

# **IDENTIFICACION DE UNA FAMILIA NUEVA DE ALCALOIDES 2-AMINOIMIDAZOL (TERRAZOANTHINES) AISLADOS DEL ZOANTHIDO TERRAZOANTHUS ONOI Y LA IMPORTANCIA DE LA METABOLOMICA EN LA IDENTIFICACION DE NUEVAS ESPECIES**

**Presentado Por:**

**Paúl O. Guillén MSc**

**Quito, 31 de Enero del 2017**

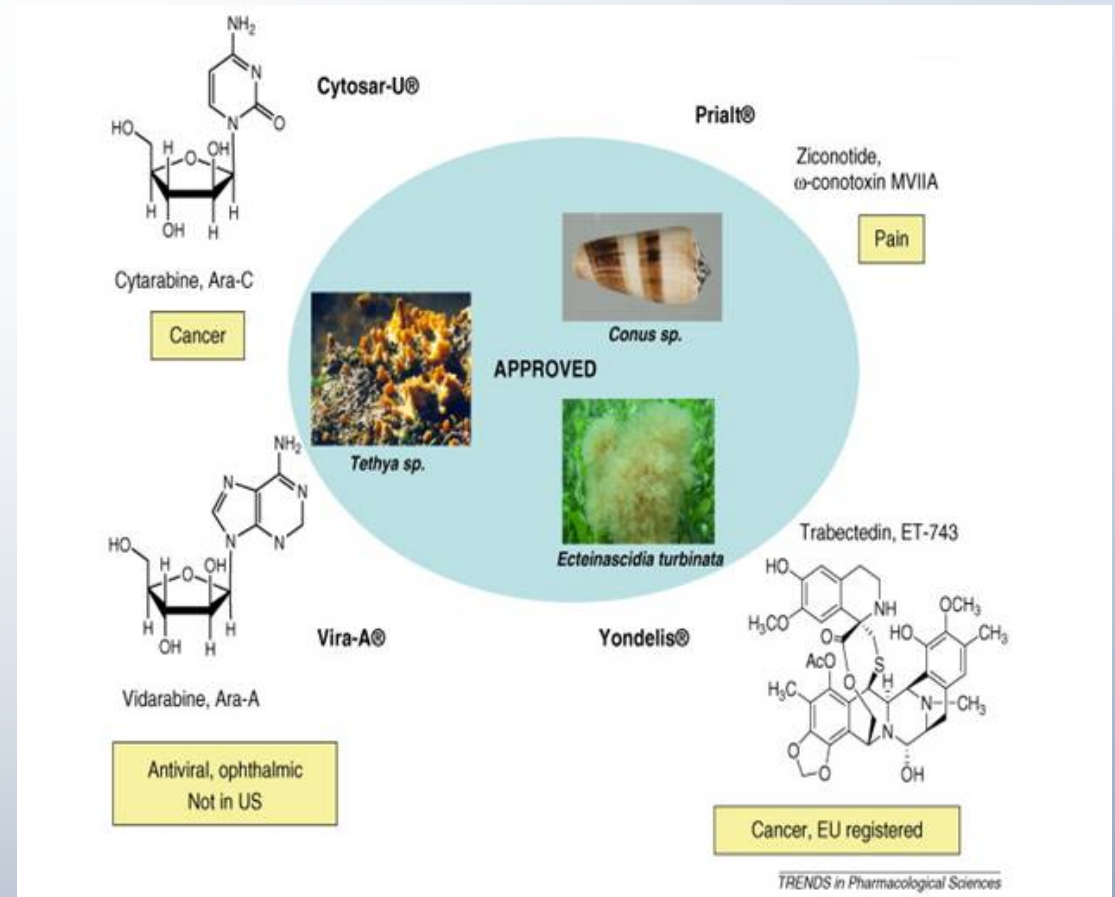
# INTRODUCCION

Los Productos Naturales Marinos son únicos por las siguientes razones:

- El ambiente en el que se evolucionan son diferentes a los organismos terrestres.
- Interesante diversidad química.

Un significativo numero de nuevas moléculas bioactivas han sido descubiertas.

