

Bio prospección de actinobacterias de la Ciénega de Sisal, Yucatán

Carlos D. Hernández-Granillo^a, Alejandra Prieto-Davó^b, Mario Figueroa^{a*}

^aDepartamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, CDMX, 04510, México. ^bUnidad de Química SISAL, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Sisal, Yucatán, 97356, México.

*mafiquer@unam.mx

Palabras clave: Actinobacterias, antimicrobianos, productos naturales, metabolómica.

Introducción

Los ecosistemas acuáticos son extremadamente complejos y contienen una gran diversidad de formas de vida. Dentro de éstos, la composición química del agua y la disponibilidad variable de nutrientes, han causado que los organismos que los habitan desarrollen mecanismos de defensa química muy avanzados¹. Es por lo anterior y por la gran diversidad de microorganismos de la península de Yucatán que este trabajo busca explorar su potencial químico en busca de nuevas entidades químicas con potencial antimicrobiano².

Metodología

Las bacterias fueron proporcionadas por la Dra. Alejandra Davó, investigadora de la Unidad de Química-Sisal, FQ, UNAM. Fueron aisladas de distintos cenotes en la Reserva Estatal Geohidrológica Anillo de Cenotes (REGAC).

Cultivo, identificación y extracción: Se eligieron 9 bacterias del consorcio proporcionado y se cultivaron en 0.5 L de medio ISP2 y DSC -ASW por 7 días a 120 rpm, TA y fotoperiodos 12/12 h. Los extractos de la biomasa y el sobrenadante de cada bacteria se obtuvieron con AcOEt y MeOH, respectivamente. La identificación de las bacterias se realizó mediante el análisis la región 16S ARNr.

Actividad antimicrobiana: Los 72 extractos obtenidos se sometieron a un ensayo de actividad antimicrobiana contra una serie de bacterias patógenas del grupo ESKAPE (*E. faecalis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *K. aerogenes*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*). Las concentraciones de prueba fueron 20 y 200 µg/mL y se empleó el MTT como agente revelador. Los organismos más activos se cultivaron en mediana escala (20×).

Fraccionamiento y purificación: Los extractos en mediana escala se fraccionaron mediante cromatografía de tipo flash o mediante SPE, empleando mezclas entre H₂O-MeOH-acetona en pasos de polaridad decreciente. Las fracciones obtenidas se evaluaron en el mismo ensayo antes descrito y se purificaron aquellas de mayor actividad mediante HPLC a nivel preparativo (C₁₈) o por cromatografía de columna abierta (Si-gel).

Caracterización de los compuestos puros: Los compuestos aislados fueron caracterizados mediante el análisis de sus espectros de HRMS y de RMN mono y bidimensionales.

Estudios de metabolómica. A partir de los datos de UPLC-PDA-HRESIMS-MS/MS de los extractos de las 3 bacterias seleccionadas, se realizó el análisis metabolómico por redes moleculares empleando la plataforma GNPS y las herramientas Derreplicator+ y MolNetEnhancer.

Resultados y discusión

De los 72 extractos obtenidos de las 9 bacterias de prueba, tres mostraron actividad de inhibición total a alguna de las concentraciones de prueba contra *S. aureus* resistente y sensible a

metilicina (MRSA y MSSA) y a *E. faecalis*. Estos organismos fueron identificados como actinobacterias pertenecientes a los géneros *Glutamicibacter* (G) *Streptomyces* (S) y *Nocardiosis* (N) (Figura 1). A partir de las fracciones activas de los extractos en mediana escala del organismo G, se aislaron los ácidos cólicos **1-4** (Figura 1). De las actinobacterias S y N se aislaron otros metabolitos cuya estructura molecular se encuentran en proceso de caracterización. Finalmente, el análisis metabolómico por de redes moleculares de las bacterias G y S reveló estos organismos contienen numerosos compuestos de naturaleza lipídica, aminoácidos, ácidos mono-, bi- y tetra-carboxílicos, fenilpropanoides, policétidos, entre otros metabolitos previamente reportados³.

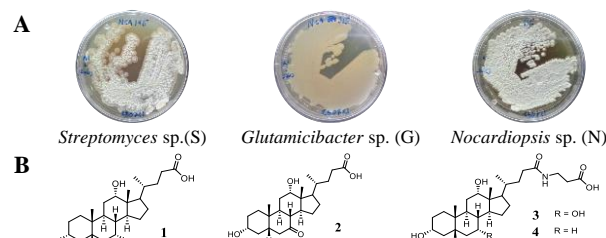


Fig. 1 (A) Bacterias de estudio. (B) Compuestos aislados de la actinobacteria G.

Conclusiones

El estudio químico de los extractos activos contra patógenos del grupo ESKAPE de tres actinobacterias aisladas de cenotes en la REGAC, permitió identificar cuatro ácidos cólicos mayoritarios de presencia inédita en este tipo de organismos, además de otros compuestos bioactivos que se encuentran en proceso de caracterización. La investigación bibliográfica sugiere que este es el primer reporte de *Glutamicibacter* sp. como bacteria con potencial antimicrobiano. Por otra parte, los análisis metabolómicos por redes moleculares permitieron conocer la diversidad química de los metabolitos secundarios producidos por estas bacterias, y que está en armonía con el potencial de las actinobacterias para producir entidades químicas con potencial antimicrobiano.

Agradecimientos

MF a la UNAM DGAPA-PAPIIT IN222220 y la FQ-PAIP 5000-9145. CDHG agradece al CONACyT (1059306).

Referencias

- Hagström, Å.; Pommier, T.; Rohwer, et al. *Appl. Environ. Microbiol.* **2002**, 68 (7), 3628–3633.
- Fajardo-Hernández, C. A.; Khan, F. S. T.; Flores-Bocanegra, L. et al. *ACS Omega* **2022**, 7 (14), 12171–12185.
- Crevelin, E. J.; Crotti, A. E. M.; Zucchi, T. D. et al. *J. Mass Spectrom.* **2014**, 49 (11), 1117–1126.