Amino Acids and Their Derivatives as Natural Antioxidants. *Review. Antioxidants*, 4, 603-646; doi:10.3390/antiox4030603
110. Wells J.W. 1957. Coral Reefs. *Geol. Soc. Amer., Mem.* 67. 609-631.
111. Yakovleva I., Bhagooli R., Takemura A., Hidaka M. 2004 Differential susceptibility to oxidative stress of two scleractinian corals: antioxidant functioning of mycosporine-glycine. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 139:721-730.
112. Ye Jin Lee, Chan-Hee Kim, Hye Young Oh, Hye-Jin Go and Nam Gyu Park. 2015. Investigation of Antimicrobial, Antioxidant and Hemolytic Activity of Water-soluble Extract of Mottled Anemone *Urticina crassicornis*. *Fish Aquat Sci* 18(4), 341-347.
113. Yedid. H. A. 1982. Algunos aspectos ecológicos sobre la abundancia y distribución de los corales de Isla Verde, Ver. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM pp. 42
114. Yellowlees D, Rees TAV, Leggat W: Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. *Plant, Cell & Environment* 2008, 31:679–694. [doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x]
115. Zamora S. J. D. 2007. Antioxidantes micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición, bromatología y toxicología*. Marzo, año/vol. 34. N°001 pp. 23

116. Ziegler, A., Jonason, A., Simon, J., Leffell, D., Brash, D.E. 1996. Tumor suppressor gene mutations and photocarcinogenesis. *Photochemistry and Photobiology*. 63: 432-434.

### 12.1. Páginas electrónicas consultadas.

<https://manoa.hawaii.edu/exploringourfluidearth/physical/ocean-depths/light-ocean>).

([http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/14\\_micro.htm](http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/14_micro.htm)







[http://www.naturalistore.com/alivio\\_del\\_dolor.htm](http://www.naturalistore.com/alivio_del_dolor.htm)

[http://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/direct\\_frame\\_top.cgi](http://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi)



# ANEXO

## SIMBOLOGÍA

COLOR	GRUPO FUNCIONAL
	Alcohol (OH)
	Éter (R-O-R')
	Ceto (C=O)
	Ác. Carboxílicos (COOH)
	Amina (NH <sub>2</sub> )
	Comprueban la presencia del grupo funcional correspondiente

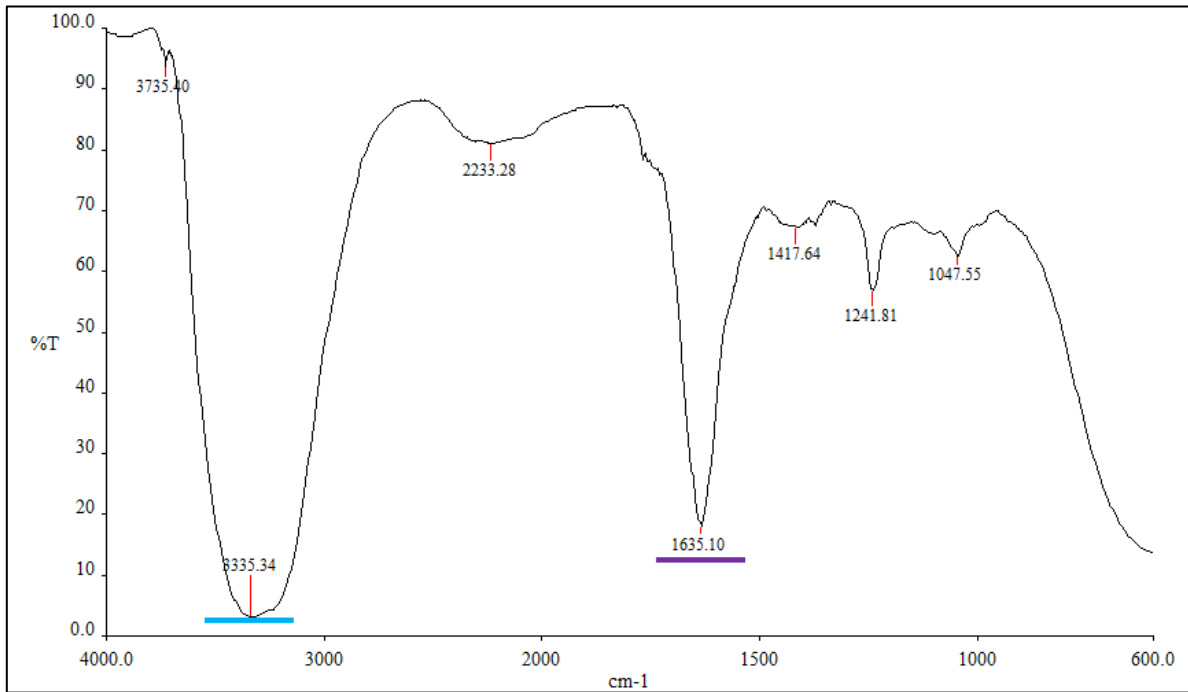
**Simbología utilizada en el presente estudio para la identificación de los grupos funcionales característicos de las MAA's en los espectros de infrarrojo.**

✦ Las bandas señaladas con la estrella de 4 puntas, corresponden a lo reportado por Garvita et al, 2013. En este aislaron MAAs de un extracto de dos especies de *Anabaena* por HPLC en cual encontraron un pico desconocido a este pico le realizaron un análisis FTIR con el cual concluyeron que era una MAA ya que muestra los grupos funcionales característicos de estas, como son los grupos OH, NH<sub>2</sub><sup>+</sup> y grupos COOH.

◆ En este también le realizaron un análisis FTIR a una fracción purificada de *Shinorina* las bandas que coinciden se señalan con un diamante.

✦ Análisis FTIR de *Porphyra-334* Micosporina aislada de extracto metanólico de *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA) por Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción C

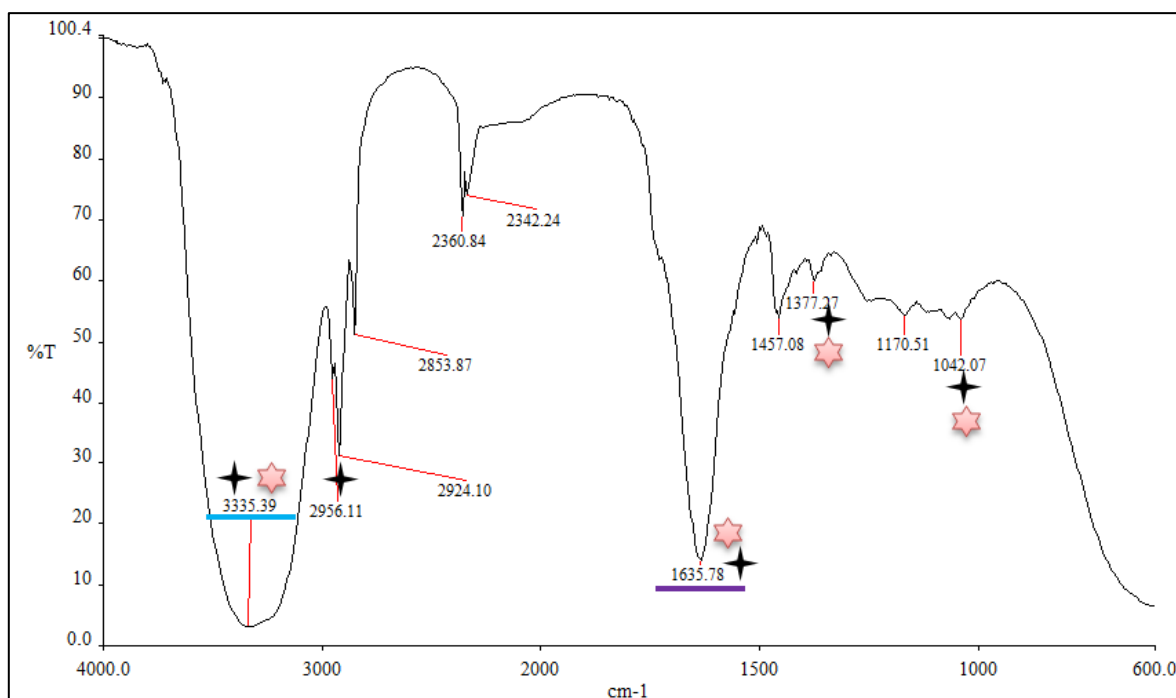


**Espectro 10. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción C.**

251 sustituyente alquino o acetileno terminal

En el espectro de la muestra C se observan dos bandas una a 3335.34 que evidencia la presencia del grupo OH y otra a 1635.10 que pertenece al grupo carboxilo. No coincide con la literatura citada.