- Ecteinascidin
- Didemnin B
- Dolastin-10
- Halichondrin B
- Bryostatin-1
- Aplidin

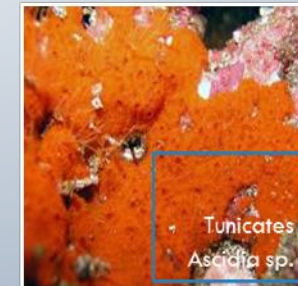




# BIODIVERSIDAD MARINA DEL ECUADOR

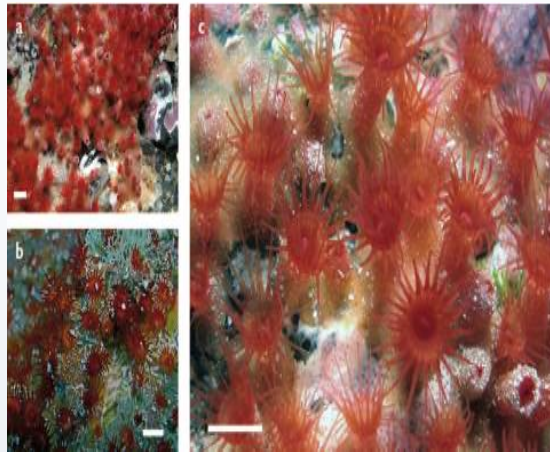


Proyecto PIC-14-  
CENAIM-001  
“**Caracterización  
de la  
Biodiversidad de  
Microorganismos  
e Invertebrados  
de la Reserva  
Marina EL Pelado  
a escala  
Taxonómica,  
Metabólica y  
Metagenómica  
para su aplicación  
en salud humana  
y animal**”  
Financiado por la  
SENESCYT



# Terrazoanthus onoi

- Descrito por primera vez por Reimer & Fujii en las Islas Galápagos (Isla Española) en el 2010.
- Pertenece a la familia Hydrozoanthidae y al nuevo genero Terrazoanthus
- Ampliamente distribuida en los Oceanos Indico y Pacifico.
- Se encuentra en zonas tropicales y sub-tropicales sobre substratos rocosos (terra=roca).



- Zoantharians son unas de las especies de invertebrados mas representativos de la Costa Ecuatoriana.
- Identificar potenciales marcadores quimico-taxonomico útiles para la clasificación de Zoantharians
- Identificar moléculas con potencial actividad en salud humana y animal

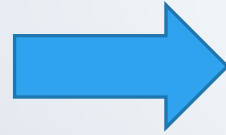




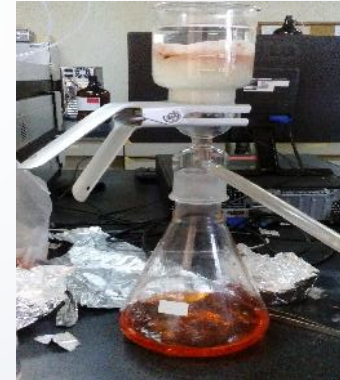
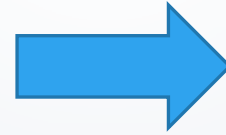
# METODOLOGIA



Muestra liofilizada (30g)



Extracción  
MeOH:DCM 1:1  
x 3 veces



Vacuum Liquid  
Chromatography  
(VLC)



- 1) H<sub>2</sub>O
- 2) H<sub>2</sub>O:MeOH 1:1
- 3) H<sub>2</sub>O:MeOH 1:3
- 4) MeOH
- 5) MeOH:DCM 3:1
- 6) MeOH:DCM 1:1
- 7) DCM



LC/MS



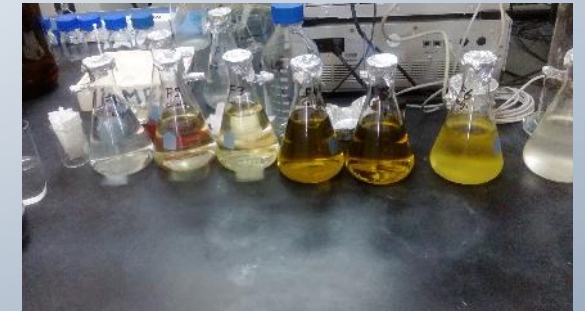
NMR



HPLC



UPLC-ELSD

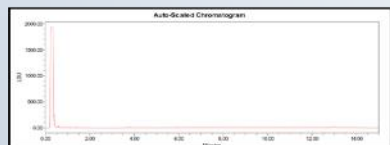


Fracciones obtenidas en  
VLC

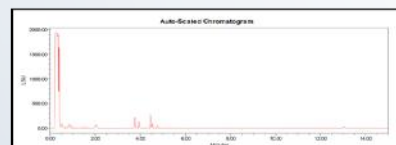
*Terrazoanthus onoi*  
(30g)

