



Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla

# **SUSTANCIAS BIOACTIVAS PRODUCIDAS POR MICROORGANISMOS HALÓFILOS**



Julia Babiano Casasola

Sevilla, 2022



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

**SUSTANCIAS BIOACTIVAS PRODUCIDAS POR  
MICROORGANISMOS HALÓFILOS**

Julia Babiano Casasola

Tutores:

Cristina Sánchez-Porro Álvarez y Antonio Ventosa Ucero

Departamento de Microbiología y Parasitología

Área de Microbiología

Trabajo de Fin de Grado de carácter bibliográfico

Grado en Farmacia

Sevilla, 2022

## **RESUMEN**

Los organismos que tienen la capacidad de crecer en condiciones extremas han cobrado especial importancia en los últimos años, debido a sus hostiles parámetros de crecimiento. Los halófilos son un grupo de organismos capaces de prosperar en presencia de una salinidad elevada. Destacan por sus numerosas aplicaciones tanto potenciales como reales en distintos campos y tipos de industrias, entre ellas, la industria farmacéutica.

La resistencia a los antibióticos es un problema de salud pública a nivel mundial, que está causando un aumento de la morbilidad y mortalidad. La aparición de bacterias multirresistentes genera la necesidad de obtención de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana que puedan ampliar el arsenal terapéutico.

Por otro lado, el cáncer sigue siendo una de las principales causas de muerte a nivel mundial, con una prevalencia cada vez mayor, siendo una de las enfermedades más temidas. Aunque las estrategias terapéuticas han evolucionado de forma significativa en los últimos años, la tasa de mortalidad de este grupo de enfermedades es muy alta y es necesario el descubrimiento de nuevas sustancias con actividad anticancerígena que mejoren el pronóstico de los paciente.

Los microorganismos halófilos son productores de una gran cantidad de compuestos o sustancias con actividad biológica que pueden tener aplicabilidad en estos campos. En este Trabajo Fin de Grado nos hemos centrado en la recopilación de sustancias con actividades antimicrobiana y anticancerígena producidas por microorganismos halófilos, centrándonos con mayor profundidad en alguno de ellos. A pesar de la evidencia aportada, la investigación sobre este grupo de microorganismos extremos es aún escasa e insuficiente.

Palabras clave: halófilos, sustancias bioactivas, resistencia antibióticos, compuestos cancerígenos.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1. Ambientes extremos .....	3
1.2. Salinidad.....	5
1.2.1. Ambientes acuáticos hipersalinos .....	6
1.2.2. Sedimentos y suelos salinos .....	7
1.3. Microorganismos halófilos .....	7
1.4. Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos halófilos.....	10
1.5. Resistencia a los antimicrobianos.....	11
1.6. Necesidad de compuestos con actividad anticancerígena .....	12
1.7. Sustancias bioactivas producidas por halófilos.....	13
<b>2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.....</b>	<b>14</b>
<b>3. METODOLOGÍA.....</b>	<b>15</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>17</b>
4.1. Compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana.....	17
4.2. Marinopirroles A y B.....	20
4.3. Compuestos con actividad anticancerígena.....	22
4.4. Salinosporamida A: Marizomib .....	24
4.4.1. Aplicación en mieloma múltiple.....	26
4.4.2. Aplicación en glioma.....	27
4.4.3. Aplicación en cáncer de mama triple negativo.....	28
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>29</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>30</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Ambientes extremos

En primer lugar, es importante definir el término **ambiente extremo**, existen varias definiciones. En el año 1993 Rodríguez-Valera (Rodríguez-Valera, 1993) lo definió como ambientes desfavorables y letales para la mayoría de los seres vivos, ambientes con valores límite para uno o más de sus parámetros fisicoquímicos, ya sea el valor del pH, de la temperatura, de las radiaciones, de la concentración de oxígeno, del potencial redox, de la presión hidrostática, de la salinidad o de la actividad del agua entre otros (Rodríguez-Valera, 1988; Rothschild, Mancinelli, 2001).

Otros autores los definen como aquellos ambientes cuyas características varían constantemente, de forma brusca e impredecible, de modo que en ellos no se dan nunca las condiciones óptimas para el desarrollo y propagación de los seres vivos (Vera, 2018).

Como consecuencia, estos ambientes presentan una menor diversidad de especies y solo un pequeño número de taxones han conseguido adaptarse, pudiendo crecer de forma óptima (Brock, 1979). Sin embargo, el estudio en profundidad de estos ambientes ha permitido comprobar que la diversidad de especies, aunque escasa, es mucho mayor a la esperada (Ventosa, 2006).