## Espectro de la fracción D



**Espectro 11. Espectrofotometría de la fracción D**

201 Grupo alquilo- general

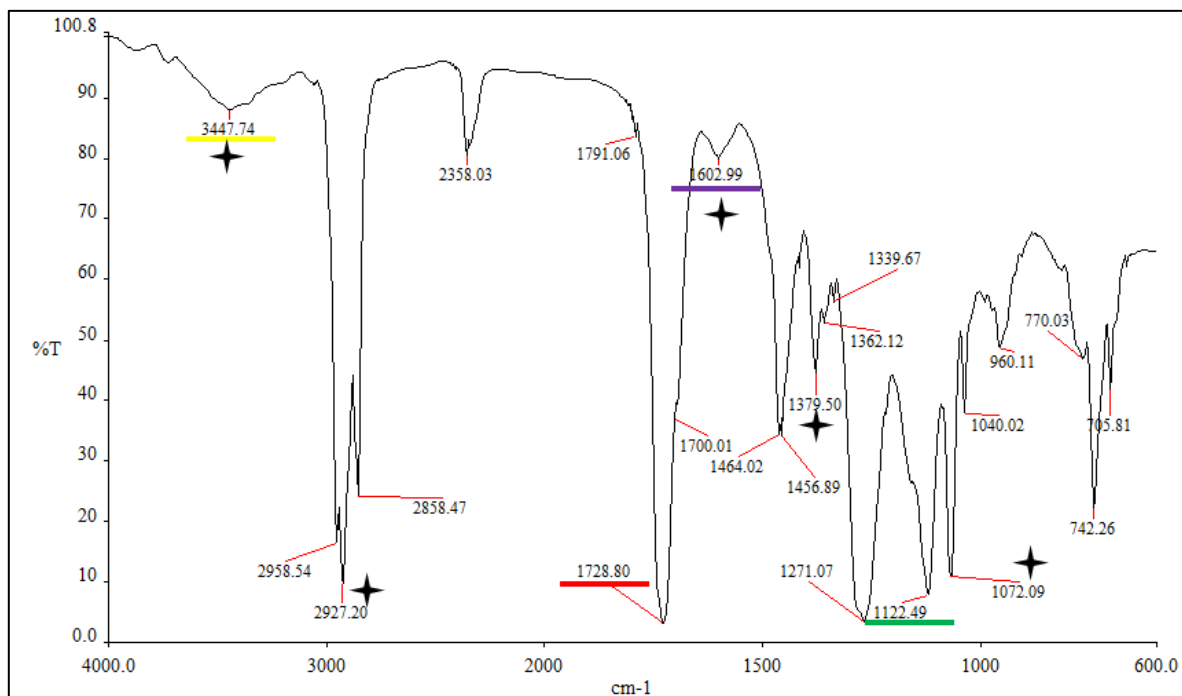
251 Sustituyente alquino o acetileno terminal

En el espectro de la muestra D se observa una banda a 3335.39 que pertenece al grupo funcional OH y otra presente en 1635.78 que corresponde al grupo carboxilo.

✦ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs según lo reportado con Garvita *et al*, 2013.

★ Indica que esas 4 bandas coinciden con los datos químicos para porphyra-334 reportado en Avital *et al*, 2006.

## Espectro de la fracción L-1



Espectro 12. Espectrofotometría de fracción L-1

201 Grupo alquilo- general

208 Grupo alquilo- sustituyente de metilo

3502 Éster de ácido carboxílico- posiblemente aromático, tipo benzoato

3507 Éster de ácido carboxílico- tipo de ftalato

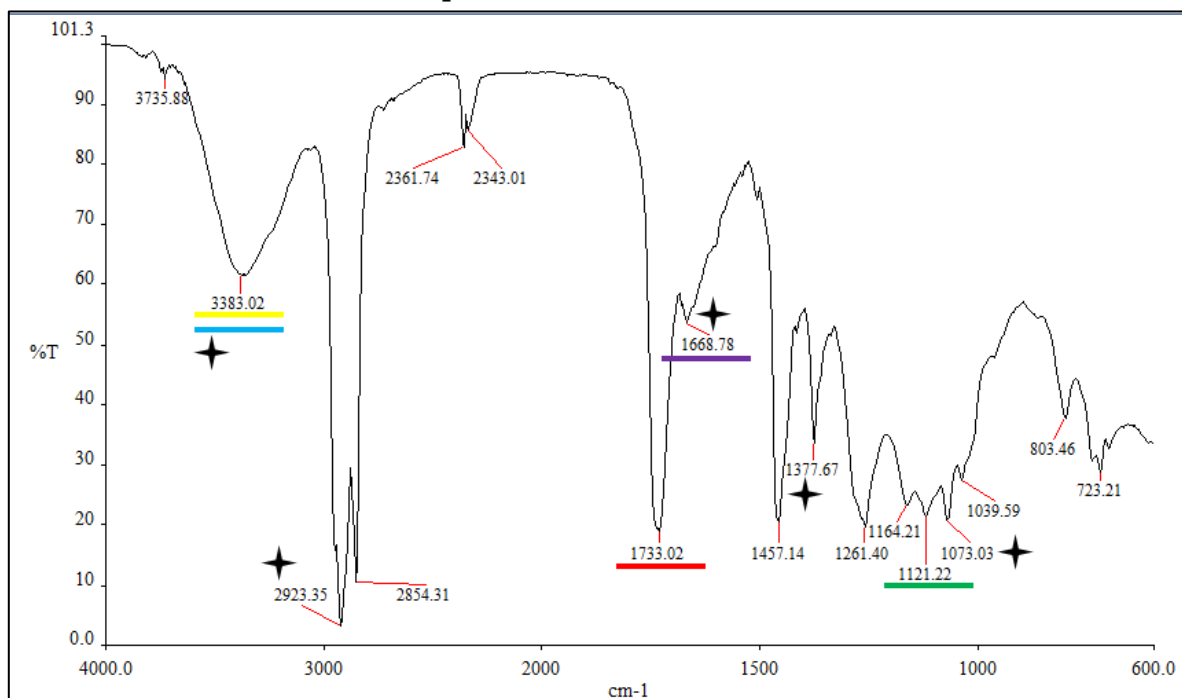
4915 Compuesto carbonilo- Clase 15 (Consulte diagrama de estructura PSU)

4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

En el espectro se observa a 3447.74 un banda correspondiente al grupo amino  $\text{NH}_2^+$ , y debido a la forma y tamaño de esta es probable se trate de una amina secundaria. La banda a 1728.80 corresponde al grupo ceto  $\text{C}=\text{O}$  y la banda a 1602.99 al anión carboxilo, mientras que la banda a 1122.49 indica la presencia del grupo éter. Sin embargo a pesar de que hay algunas señales claras sobre los grupos funcionales característicos de las MAA's se presentan otras bandas más, por lo que podemos concluir que se trata de otro tipo de metabolito.

✦ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs. Aunque todas las bandas reportadas en Garvita et al, 2013, se localizan en este espectro, en este se muestran muchas otras bandas más.

## Espectro de la fracción E



Espectro 13. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción E.

202 Grupo alquilo-general

205 Grupo alquilo- compuesto de cadena larga

1402 Éster de ácido carboxílico- posiblemente alifático

1408 Éster de ácido carboxílico- posiblemente acetato alifático

1416 Ácido carboxílico o éster sustituido con hidroxilo

1420 Éster de ácido carboxílico- posiblemente conjugado

4905 Compuesto carbonilo- clase 5 (Consulte diagrama de estructura de PSU)

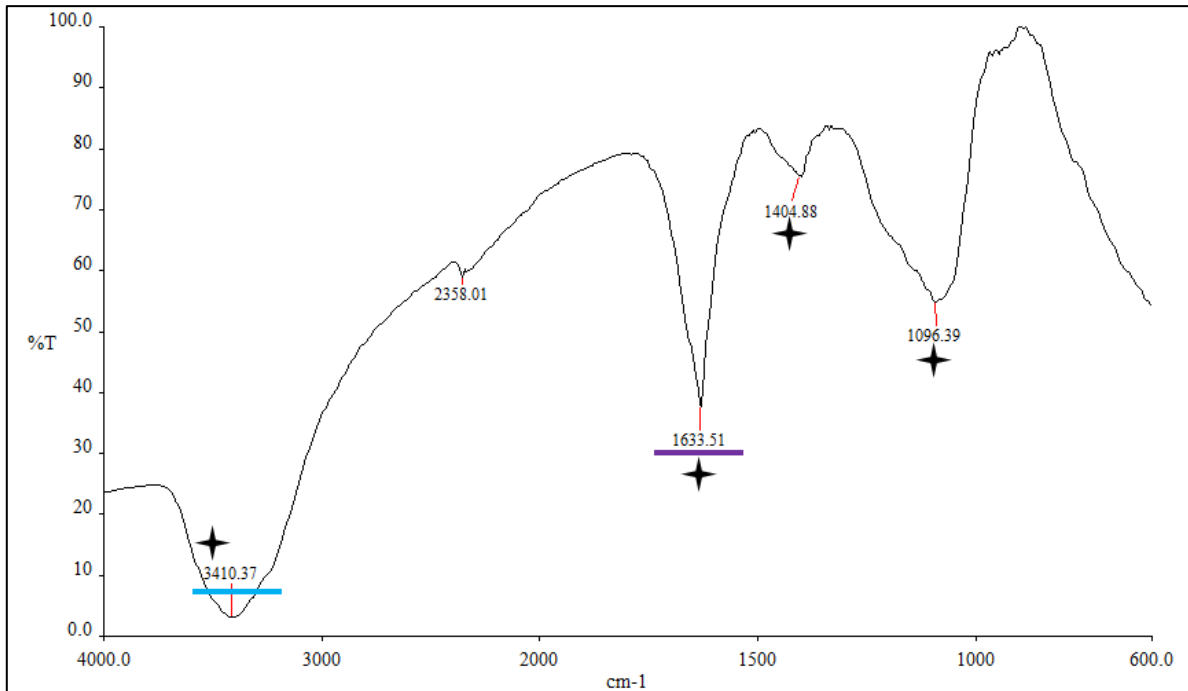
4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

4934 Compuesto carbonilo- éster o ácido sustituido con hidroxilo

En el espectro se observa a 3383.02 una banda la cual correspondiente al grupo amino  $\text{NH}^+$  y al grupo alcohol  $\text{OH}$ . La banda a 1733.02 corresponde al grupo ceto  $\text{C}=\text{O}$  y la banda a 1668.78 al anión carboxilo, mientras que la banda a 1121.22 indica la presencia del grupo éter. Al igual que el espectro de la muestra L-1 este espectro cuenta con muchas otras bandas y aunque incluye los grupos característicos de las MAA's podemos concluir que se trata de otro tipo de metabolito.