VLC

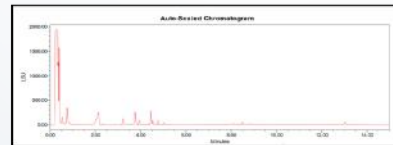
F2



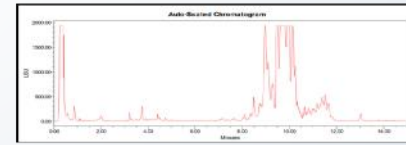
F3



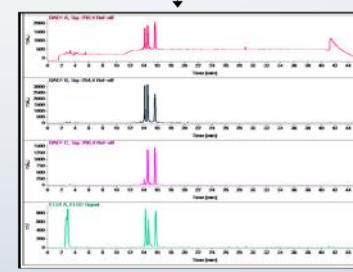
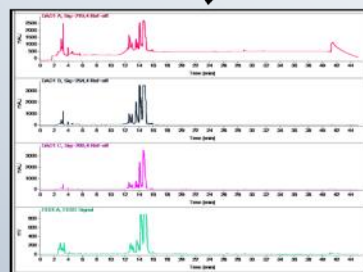
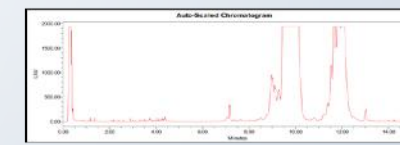
F4



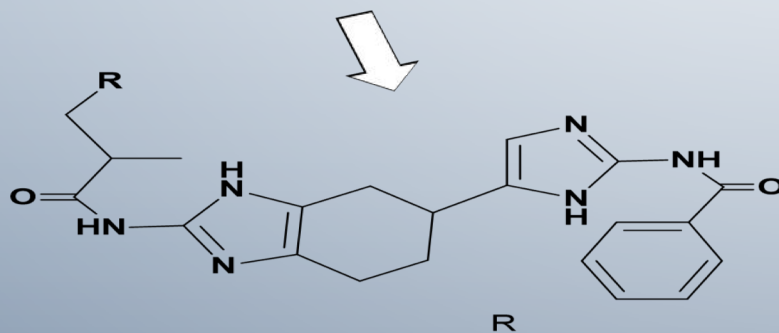
F5



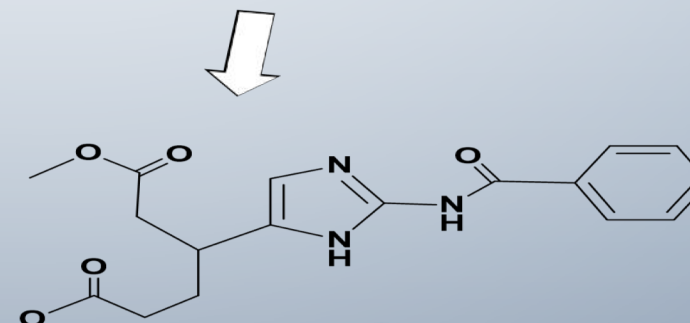
F6



Isolation of compounds were obtained using a semi-prep HPLC XSelect® CSH™ Phenyl-Hexyl 5 μm (250x10mm Column)



Terrazoanthine A (1) CH<sub>3</sub>  
Terrazoanthine B (2) H



Terrazoanthine C (3)

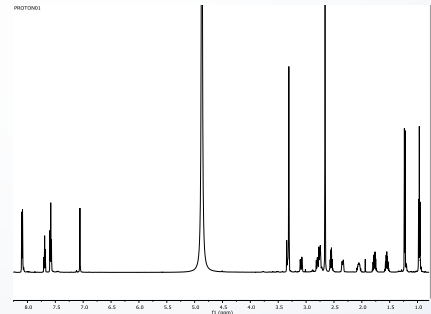


# DETERMINACION DE ESTRUCTURA QUIMICA

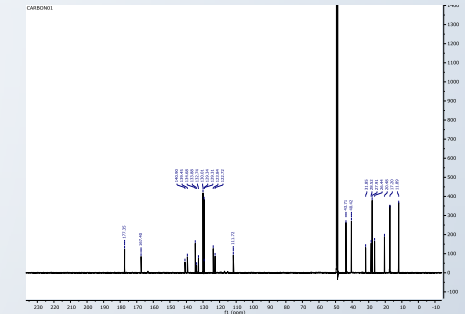
## RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR (NMR)