Son muchos los ejemplos en la naturaleza de ambientes extremos como salinas, fumarolas marinas, glaciares, mares e incluso suelos, algunos podemos observarlos en la **Figura 1**.



**Figura 1.** Ejemplos de ambientes extremos. 1. Glaciar Grey, Chile. 2. Mar Muerto, Israel. 3. Río Tinto en Huelva, España. 4. Desierto del Sahara.

Los organismos capaces de desarrollarse, es decir, crecer óptimamente y permanecer activos en estos ambientes reciben el nombre de **extremófilos**. El término extremotolerante o extremotrofo se reserva para aquellos organismos que pueden tolerar las condiciones extremas pero,

presentan condiciones óptimas de crecimiento más moderadas (Torsvik, Ovreas, 2008). Aunque en estos ambientes existen organismos eucariotas, la mayoría de la diversidad está constituida por microorganismos procariotas (tanto arqueas como bacterias), así como por una gran diversidad de virus.

En función de la propiedad fisicoquímica extrema a la que estén adaptados los microorganismos van a recibir distintas denominaciones. En este Trabajo Fin de Grados nos vamos a centrar en el estudio de los microorganismos halófilos que son los que crecen de forma óptima en presencia de sales. En la **Tabla 1** se resumen las distintas denominaciones (Vera, 2018).

**Tabla 1.** Categorías de microorganismos extremotolerantes y extremófilos en función de la naturaleza de su adaptación (adaptado de Vera, 2018).

Condición ambiental extrema	Denominación	Ejemplo
Alta presión hidrostática	Piezotolerante Piezófilo	<i>Psychromonas hadalis</i>
Deseccación	Xerotolerante Xerófilo	<i>Xeromuces bisporus</i>
Metales pesados	Metalo-tolerante Metalo-resistente	<i>Ferroplasma cupricumulans</i>
Oscilaciones bruscas de condiciones fisicoquímicas	Poiquilotolerante Poiquilotrofo	<i>Microcoleus</i> sp.
Ácido pH	Acidófilo	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Alcalino	Alcalófilo	<i>Natronomonas pharaonis</i>
Radiación	Radio-tolerante Radio-resistente	<i>Thermococcus gammatolerans</i>
Salinidad	Halotolerante Halófilo	<i>Haloferax volcanii</i>
Baja Temperatura	Psicrotrofo, psicrotolerante Psicrófilo	<i>Polaromonas vacuolata</i>
Alta	Termófilo Hipertermófilo	<i>Thermus aquaticus</i>

Es necesario tener en cuenta que un mismo organismo puede presentar adaptaciones a diferentes condiciones ambientales externas, estos términos no son excluyentes. De modo que pueden existir y existen organismos **poliextremófilos**, estos pueden vivir en ambientes que presentan varias condiciones extremas, perteneciendo, por tanto, a más de una de las categorías descritas en la Tabla 1. (Mesbah, Wiefel, 2012).

Como ejemplo de poliextremófilos podemos mencionar a *Natronaerobius thermophilus* y *Halonatronum saccharophilum*, ambos microorganismos pertenecen al grupo de alcalitermófilos halófilos. Estos anaerobios habitan en zonas con altas concentraciones de sales,

el pH es alcalino y que se encuentran a elevadas temperaturas como consecuencia de la intensa radiación solar a la que están sometidos, por lo tanto, estos microorganismos han desarrollado varios mecanismos de adaptación que les permitan vivir en estas condiciones (Mesbah, Wiegel, 2008).

El importante potencial biotecnológico de los microorganismos extremófilos radica entre otros factores en que sus enzimas pueden permanecer activas en un amplio rango de condiciones ambientales (Vera, 2018).

## **1.2. Salinidad**

En primer lugar, es necesario definir el término **salinidad**. Este se refiere a la presencia de solutos inorgánicos, tales como sodio, magnesio, calcio, potasio, etc, en disolución, lo que provoca una disminución del agua disponible y una alta concentración de iones (Rhoades et al., 1999).

El potencial o actividad del agua es una medida de la disponibilidad de este con respecto el agua pura. El valor de este potencial disminuye a medida que aumenta la concentración de solutos disueltos en agua (Vera, 2018).