✦ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs. Aunque todas las bandas reportadas en Garvita et al, 2013, se localizan en este espectro, en este se muestran muchas otras bandas más.

## Espectro de la fracción E-2



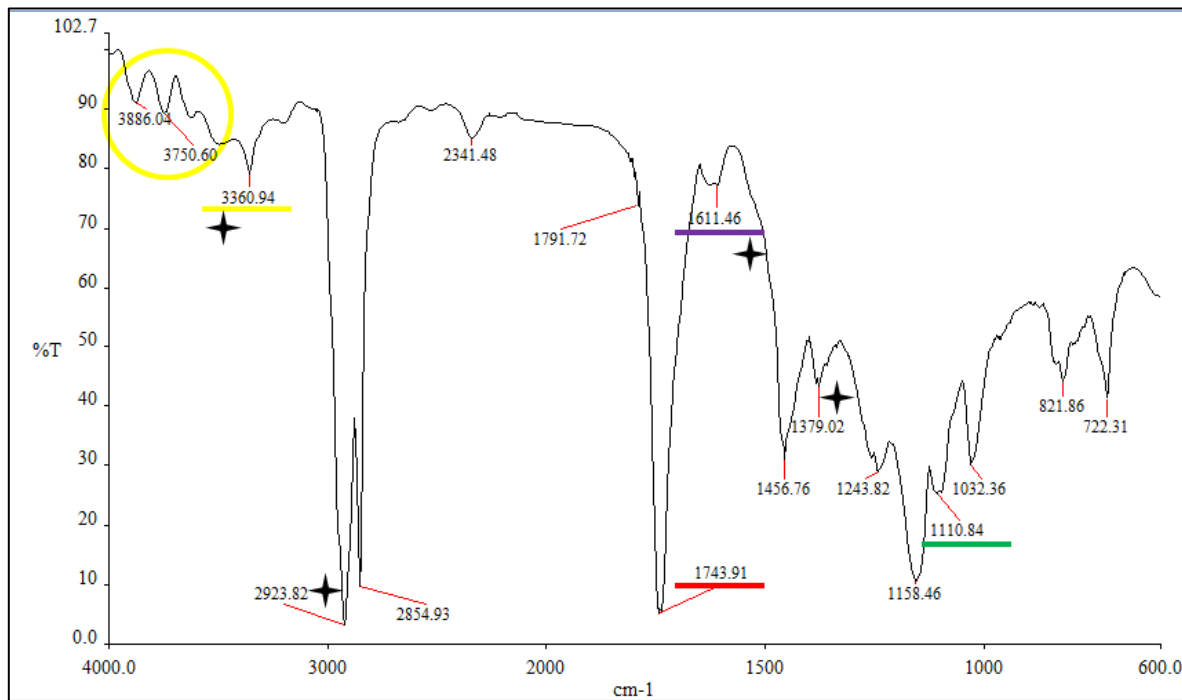
**Espectro 14. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción E-2.**

402 Hidroxi o Compuesto amino- general

En el espectro se observa dos bandas señaladas la primera a 3410.37 indica por su forma y tamaño la presencia del grupo OH mientras que la banda siguiente a 1633.51 indica presencia del grupo carboxilo.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs, coinciden 4 bandas de las 5 reportadas en Garvita *et al*, 2013.

## Espectro de la fracción 79



Espectro 15. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción 79.

202 Grupo alquilo- general

204 Grupo alquilo- sustituyente de cadena larga

3513 Éster de ácido carboxílico- general

4905 compuesto carbonilo- clase 5 (Consulte diagrama de estructura PSU)

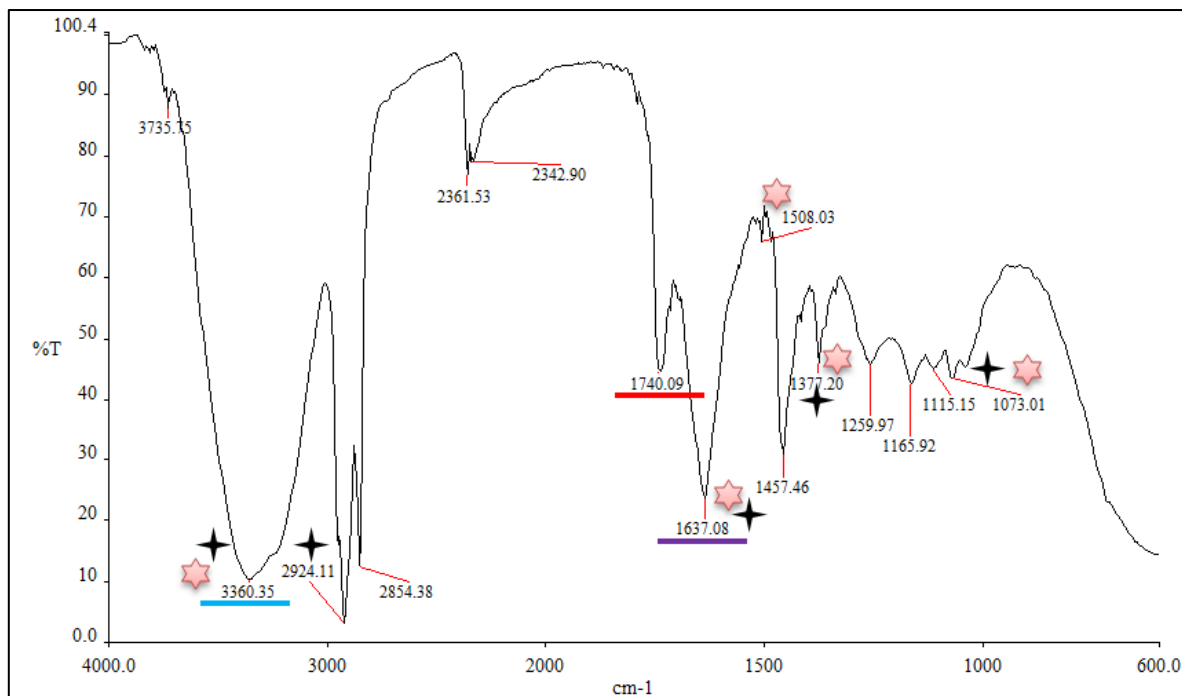
4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

Las primeras dos bandas con casi el mismo % de transmitancia una a 3886.04 y la otra a 3750.60 son características de la presencia del grupo amino mientras que la banda a 3360.94 comprueba la presencia de este grupo. También se observa a 1743.91 el grupo ceto, mientras que las bandas 1611.46 y 1110.84 indican el anión carboxilo y grupo éter respectivamente.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs coinciden 4 de 5 bandas reportadas en Garvita *et al*, 2013.



## Espectro de la fracción 93-1



Espectro 16. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción 93-1.