- $^1\text{H}$  NMR
- $^{13}\text{C}$  NMR

1D NMR

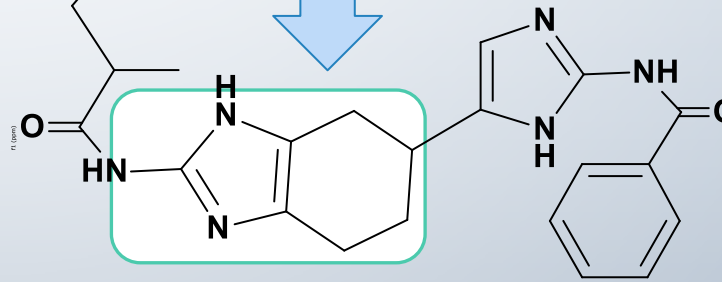


$^1\text{H}$  NMR



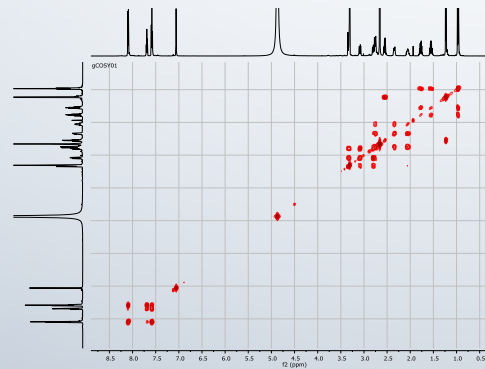
$^{13}\text{C}$  NMR

Nueva familia de alcaloides 2-aminoimidazole

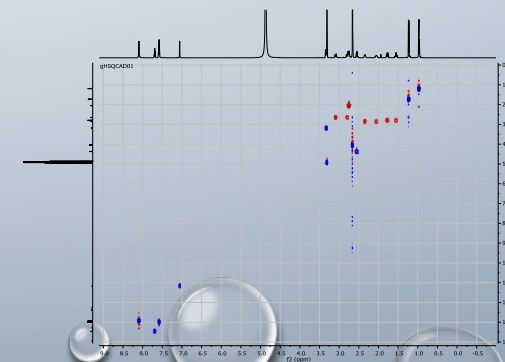
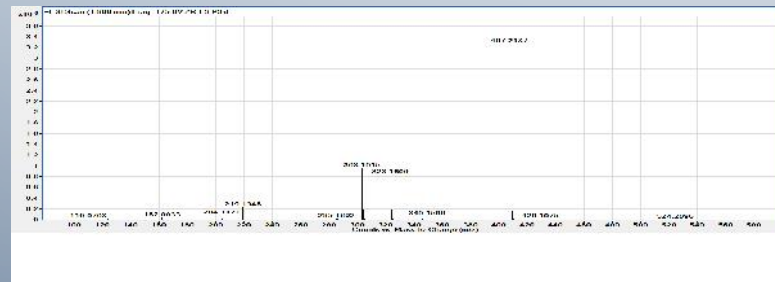