Como sabemos, la presión osmótica rige el flujo de agua a través de las membranas biológicas, ya que son permeables al mismo. El agua siempre se mueve del compartimento con mayor potencial de agua al que menor, hasta alcanzar el equilibrio. De este modo, si el potencial del medio externo es bajo, debido a la alta presencia de solutos disueltos, el agua fluye desde el organismo hasta el exterior, ocasionando lo que se conoce como plasmólisis, deshidratación y la consiguiente muerte del organismo. Para evitar la muerte por deshidratación, los organismos que habitan estos sistemas disponen de una serie de estrategias que les permiten mantener sus funciones vitales (Martin et al., 1999; Gunde-Cimerman et al., 2018).

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que el efecto de la salinidad no depende solo de la concentración absoluta de iones disueltos sino que también depende de la concentración relativa y las propiedades específicas de los mismos. La mayor parte de los ambientes hipersalinos estudiados hasta el momento están dominados por la presencia de cloruro sódico (Fox-Powell et al., 2016).

Pero además estos ambientes pueden presentar algún otro parámetro con valores extremos como por ejemplo elevados valores de pH (Durán, 2019).

Por lo general son hábitats acuáticos, como estanques de salinas solares, lagos salados naturales o cuencas marinas. También encontramos suelos hipersalinos y sedimentos salados (Ventosa et al., 2008). Se consideran ambientes también hipersalinos a algunas minas y depósitos de sal,

plantas desérticas, pieles curtidas con soluciones salinas y productos en salmuera, salazón y fermentados (Ventosa, 2006).

### 1.2.1. Ambientes acuáticos hipersalinos

Un ambiente acuático se considera hipersalino cuando la concentración de sales es superior a la salinidad del mar que se sitúa en torno al 3,5% NaCl (Rodríguez-Valera, 1988). Podemos distinguir 2 tipos de ambientes acuáticos hipersalinos en función del origen y la naturaleza de las sales:

1. **Talassosalinos:** son de origen marino por lo que presentan una composición en sales similar a la del agua del mar, con predominio de los iones sodio y cloro. Encontramos también, aunque en menor proporción, magnesio, sulfato, calcio, bromo, flúor y carbonato (Durán, 2019). Cuando el agua se evapora y precipitan las sales, aumenta el contenido en magnesio y cloro (Rodríguez-Valera, 1988). Como ejemplo de este tipo de ambiente podemos mencionar las salinas marinas que se utilizan para la obtención de sal común (Vera, 2018). Las salinas además están sometidos a una importante irradiación solar, oscilaciones bruscas de temperatura y a una baja concentración en oxígeno disuelto (Rodríguez-Valera, Ruiz-Berraquero, 1983) (**Figura 2**).
2. **Atalassosalinos:** en este caso, se originan como consecuencia de la disolución de depósitos minerales de origen continental, por lo que la composición iónica es diferente a la del agua del mar (Oren, 1983). Se trata de un conjunto de sistemas con distintas composiciones iónicas, dando lugar a hábitats muy diferentes entre sí. En algunos predominan cationes divalentes como el calcio y el magnesio (Rodríguez-Valera, Ruiz-Berraquero, 1983; Durán, 2019). Ejemplos de aguas atalassosalinas son el Mar Muerto y el Gran Lago Salado en EEUU. Dentro de este grupo encontramos también a los lagos alcalinos, que presentan valores de pH superiores a 8, en ellos predominan los aniones carbonato y cloruro, como ejemplos tenemos los lagos de Wadi Natrun en Egipto y el lago Magadi en Kenia (Oren, 2002) (**Figura 2**).



**Figura 2.** Ejemplos de ambientes acuáticos hipersalinos. A, Salina de Fuencaliente en las Islas Canarias. B, El Gran Lago Salado en Utah. C, El lago Magadi en Kenia.

### **1.2.2. Sedimentos y suelos salinos**

Los sedimentos y suelos están íntimamente relacionados, en ambos casos el sustrato es sólido, pero es necesario hacer una distinción entre ellos, ya que no son lo mismo.

Los sedimentos hipersalinos se producen como consecuencia de la acumulación por sedimentación desde la columna de agua tanto de biomasa como de material terrígeno. Las columnas de agua se encuentran constantemente saturadas, lo que provoca que los sedimentos se encuentren en condiciones de falta de oxígeno, anoxia. En este caso, la sal proviene de la propia columna de agua. Como ejemplo podemos mencionar a los sedimentos que encontramos en los lagos salados (Mesbah et al., 2007).