202 Grupo alquilo- general

251 Sustituyente alquino o acetileno terminal

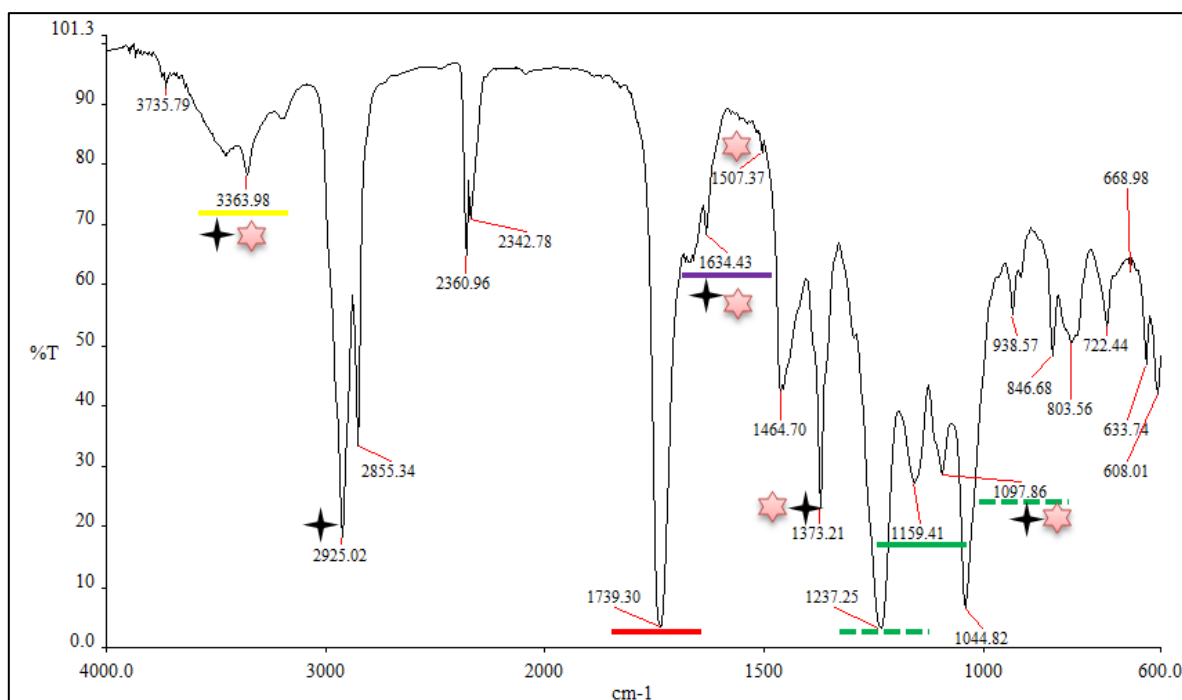
4904 compuesto carbonilo –clase 4 (Consulte diagrama de estructura PSU)

Se observa a 3360.36 una banda característica en tamaño y forma correspondiente al grupo OH y se observan dos bandas una a 1740.09 y a 1637.08 que indican la presencia del grupo ceto y el anión carboxilo respectivamente. Sin embargo a pesar de que hay algunas señales claras sobre los grupos funcionales característicos de las MAA's se presentan otras bandas más, por lo que podemos concluir que se trata de otro tipo de metabolito.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita *et al*, 2013

★ El espectro incluye las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital *et al*, 2006.

## Espectro de la fracción F



Espectro 17. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción F-1.

201 Grupo alquilo- general

1402 Éster de ácido carboxílico- posiblemente alifático

1407 Éster de ácido carboxílico- posiblemente acetato alifático

4905 Compuesto carbonilo- clase 5 (Consulte diagrama de estructura PSU)

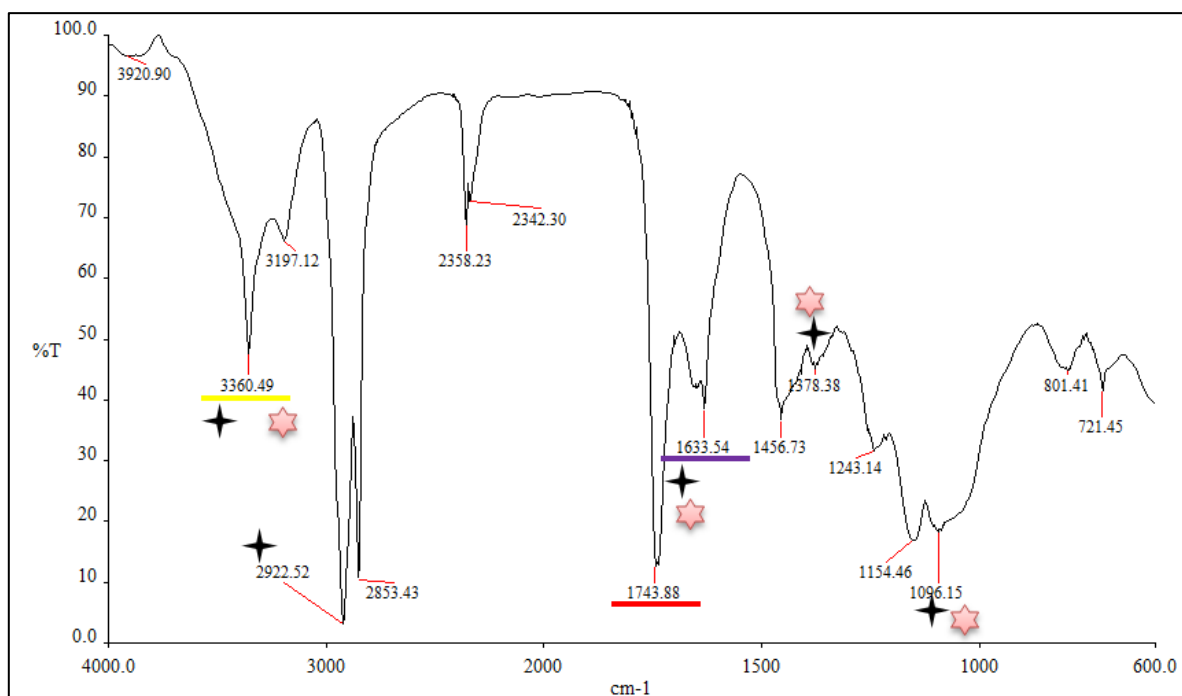
4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

En el espectro la banda a 3363.98 corresponde al grupo amino, la banda de 1739.30 y 1634.43 al grupo ceto y al anión carboxilo respectivamente; mientras que la banda señalada a 1159.41 corresponde al grupo éter sin embargo las bandas punteadas a 1097.86 y 1237.25 comprueban la presencia del éter vinílico.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013

★ El espectro incluye las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción F-1



Espectro 18. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción F.

202 Grupo alquilo- general

204 Grupo alquilo- sustituyente de cadena larga

1416 Éster o ácido carboxílico sustituido hidroxilo

3504 Éster de ácido carboxílico- posiblemente arilo sustituido

3513 Éster de ácido carboxílico- general

4905 Compuesto carbonilo- clase 5 (Consulte diagrama de estructura PSU)

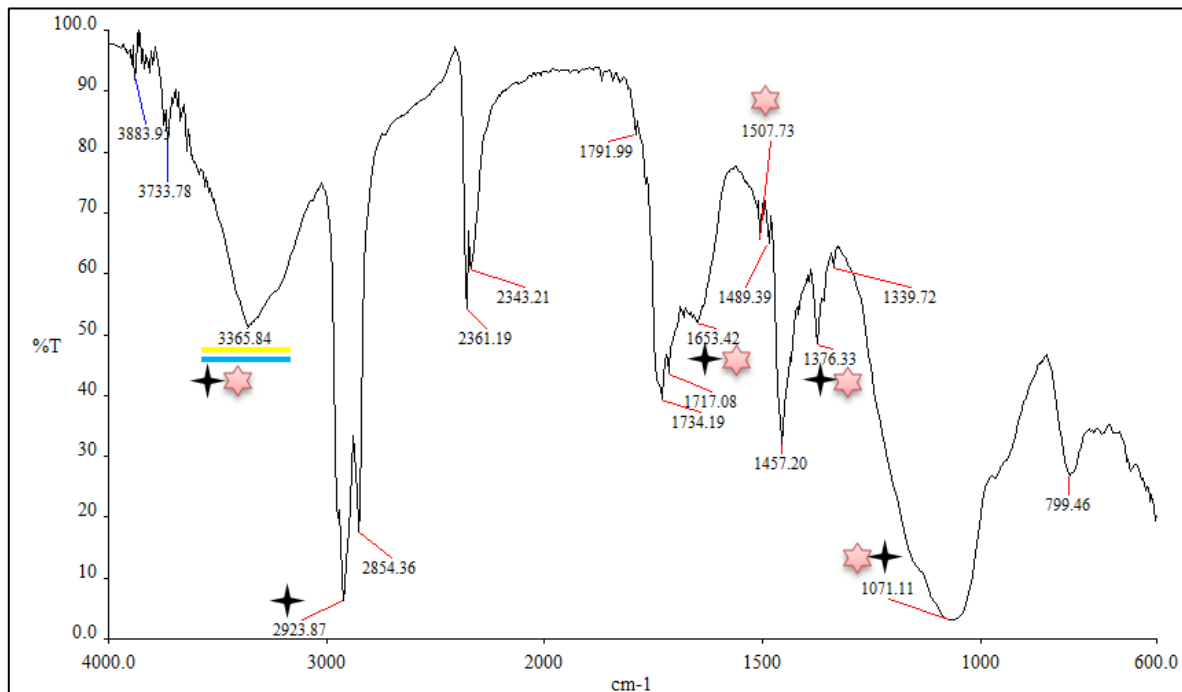
4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

En el espectro se observa una banda a 3360.49 correspondiente al grupo amino y característica de las aminas secundarias, la banda a 1743.88 y 1633.54 corresponden al grupo ceto y anión carboxilo respectivamente.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013; solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción G