- GCOSY
- GHSQC
- GHMBC

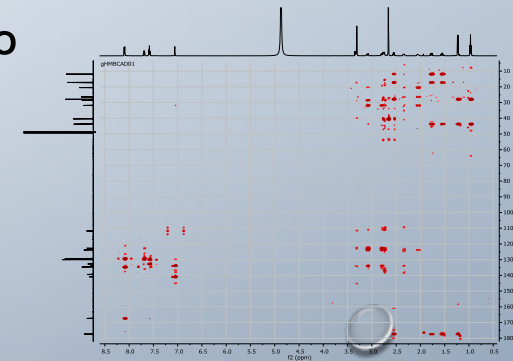
2D NMR



COSY



HSQC

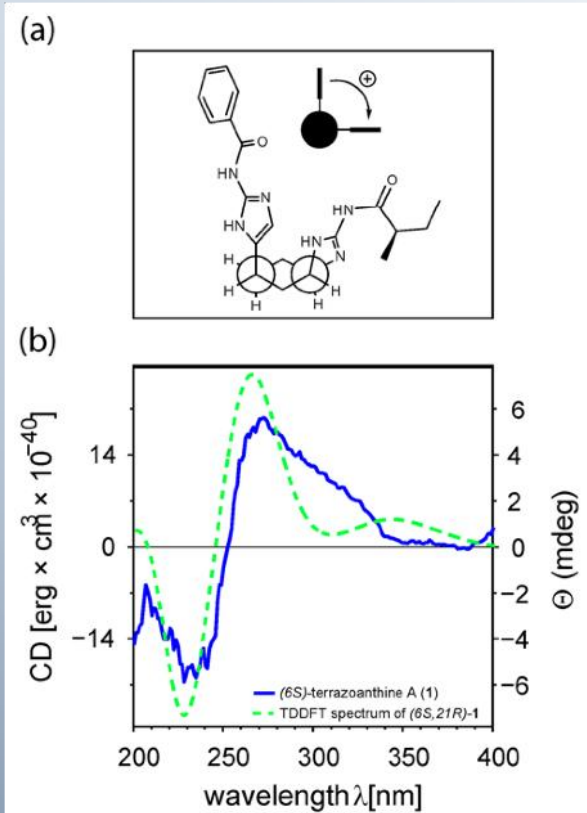


HMBC

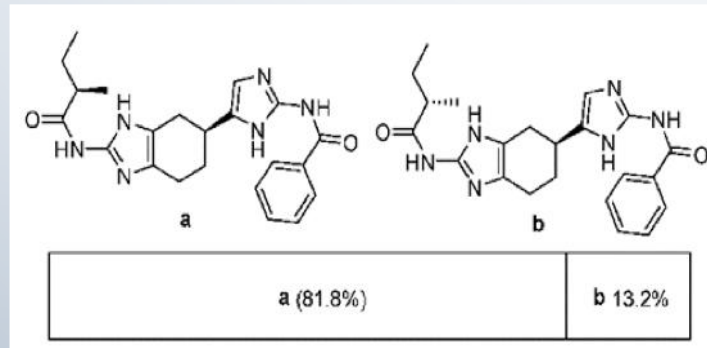
ESPECTROMETRO DE MASAS

# OTROS ENSAYOS

## CONFIRMACION ABSOLUTA DE LA ESTRUCTURA (ECD)



Comparison between the experimental (line) and theoretical (dashed) ECD spectra of **1**

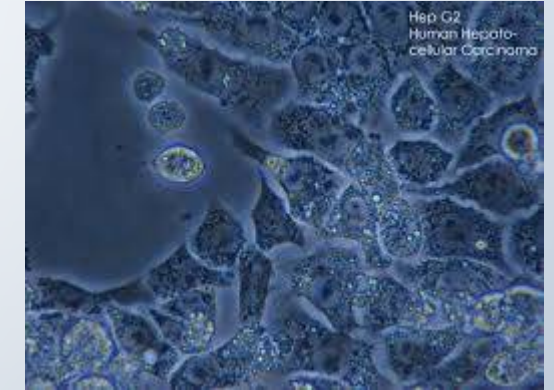


DP4 probabilities for both diastereoisomers of **1**

## PRUEBAS DE BIOACTIVIDAD



Antimicrobial



Human cancer liver cell Heg2

## FUTUROS ENSAYOS

- Pruebas contra diferentes células cancerígenas
- Inhibidores de Acetilcolinesterasa (Zoantoxantinas han mostrado resultados prometedores)