En el caso de los suelos hipersalinos (**Figura 3**) son sistemas subaéreos que se han creado a partir de roca y material sedimentado debido a la acción de elementos físicos, químicos o biológicos. Presentan una estructura muy heterogénea, estando formado por las 3 fases: líquida, sólida y gaseosa. Además, sus características fisicoquímicas varían a lo largo del tiempo y el espacio debido a que están influenciados por el clima. En este caso, la sal puede tener varias procedencias: por un lado, puede ser consecuencia de una salinización primaria como por ejemplo: del propio material geológico original, pueden deberse de la influencia mareal en zonas costeras, del insuficiente drenaje del suelo o de tasas de precipitación insuficientes en áreas con climas áridos. Por otro lado, su origen puede ser también como consecuencia de acciones antropogénicas, es decir, una salinización secundaria, ejemplos son: riegos mediante el uso de prácticas no adecuadas, fertilización o modificación de los niveles freáticos (Abrol et al, 1988; Groffman, Bohlen, 1999; Schmidt, Schaechter, 2012).



**Figura 3.** Ejemplos de suelos salinos. A, Suelo afectado por la salinización. B, Suelo salino del saladar de Cordovilla.

### **1.3. Microorganismos halófilos**

El término halófilo proviene del griego y su significado es amigo de la sal (“hals” es sal y “phil” amigo). Por lo tanto, los **microorganismos halófilos** son aquellos que presentan un alto requerimiento salino, en otras palabras, tienen la capacidad de crecer a altas concentraciones de sales. Necesitan la presencia de iones de sodio en el medio tanto para su metabolismo como para su crecimiento (Corral et al., 2019).

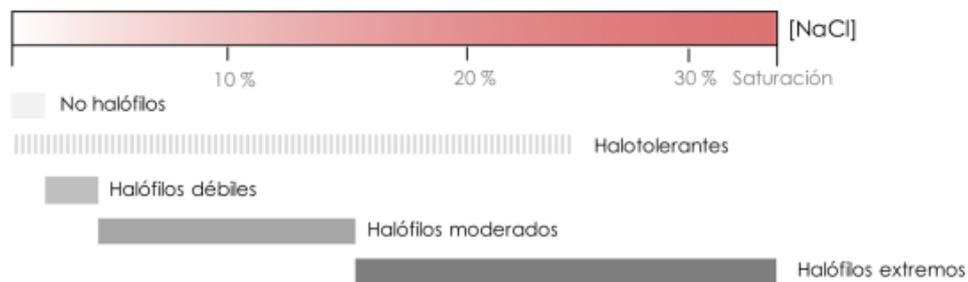
Es necesario tener en cuenta que las sales son nutrientes esenciales para el crecimiento de los seres vivos, ya que contienen cationes y aniones que intervienen en las reacciones químicas enzimáticas actuando como cofactores (Vera, 2018).

El mundo de los halófilos está dominado por microorganismos, donde vamos a encontrar representantes en los tres dominios arquea, eucariota y bacteria, incluso existen virus halófilos (Durán, 2019). Como ejemplo de macroorganismo podemos mencionar al crustáceo *Artemia salina* y a las larvas de la mosca del género *Ephydra* (Vera, 2018).

En función de la salinidad en la cual crecen óptimamente, los microorganismos halófilos pueden clasificarse en (Kushner, Kamekura, 1988) (**Figura 4**):

- **No halófilo:** no crecen a concentraciones salinas superiores al 1%, se conocen como halotolerantes. Los microorganismos halotolerantes no requieren de elevadas concentraciones de sal para su óptimo crecimiento pero pueden resistirlas.
- **Halófilos débiles:** se trata, principalmente, de microorganismos marinos que crecen óptimamente a una concentración de 1-3% NaCl.
- **Halófilos moderados:** su óptimo de crecimiento lo presentan a concentraciones de entre 3-15% NaCl.
- **Halófilos extremos:** crecen óptimamente en un rango de 15-30% NaCl.

Esta clasificación se hace en función al nivel de NaCl, que aunque es sal más abundante en la mayoría de los ambientes hipersalinos, no es la única. Algunos microorganismos requieren de iones específicos para su óptimo crecimiento, como puede ser, por ejemplo el sodio o el cloro (Sánchez- Porro et al., 2009). Además, es necesario tener en cuenta que los rangos óptimos de crecimiento pueden verse afectados por los parámetros de cultivo, ya sea la temperatura, el pH, el oxígeno o la concentración de nutrientes (Forsyth, Kushner, 1970).