**Espectro 19. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción G.**

202 Grupo alquilo- general

223 Grupo alquilo – hidroxí o posiblemente amino sustituyente

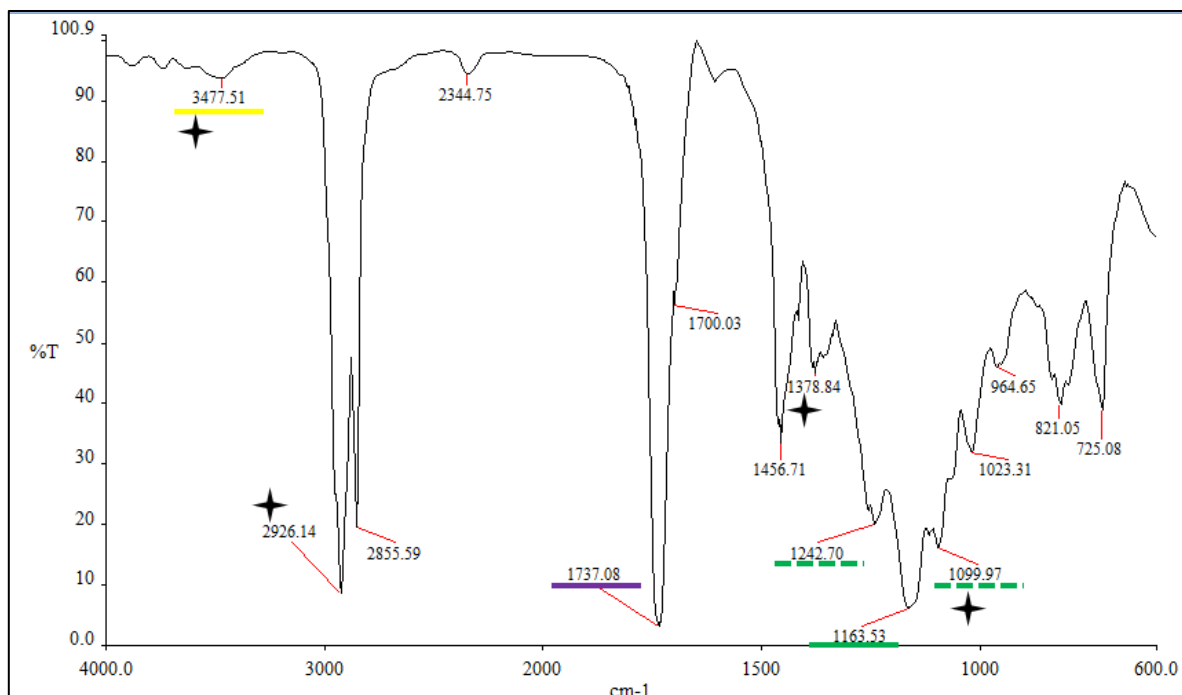
4904 Compuesto carbonilo- clase 4 (Consulte diagrama de estructura PSU)

En el espectro se observan diversas bandas de las cuales la banda a 3365.84 indica la presencia del grupo OH y confirma la presencia del grupo amino, sin embargo se presentan muchas otras bandas por lo que podemos concluir que se trata de otro metabolito.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013

★ El espectro incluye las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción H



Espectro 20. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción H.

201 Grupo alquilo- general

208 Grupo alquilo- sustituyente de metilo

1402 Éster de ácido carboxílico- posiblemente alifático

1413 Éster alifático- diéster o sustituyente de cadena larga

1420 Éster de ácido carboxílico- posiblemente conjugado

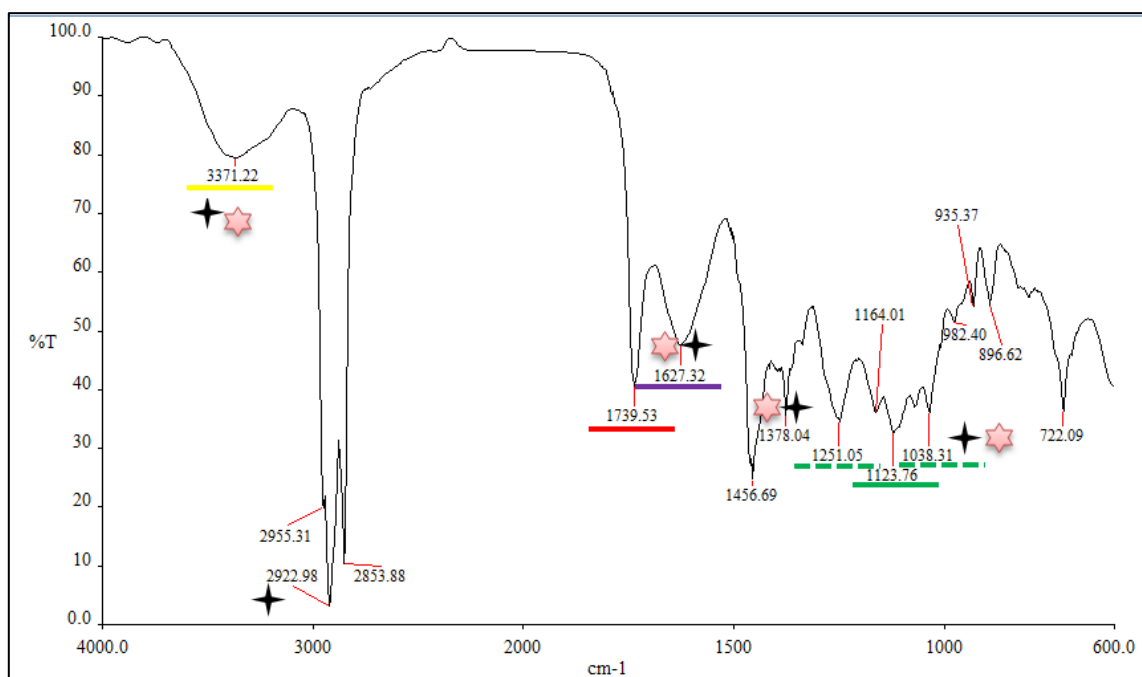
4905 Compuesto carbonilo – clase 5 (Consulte diagrama de estructura PSU)

4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

La banda que se observa a 3477.51 corresponde al grupo amino y debido a sus características de tamaño y forma se trata de una amina secundaria. La banda 1737.08 indica la presencia del grupo carboxilo y las banda a 1163.53 así como las dos bandas punteadas a su alrededor en 1099.97 y 1242.70 indican la presencia del éter vinílico.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013. Solo coinciden 4 de los 5 reportados.

## Espectro de la fracción I



**Espectro 21. Espectrofotometría infrarrojo de la fracción I.**

202 Grupo alquilo- general

205 Grupo alquilo- compuesto de cadena larga

601 Éter alifático o compuesto alkoxy- carbonilos sustituidos

2711 Éter arilo- sustitución general

3501 Éster de ácido carboxílico- posiblemente aromático, tipo benzoato

4916 Compuesto carbonilo- clase 16 (Consultar diagrama de estructura PSU)

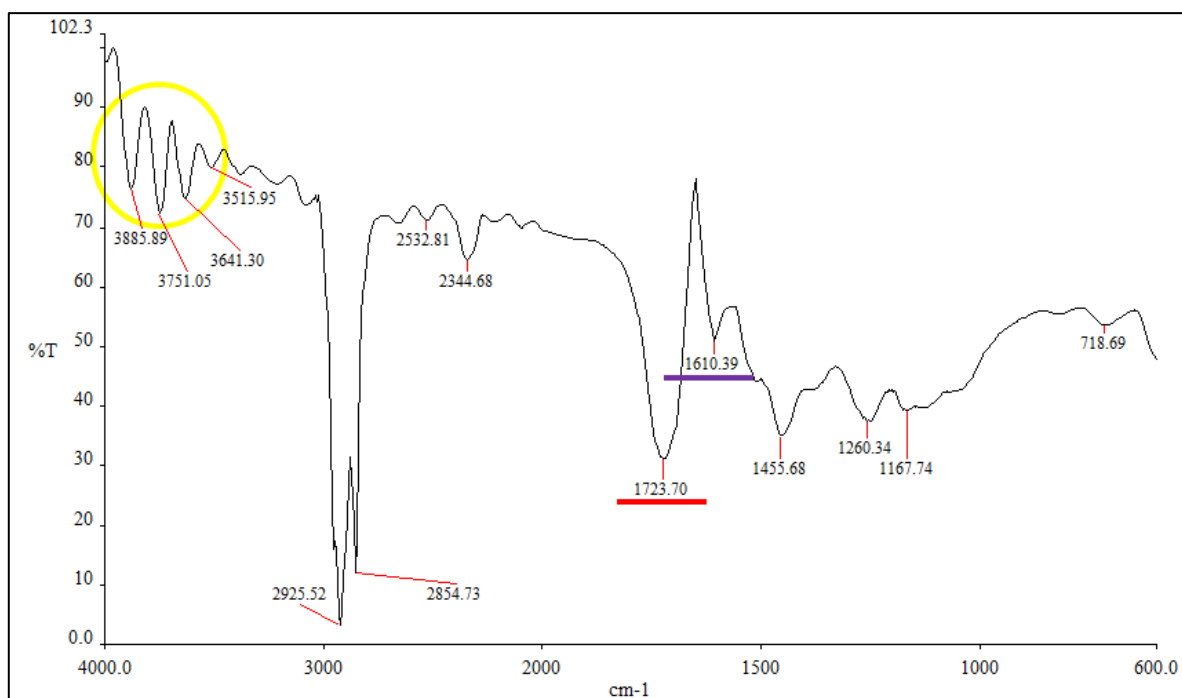
4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

La banda que se observa a 3371.21 corresponde al alcohol, mientras que las bandas 1739.53 y 1627.32 indica la presencia del grupo ceto y anión carboxilo respectivamente, y las banda a 1123.76 así como las dos bandas punteadas a su alrededor en 1038.31 y 1251.05 indican la presencia del éter vinílico.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013.