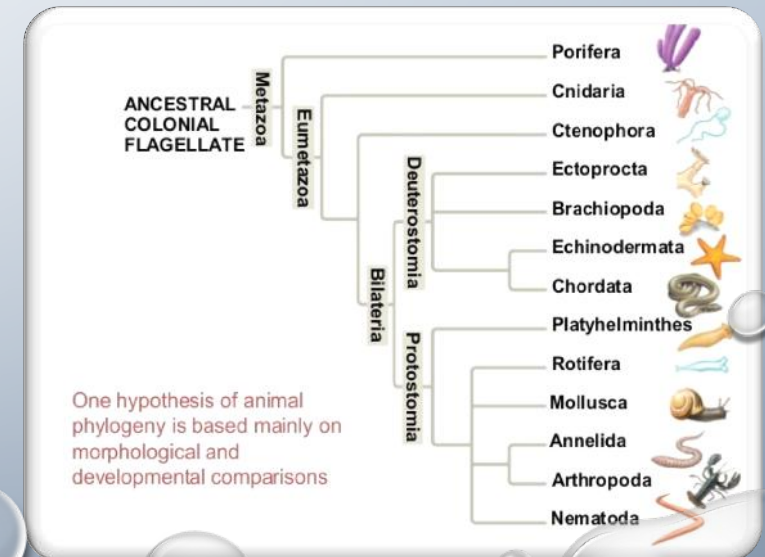
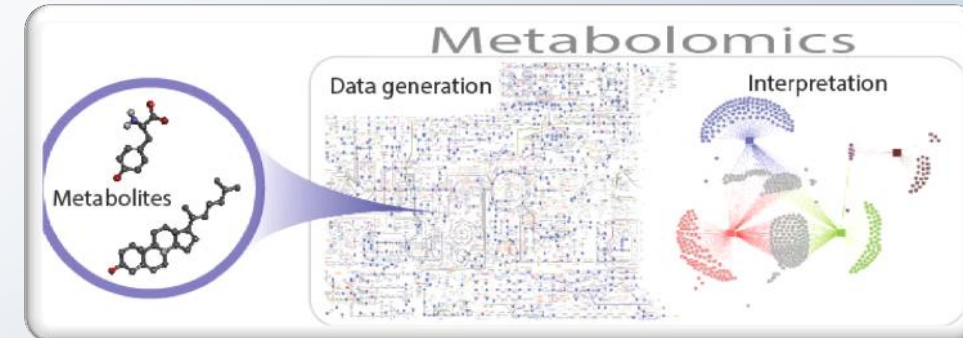
# METABOLOMICA

- Es la ciencia que se encarga del estudio y comparación de los metabolitos (moléculas de bajo peso molecular) presentes en una célula, tejido u organismo.
- Se utiliza Tecnologías Analíticas sofisticadas con la aplicación de métodos estadísticos y multivariantes para la extracción e interpretación de la información.
- Caracteriza metabolitos secundarios mediante la medición simultánea de la mayor cantidad de compuestos de bajo peso molecular existentes.
- Rápida detección, caracterización e identificación de compuestos producidos por un organismo, especialmente cuando se tiene poco conocimiento sobre la naturaleza química del organismo bajo estudio.



# IMPORTANCIA DE LA METABOLÓMICA EN TAXONOMIA

- Muestran especificidad en diferentes niveles taxonómicos
- Considerados como biomarcadores taxonómicos
- Es una herramienta complementaria a los estudios morfológicos y/o genéticos
- Pueden servir como indicadores de cambios ambientales a corto plazo en estudios ecologistas.
- Existe poca información sobre el metaboloma de diversos organismos





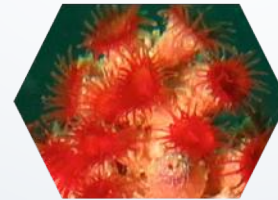
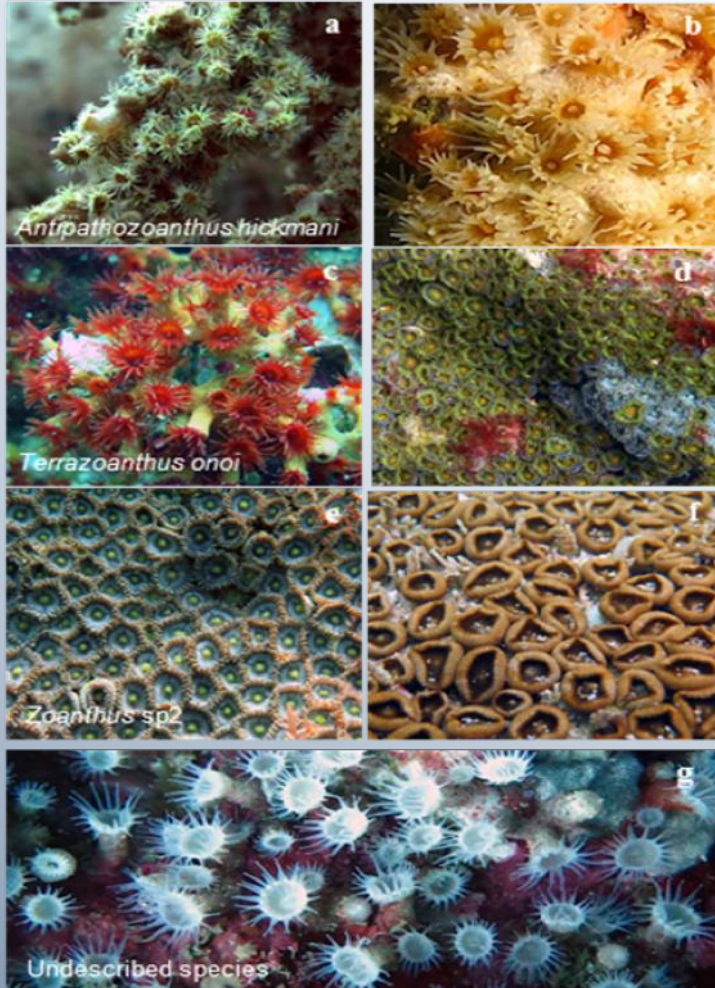
# ESTUDIO TAXONÓMICO Y METABOLOMICO DE ZOANTHARIANS