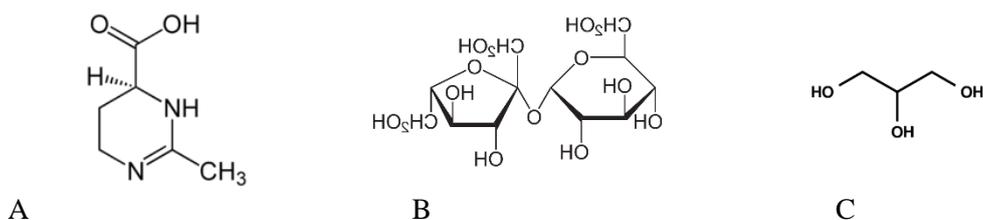
**Figura 4.** Esquema de los distintos niveles de halofilia propuestos en la clasificación de Kushner y Kamekura (1988). (Vera, 2018).

Dentro del grupo de los halófilos moderados encontramos principalmente bacterias, por el contrario, los halófilos extremos son sobre todo arqueas y algunas bacterias del género *Salinibacter* (Meseguer, 2004).

Son fisiológicamente muy diversos, caracterizándose por sus hostiles parámetros de crecimiento, lo que les permite soportar condiciones muy variadas no solo de salinidad, sino también de acidez o alcalinidad, temperatura, presencia o ausencia de oxígeno y luminosidad, etc. (Corral et al., 2019).

Los halófilos han desarrollado mecanismos de haloadaptación basados en el balanceo de la presión osmótica (González-Hernández, Peña, 2002):

1. **Estrategia *salt-in*:** consiste en modular el contenido en sales inorgánicas del interior celular, es decir, mantener altas concentraciones de sal intracelulares, osmóticamente o al menos equivalente a la concentración de sal externa, como puede ser disponer de un almacenamiento intracelular de cloruro potásico por encima del 37% (Corral et al., 2019). Almacenan potasio porque el sodio resulta tóxico para las células en grandes cantidades. En este caso, se requiere de maquinaria enzimática y componentes estructurales que mantengan su conformación y actividad en presencia de altas concentraciones iónicas intracelulares (Vera, 2018). Como ejemplos que presentan este mecanismo de adaptación podemos mencionar especies de la clase *Halobacteria* como *Halobacterium salinarum* o *Haloferax mediterranei* (Gunde-Cimerman et al., 2018).
2. **Estrategia del *salt-out*:** consiste en acumular una sustancia poco soluble en el citoplasma con el objetivo de regular la turgencia interna sin afectar al metabolismo celular. Esta sustancia puede ser sintetizada por el propio microorganismo o captada del medio externo. Se denominan solutos compatibles. Este mecanismo supone un mayor coste energético pero permite al microorganismo adaptarse a un amplio rango de salinidad (Vera, 2018). Existen un amplio número de solutos compatibles de distinta naturaleza, como características comunes presentan que son moléculas orgánicas de bajo peso molecular, alta solubilidad en agua y que sus propiedades fisicoquímicas son compatibles con la fisiología y bioquímica celular, generalmente sin carga (Gunde-Cimerman et al., 2018). La mayor parte de estos solutos son aminoácidos o sus derivados, azúcares simples o alcoholes (**Figura 5**). Importante destacar que un mismo microorganismo puede almacenar distintos solutos compatibles y utilizar uno u otro en función de sus necesidades (Oren et al., 2009).



**Figura 5.** Ejemplos de solutos compatibles. A, Ectoína (derivado de aminoácido). B, Sacarosa (azúcar). C, Glicerol (alcohol).

#### **1.4. Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos halófilos**

Son numerosas las aplicaciones biotecnológicas no solo actuales sino potenciales de estos microorganismos debido a su capacidad de adaptación y su plasticidad metabólica. Algunas de estas aplicaciones son muy conocidas, como por ejemplo, la preparación de alimentos fermentados como salsas de pescado y soja, los salazones o las aceitunas de mesas (Medina et al., 2016; Lucena-Padrós, Ruiz-Barba, 2016).

Los microorganismos halófilos tienen también la capacidad de producir distintos tipos de metabolitos como por ejemplo, pigmentos carotenoides, proteínas, enzimas hidrolíticas y solutos compatibles (Corral et al., 2019).