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción I-1



**Espectro 22. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción I-1.**

202 Grupo alquilo – general

401 Compuesto hidroxilo- grupo hidroxilo no ligado

1711 Amida terciaria alifática

1716 Amida terciaria alifática

4911 Compuesto carbonilo - clase 11 (Consulte diagrama de estructura PSU)

4913 Compuesto carbonilo -clase 13 (Consulte diagrama de estructura PSU)

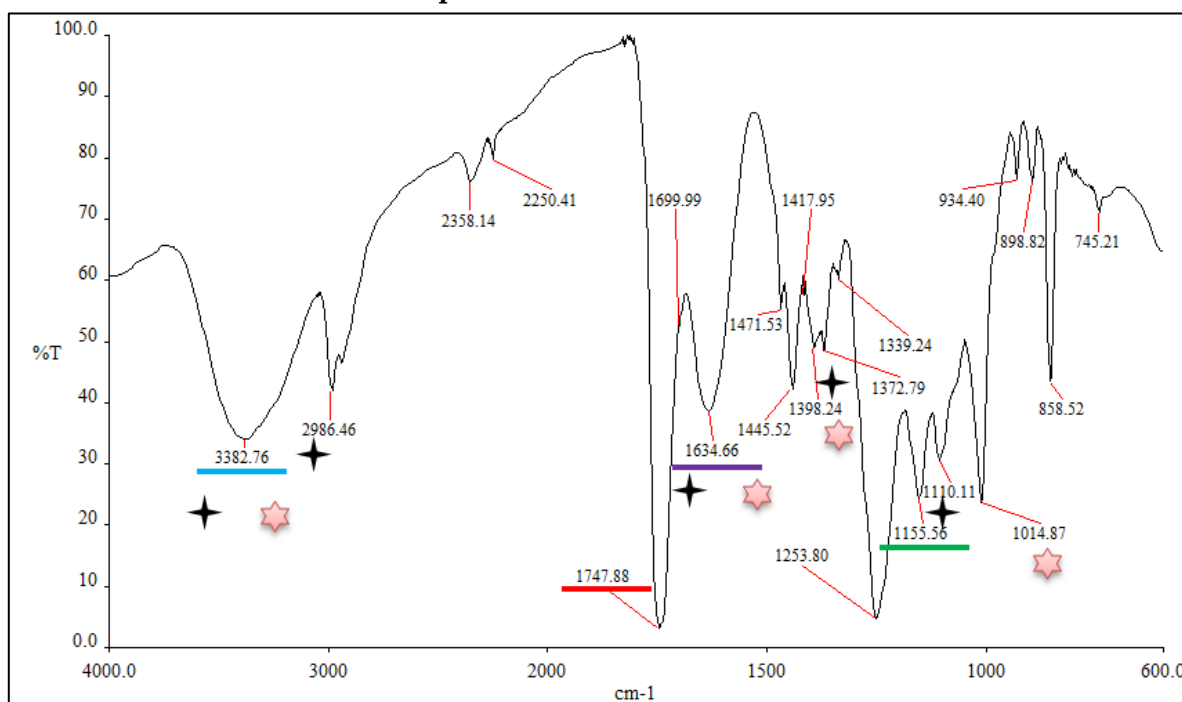
4916 Compuesto carbonilo -clase 16 (Consulte diagrama de estructura PSU)

4924 Compuesto carbonilo- cetona o posiblemente compuesto amida

La zona circulada en el espectro es una señal característica del grupo amino. Las bandas a 1723.70 y 1610.39 corresponden al grupo ceto y al anión carboxilo.

\*No coincide con lo reportado.

## Espectro de la fracción M



Espectro 23. Espectrometría de infrarrojo de la fracción M.

201 Grupo alquilo-general

1403 Éster de ácido carboxílico- posiblemente alifático

1407 Éster de ácido carboxílico- posiblemente acetato alifático

4916 Compuesto carbonilo- Clase 16 (Consulte diagrama de estructura de PSU)

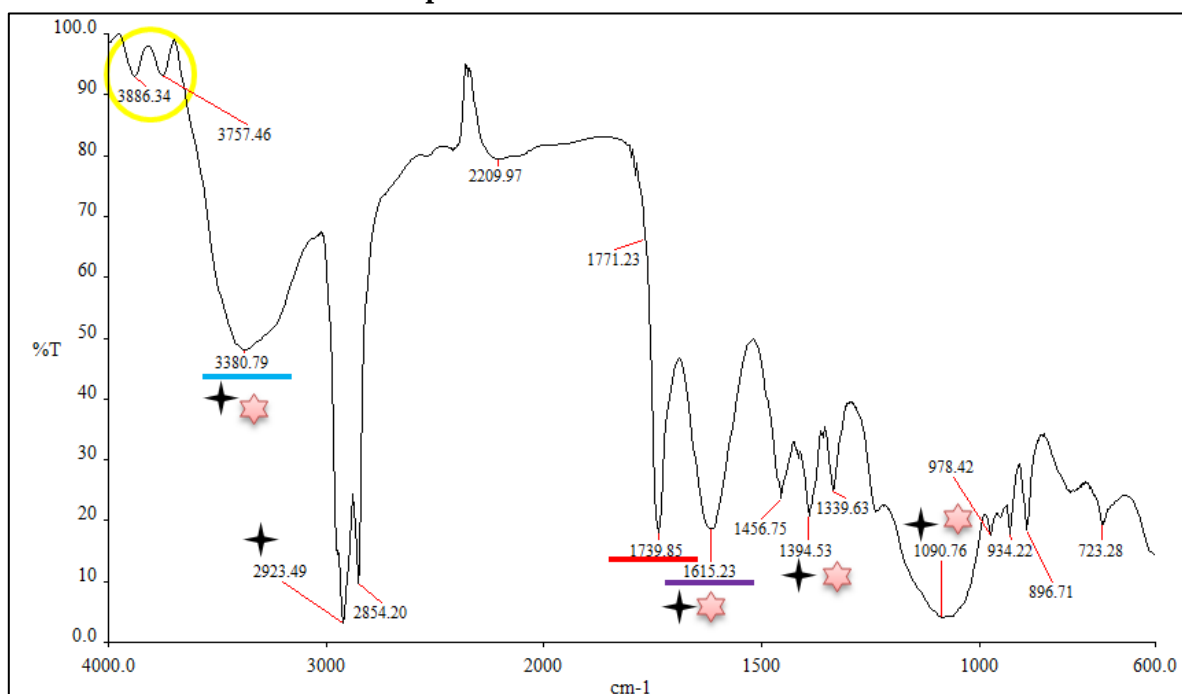
En este espectro se pueden observar varios picos sin embargo los que nos indican los grupos funcionales de interés son los siguientes: 3382.76 perteneciente al grupo OH, a 1747.88 del grupo ceto, a 1634.66 del anión carboxilo y a 1155.56 del grupo éter.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013. Solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas.

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.



## Espectro de la fracción M-1



Espectro 24. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción M-1.