- Su taxonomía es muy compleja debido a la falta de caracteres morfológicos.
- Técnicas de Biología Molecular han ayudado a aclarar las relaciones en altos niveles taxonómicos dentro del mismo orden.
- Sin embargo, existen inconvenientes debido a la limitada resolución de marcadores de ADN que se utilizan actualmente.
- El uso de la Metabolómica mostro que puede ser una herramienta de gran ayuda en distinguir invertebrados marinos cercanamente relacionados (esponjas marinas o morfo tipos de zoantharians)
- Existe escaso estudio sobre la diversidad de Zoantharians en la costa del Pacifico Ecuatoriano.



# METABOLOMICA DE ZOANTHARIANS

## MUESTRAS



6 replicas de la misma especie



Fractionation by C<sup>18</sup> SPE with H<sub>2</sub>O, MeOH, Dichloromethane

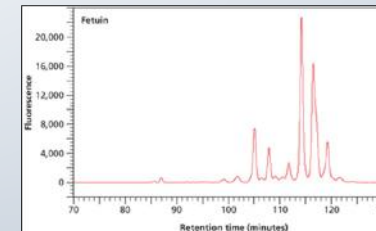
## METODOLOGIA



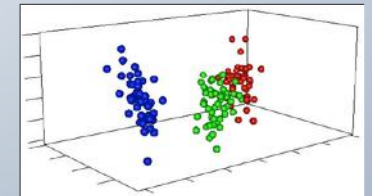
Liofilizacion de las muestras



Extraccion de Metabolitos DCM/MeOH 1:1



Methanol fractions were analyzed by UHPLC-Q ToF



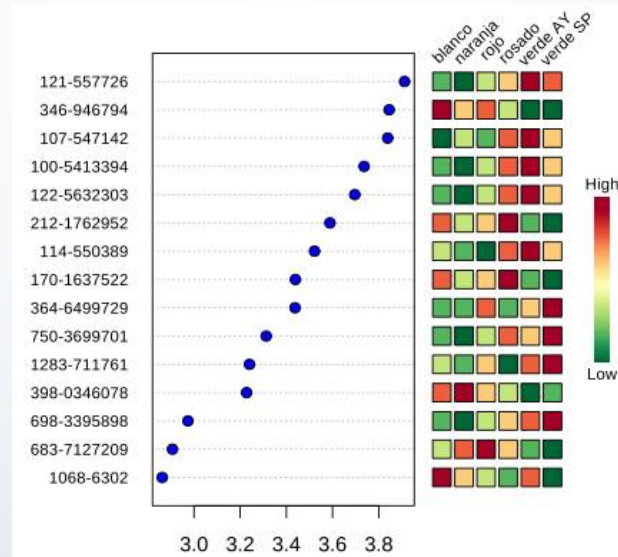
Data analyses (msconvert, R/XMS, MetaboAnalyst softwares)