Es importante destacar el potencial de las enzimas tanto de bacterias como de arqueas halófilas. Actualmente, las enzimas de haloarqueas se utilizan en diferentes sectores industriales y con diferentes fines, por ejemplo, en la industria alimentaria, en la textil, también en la farmacéutica o en la producción de detergentes; por otra parte, también son utilizadas en biorremediación, campo en el que están cobrando especial importancia (Rodríguez-Valera, 1992; Mohammad et al., 2017; Durán, 2019). Un ejemplo es la nucleasa H producida por *Micrococcus varians* subsp. *halophilus* que se emplea para la producción de ácido guanílico, un aditivo muy utilizado en la industria alimentaria (Kamekura et al., 1982).

La ectoína obtenida a partir de bacterias halófilas moderadas, como *Halomonas elongata* y *Marinococcus*, se utiliza en la industria cosmética, como estabilizador de enzimas y productos cosméticos. Actualmente, se está investigando la posible aplicación de esta molécula para el tratamiento de patologías como el Alzheimer o la dermatitis atópica leve o moderada (Oren et al., 2009).

El alga *Dunaliella salina* es la principal productora de beta-caroteno, un pigmento del grupo de los carotenoides que es utilizado como antioxidante, colorante alimenticio y fuente de vitamina A (Oren, 2002; Micaela et al., 2019).

Además, los microorganismos halófilos producen polímeros como exopolisacáridos y poli-beta-hidroxialcanoatos, que tienen un importante interés económico en la industria médica, farmacéutica, cosmética, alimentaria, etc. (Durán, 2019).

Dentro de las potenciales aplicaciones de este grupo de microorganismos podemos destacar la obtención de nuevos antibióticos y anticancerígenos, tratamiento biológico de aguas residuales y la biorremediación (Vera, 2018), este es el apartado que desarrollaremos en este Trabajo Fin de Grado.

### **1.5. Resistencia a los antimicrobianos**

Los **antimicrobianos** son sustancias químicas que en bajas concentraciones tienen la capacidad de inhibir o incluso destruir a los microorganismos. En función de cómo se hayan obtenido, podemos hablar de antibióticos (a partir de microorganismos) y los quimioterápicos (por síntesis química). Se trata de un grupo de fármacos utilizados para el tratamiento y prevención de las enfermedades infecciosas de origen bacteriano (Medina-Morales et al., 2015).

El descubrimiento de los antibióticos supuso un gran avance en la medicina, gracias a se han podido combatir muchas infecciones, salvando muchas vidas. Sin embargo, se han utilizado de forma discriminada desde entonces, suponiendo un importante problema (Medina-Morales et al., 2015; Gil et al., 2019).

La **resistencia bacteriana** es la consecuencia a un conjunto de mecanismos llevados a cabo por bacterias, que provocan que el antibiótico pierda su funcionalidad; en otras palabras, la mutación de las bacterias origina la resistencia a los antibióticos. Podemos distinguir dos tipos de resistencia, la intrínseca o natural, que es propia de cada familia o especie y la adquirida que es variable según cepas y promovida por el mal uso de los antibióticos (Daza, 1998). Este fenómeno de resistencia no es exclusivo de las bacterias, se han descrito casos de aparición de resistencia en parásitos, hongos y virus patógenos (Alba et al., 2012).

La aparición de bacterias multirresistentes provoca un aumento de la mortalidad y de las estancias hospitalarias, que se traduce en un aumento de los costes médicos. Esto supone un importante problema de salud pública, que debe ser abordado (Gérvas, 2000).

Actualmente, están surgiendo un conjunto nuevo de cepas de bacterias que son resistentes a todos los antibióticos conocidos hasta el momento, han recibido el nombre de bacterias “superresistentes” (Gil-Gil et al, 2019).

El grupo de patógenos más importante desde el punto de vista clínico, ya sea por su patogenicidad y resistencia a los antibióticos, ha sido denotado con la abreviatura ESKAPE que engloba a *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobius* spp. (Wen-Pin et al., 2018; Contreras et al., 2020).

Se ha identificado como principal causa de la aparición de resistencias el uso incorrecto de este tipo de fármacos. Por un lado, se sabe que aproximadamente el 50% de las prescripciones de antibióticos son inadecuadas, además los pacientes no cumplen la pauta posológica, ya sea abandono antes de completar el tratamiento o el uso sin prescripción médica, contribuyendo a la multiresistencia. Por otro lado, este grupo de fármacos se ha utilizado en agricultura y ganadería de forma indiscriminada, como por ejemplo para fumigar campos o para prevenir enfermedades en el ganado (Gérvas, 2000). En los países poco desarrollados los antibióticos se administran de

forma libre y sin receta médica empeorando así la farmacorresistencia (Medina-Morales et al., 2015). Se ha podido concluir que el resurgimiento de las resistencias bacterianas es directamente proporcional al uso indiscriminado de antibióticos (Puente et al., 2015).