202 Grupo alquilo-general

204 Grupo alquilo- sustituyente de cadena larga

402 Compuesto hidroxí o amino- general

405 Amino o posiblemente un compuesto hidroxí (Consulte diagrama de estructura PSU)

4911 Compuesto carbonilo- Clase 11 (Consulte diagram de estructura PSU)

4916 Compuesto carbonilo- Clase 16 (Consulte diagram de estructura PSU)

4925 Compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona.

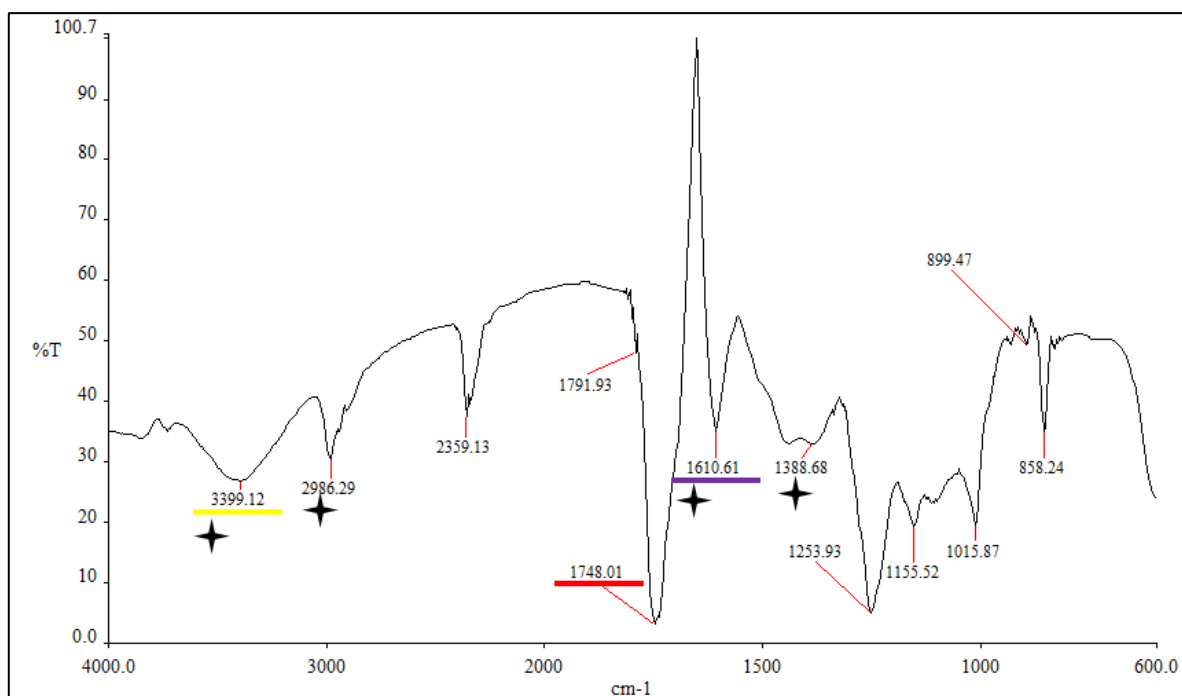
4926 Compuesto carbonilo- posiblemente cetona, amida o aldehído aromático

La zona circulada en el espectro con bandas a 3886.35 y 3757.46 corresponden al grupo amino por su forma se puede inferir que es una amina primaria; mientras que la banda a 3380.79 comprueba la presencia del amino y del OH. La banda a 1739.85 indica la presencia del grupo ceto y la de 1615.23 del anión carboxilo.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013. Solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas.

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción N-1



**Espectro 25. Spectrootometría de infrarrojo de la fracción N-1.**

201 Grupo alquilo- general

1711 Amida terciaria alifática

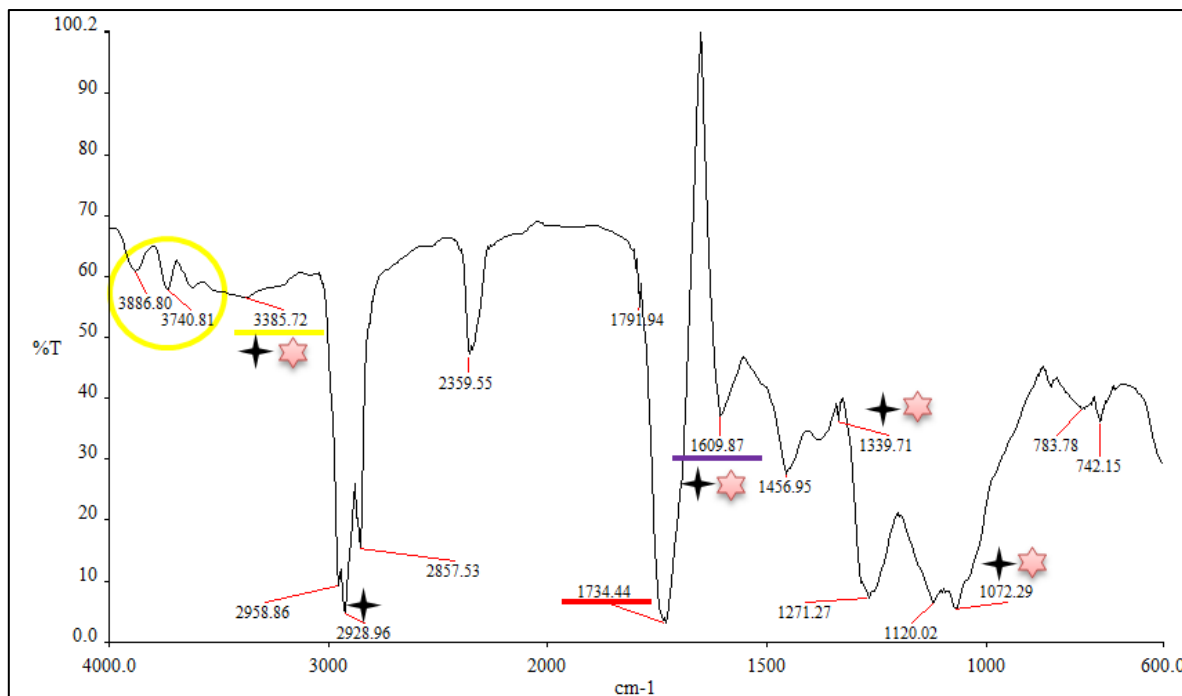
4916 Compuesto carbonilo- Clase 16 (Consulte diagram de estructura PSU)

4942 Compuesto carbonilo- cetona conjugada o amida terciaria

Las bandas marcadas en el espectro corresponden a grupo amino a 3399.12, el grupo ceto a 1748.01 y al anión carboxilo a 1610.61.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013. Solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas.

## Espectro de la fracción O



Espectro 26. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción O.

201 Grupo alquilo-general

203 Grupo alquilo- posiblemente sustituyente de cadena corta

3103 alifático conjugado o cetona aromática.

4916 Compuesto carbonilo- Clase 16 (Consulte diagram de estructura PSU)

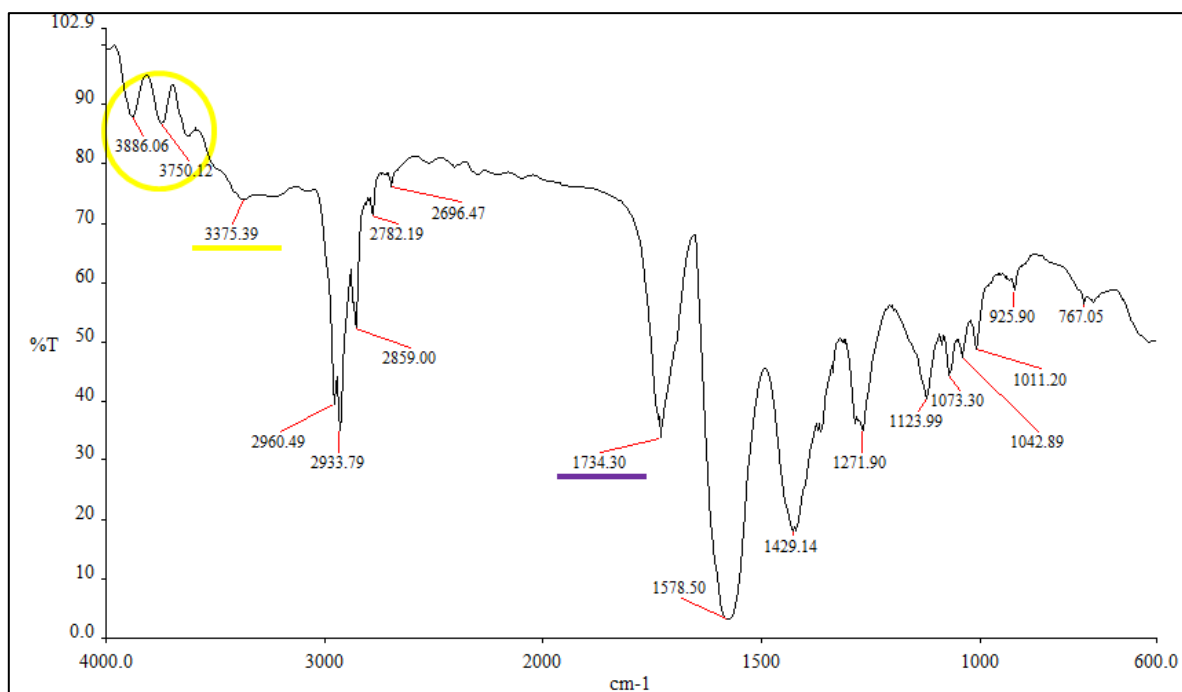
4925 compuesto carbonilo- posiblemente éster o cetona

La zona circulada en el espectro con bandas a 3886.80 y 3740.81 corresponden al grupo amino por su forma se puede inferir que es una amina primaria; mientras que la banda a 3385.72 comprueba la presencia del mismo, así como del grupo carboxilo. La banda a 1734.44 indica la presencia del grupo ceto y la de 1609.87 del anión carboxilo.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013.