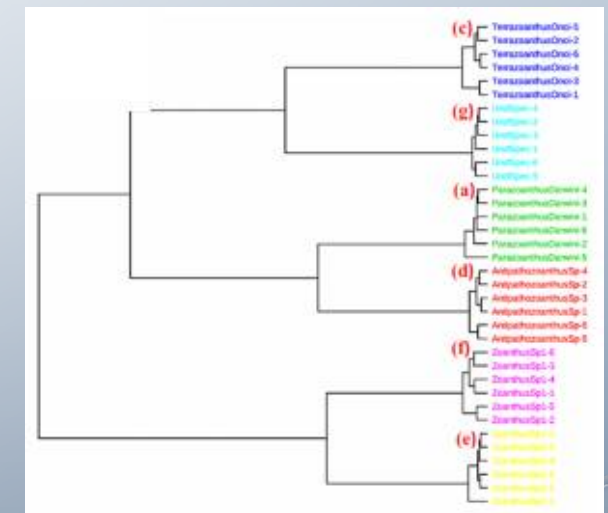
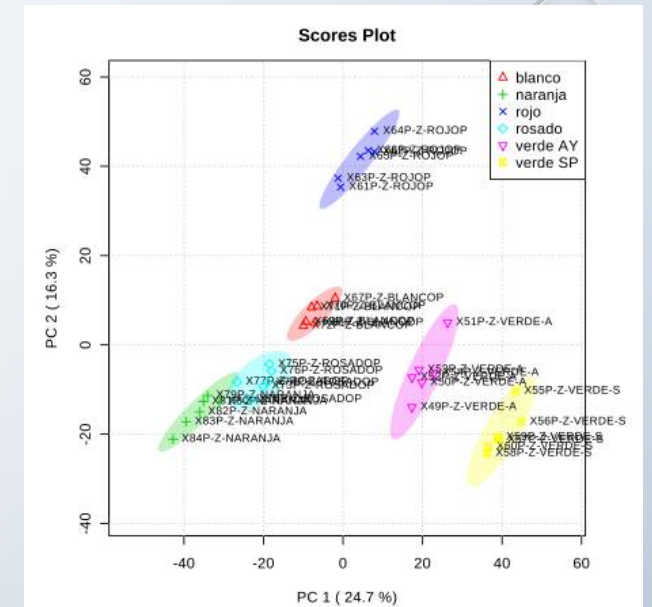
# RESULTADOS

El estudio Metabolómico de estas 6 especies de zoantharians demuestra las similitudes y diferencias entre las especies analizadas.

Como resultado interesante nos indica que una especie no descrita pudiera estar relacionada con *Terrazoanthus onoi*



Concentración relativa de los correspondientes metabolitos en cada grupo de estudio



# CONCLUSIONES

El estudio de la Biodiversidad marina del Ecuador tanto biológica como química necesita ser estudiada a profundidad.

Debido a la gran biodiversidad existente en el ambiente marino ecuatoriano, las posibilidades de encontrar especies no identificadas es alta lo que requiere de atención de los investigadores ecuatorianos.

Existe gran potencial de identificar metabolitos secundarios nuevos con gran potencial bioactivo para ser utilizadas en salud humana y animal dentro de las diversas especies de invertebrados marinos que habitan las costas ecuatorianas.

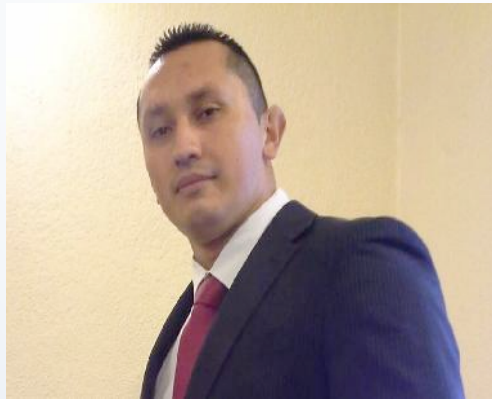
Establecer cooperación con centros de investigación y universidades tanto nacionales y/o extranjeras para fortalecer los resultados de la investigación.



# EQUIPO DE INVESTIGACION



Jenny Rodriguez PhD



Paúl O. Guillén MSc.



Blga. Karla B. Jaramillo



Prof. Olivier P. THOMAS



Gregory Genta-Jouve PhD

***“ALL THAT MAN NEEDS FOR HEALTH AND  
HEALING HAS BEEN PROVIDED BY GOD IN  
NATURE, THE CHALLENGE OF SCIENCE IS TO  
FIND IT.”***



PHILIPPUS AUREOLUS THEOPHRASTUS BOMBASTUS PARACELSUS  
(1493-1541)