Especialmente alarmante es la prevalencia muy elevada de esta resistencia en las unidades de cuidados intensivos con brotes cada vez más frecuentes, empeorando de forma significativa la esperanza de supervivencia de los pacientes que se encuentran en estas áreas (Medina-Morales et al., 2015).

Es necesario enfatizar que las complicaciones debidas a infecciones suponen hoy en día una de las principales causas de muerte en los pacientes hospitalizados (Corral et al., 2019). Siendo necesario un programa de educación en el uso de antibióticos.

En el presente Trabajo Fin de Grado haremos una revisión de moléculas producidas por microorganismos halófilos con potencial antimicrobiano.

### **1.6. Necesidad de compuestos con actividad anticancerígena**

El término **cáncer** hace referencia a un conjunto de patologías caracterizadas por el crecimiento descontrolado de las células que componen los tejidos de nuestro organismo, originando lo que se conoce como tumor. En el caso de que el tumor no invada ni destruya otros órganos se denomina benigno (Roy, Saikia, 2016)

Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer es la principal causa de muerte en el mundo, de hecho, una de cada cuatro personas tiene riesgo de padecer cáncer en algún momento de su vida. Este riesgo además aumenta con la edad, por otro lado, el estado del sistema inmune de la persona también es un determinante claro, por ejemplo, si la persona está inmunosuprimida o presenta algún factor como es el estrés crónico. Los tumores más comunes son el de mama, el de pulmón, colon, recto y próstata. Este hecho refuerza la necesidad de encontrar nuevos y potentes fármacos antineoplásicos (Mackay et al., 2006; Ma, Diao, 2015;; Carvalho, Villar, 2018).

Salvo algunas excepciones como los cánceres hematológicos y las leucemias y linfomas, que no siempre producen una “masa” como tal, el tumor requiere alcanzar un tamaño de 1cm para ser detectado. Las técnicas de detección suelen ser el diagnóstico mediante imagen y las pruebas de laboratorio (Roy, Saikia, 2016).

El cáncer puede ser curable dependiendo del tipo y del momento del diagnóstico y tras esto, es necesario comenzar el tratamiento lo más rápido posible, esto aumenta el pronóstico de vida del paciente (Fajardo-Gutiérrez, Rendón-Macías, 2018).

Los principales objetivos del abordaje terapéutico contra el cáncer buscan eliminar los síntomas del paciente, mejorar la esperanza de vida y prolongar la supervivencia del paciente, son:

- 1- Erradicación total de las células cancerosas
- 2- Reducir tanto el tamaño del tumor como el número de células cancerosas

Los tratamientos actuales contra el cáncer se resumen en:

- Cirugía: extirpación quirúrgica de la masa tumoral, es la única terapia curativa. Se utiliza cuando el tumor se encuentra localizado, es decir, no hay metástasis.
- Radioterapia: aplicación de forma externa, interna o sistémica de una radiación ionizante. Esta radiación consigue eliminar la célula afectada. Es de la estrategia de tratamiento más utilizada (Orth et al., 2014).
- Quimioterapia: administración de fármacos, conocidos como agentes citotóxicos, que actúan sobre el ciclo de división celular, de modo que ejercen una acción antiproliferativa frente a las células no solo las cancerígenas sino también sobre las sanas. Actúan a nivel del ADN y su propósito es inducir apoptosis celular. Generan numerosas reacciones adversas como consecuencia de la destrucción de las células sanas (Muñoz et al., 2020).
- Hormonoterapia: se utiliza en aquellos casos en los que el tumor es dependiente de las células sexuales, actúan sobre receptores hormonales específicos, se utilizan por ejemplo en el cáncer de mama y el de próstata (Padilha et al., 2012).
- Terapia dirigida: actúa sobre moléculas que participan en la propagación del tumor. Podemos mencionar a los inhibidores de la tirosina quinasa de molécula pequeña y a los anticuerpos monoclonales.

En los últimos años, se ha puesto el punto de mira en los compuestos con actividad antitumoral procedentes de microorganismos, debido a su fácil manipulación y su extrema diversidad. Han cobrado importancia aquellos metabolitos obtenidos de halófilos para el tratamiento del cáncer debido al descubrimiento de algunas moléculas con potencial aplicabilidad (Potts et al., 2011), tal y como desarrollaremos en este trabajo.