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyra-334 en Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción P



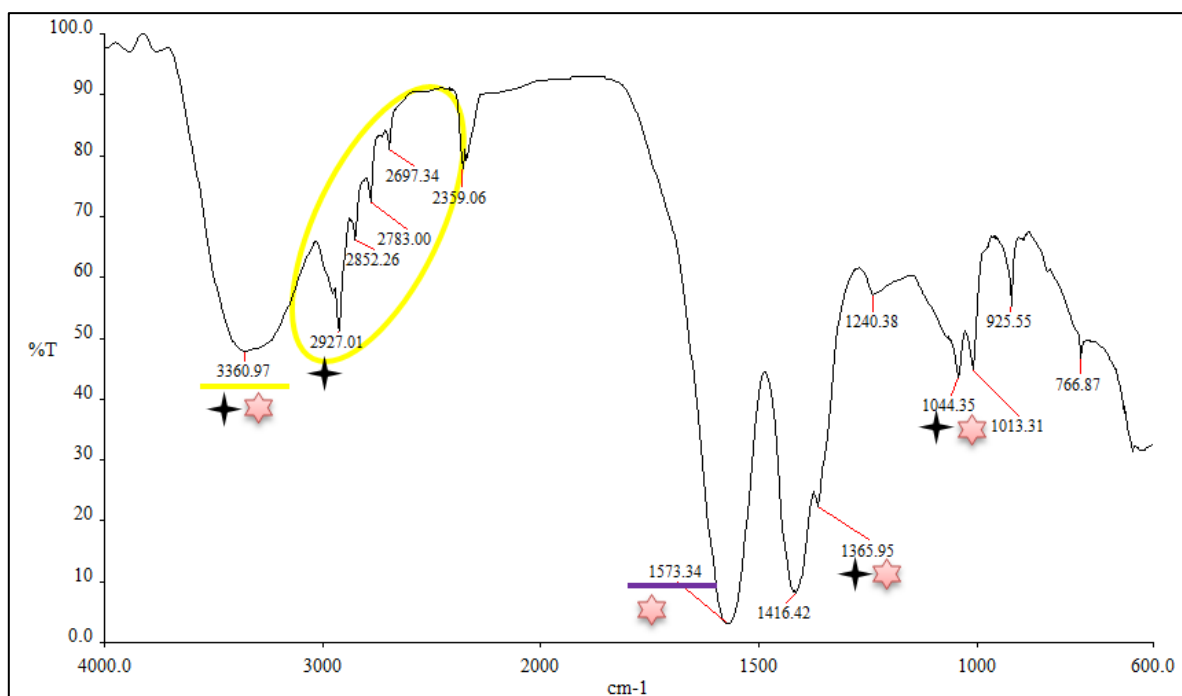
**Espectro 27. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción P.**

201 Grupo alquilo-general

La zona circulada en el espectro con bandas a 3886.06 y 3750.12 corresponden al grupo amino por su forma se puede inferir que es una amina primaria; mientras que la banda a 3366.10 comprueba la presencia del mismo, mientras que la banda a 1734.30 indica la presencia del grupo carboxilo.

No coincide con la literatura.

## Espectro de la fracción P-1



Espectro 28. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción P-1.

201 Grupo alquilo-general

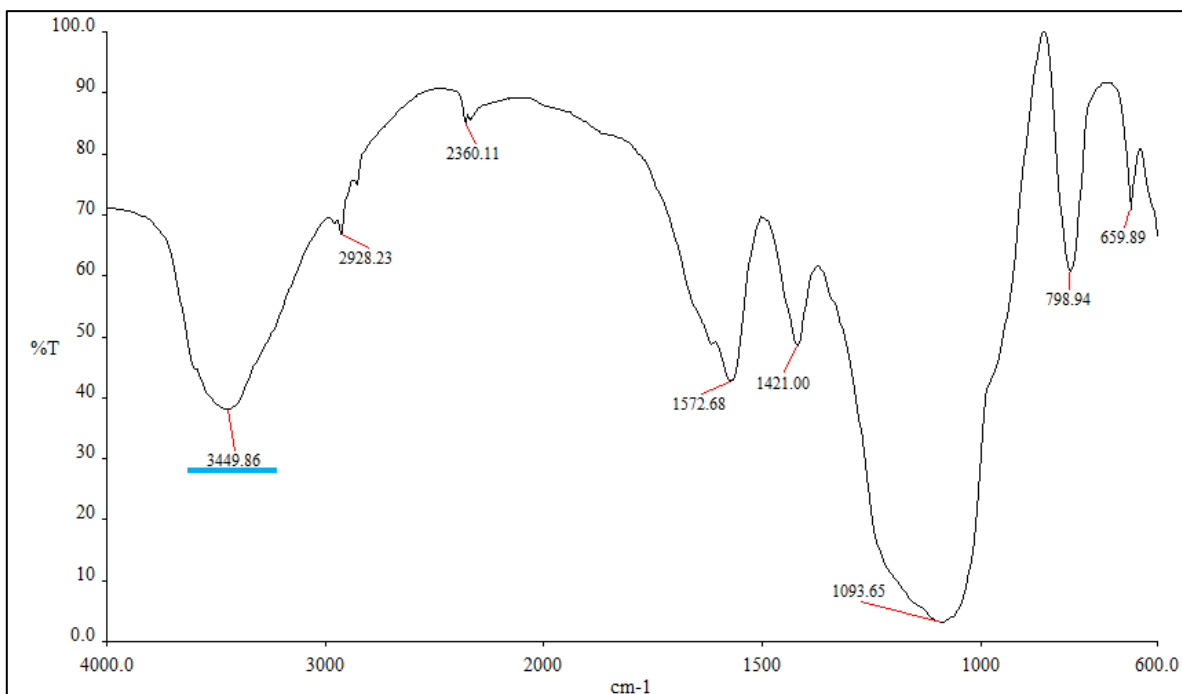
4702 Sal de ácido carboxílico-posiblemente acetato

La banda a 3360.97 y la zona circulada son características del grupo amino, mientras que la banda a 1573.34 corresponde al grupo carboxilo.

★ Indican grupos funcionales característicos de las MAAs reportadas en Garvita et al, 2013. Solo coinciden 4 de las 5 bandas reportadas.

★ El espectro incluye 4 de las 5 bandas reportadas para porphyrin-334 en Avital et al, 2006.

## Espectro de la fracción Q



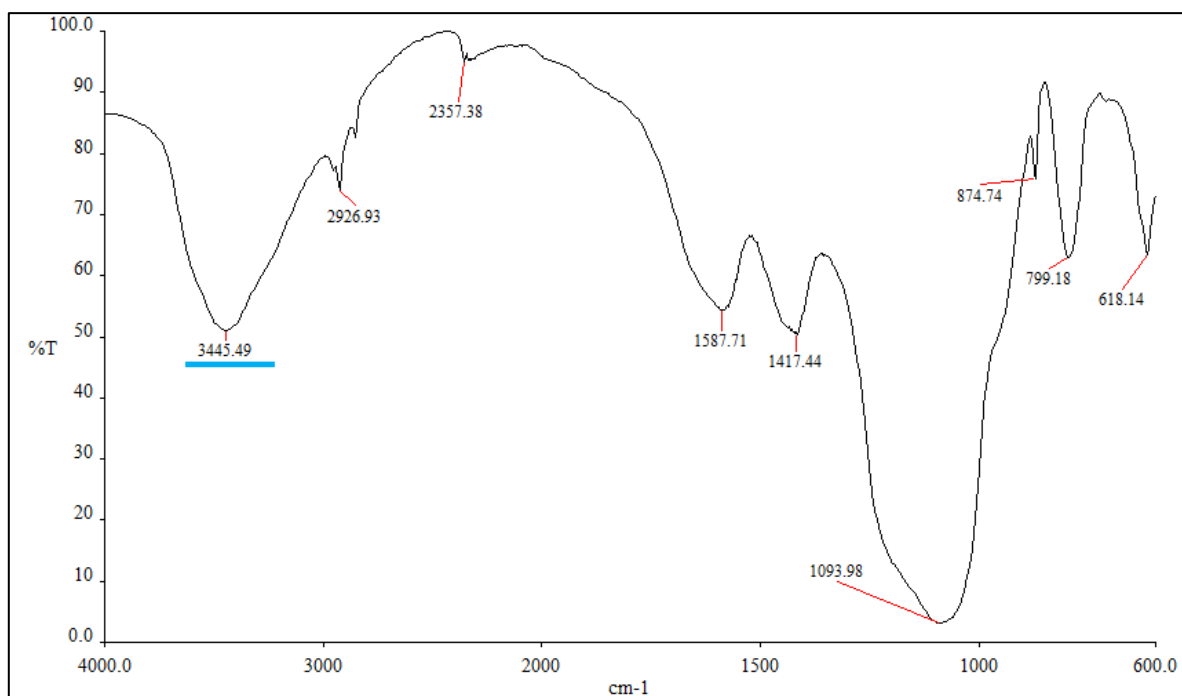
**Espectro 29. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción Q.**

402 Compuesto amino o hidroxigeneral

En este espectro se observa una banda a 3449.86 la cual corresponde al grupo hidroxilo.

\*No coincide con la literatura citada.

### Espectro de la fracción R



**Espectro 20. Espectrofotometría de infrarrojo de la fracción R.**

No se encontraron PSUs relevantes.

En este espectro solo se observa una banda a 3449.86 la cual corresponde al grupo OH.

No coincide con la literatura.