### **1.7. Sustancias bioactivas producidas por halófilos**

Dentro del término **sustancia bioactiva** podemos encuadrar a numerosos metabolitos que presentan actividad y son producidos por microorganismos. Como ya hemos comentado, en esta revisión bibliográfica vamos a centrarnos principalmente en los compuestos con actividad antimicrobiana y en los que tienen actividad anticancerígena producidos por microorganismos halófilos.

La gran versatilidad metabólica de los microorganismos halófilos, sus bajos requerimientos nutricionales y su capacidad de adaptación a condiciones ambientales adversas los convierte en candidatos óptimos para la búsqueda de nuevas sustancias bioactivas. Otra de las razones por las

que los halófilos han despertado interés ha sido por la estabilidad de sus macromoléculas (Santhaseelan et al., 2022).

Estudios recientes han demostrado la utilidad de los microorganismos halófilos como fuente de compuestos bioactivos que presentan un alto potencial farmacéutico (Corral P et al., 2018; Contreras-Castro et al., 2020; Jimenez PC et al., 2020; Santhaseelan et al., 2022).

## **2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN**

La falta de arsenal terapéutico para combatir a los microorganismos resistentes es uno de los principales problemas de salud pública de las últimas décadas. Por otro lado, el cáncer supone la principal causa de muerte a nivel mundial, siendo necesaria la búsqueda de nuevas terapias que aumenten la supervivencia y esperanza de vida de estos pacientes.

Los microorganismos halófilos constituyen un grupo de microorganismos muy interesantes que pueden constituir el punto de partida para la búsqueda y obtención de nuevas sustancias con actividad y utilidad en la medicina clínica actual.

Hace 3 años entré a formar parte del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla como alumna interna en el grupo de investigación BIO-213 “Microorganismos halófilos”, fue entonces cuando comencé a familiarizarme con este grupo de microorganismos. Me pareció interesante realizar mi Trabajo Fin de Grado sobre estos microorganismos halófilos intentando así fomentar mi conocimiento sobre ellos y el interés de sus aplicaciones.

Dentro de los principales objetivos de esta revisión bibliográfica titulada “Sustancias bioactivas producidas por microorganismos halófilos” podemos mencionar:

1. Definir los ambientes extremos en general y los ambientes salinos en particular, destacando los microorganismos que habitan en ellos.
2. Poner de manifiesto la importancia actual y potencial de los microorganismos halófilos a nivel industrial
3. Realizar una revisión de las sustancias bioactivas que están descritas actualmente producidas por estos microorganismos y analizar sus perspectivas futuras, centrándonos en sustancias con capacidad antimicrobiana y anticancerígena.
4. Describir con detalle algunos de los compuestos bioactivos.

### 3. METODOLOGÍA

El título de esta revisión bibliográfica es “Sustancias bioactivas producidas por microorganismos halófilos”.

En base a este título, para la búsqueda de información se utilizaron palabras clave generales tales como “halófilos”, “resistencia antibióticos”, “sustancia bioactiva”, “anticancerígenos”. También se utilizaron palabras clave específicas como “marizomib”, “mieloma múltiple”, “marinopirroles” y “biosurfactante”, entre otras.

Para la obtención de la información se realizaron búsquedas bibliográficas en diferentes medios digitales como bases de datos, páginas web de organismos oficiales, sociedades científicas.

Principalmente se ha utilizado la información de artículos científicos obtenidos a través de “National Library of Medicine” también conocido como “Pubmed” (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). Se trata de una base de datos de libre acceso que contiene literatura actualizada de revistas de biomedicina y de ciencias de la vida.

Se utilizaron otras fuentes como:

- Google Scholar (<https://scholar.google.es/schhp?hl=es>)
- Medline (<https://medlineplus.gov/spanish/>)
- PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (<https://seimc.org/>)
- Organización Mundial de Salud (<https://www.who.int/es>)
- American Cancer Society (<https://www.cancer.org/es.html>)
- Mayo Clinic (<https://www.mayoclinic.org/es-es>)
- Johns Hopkins Medicine (<https://www.hopkinsmedicine.org/international/espanol/index.html>)

Para poder contar con información contrastada se ha contado con el acceso al Portal Web de la Biblioteca de la Universidad de Sevilla (<https://bib.us.es/>).

Se ha recurrido también, a la información proporcionada por fuentes secundarias como revistas científicas de diferentes temáticas y países, que nos han ayudado a concretar en la información buscada, entre ellas podemos mencionar:

- Marine Drugs (<https://www.mdpi.com/journal/marinedrugs>)
- Extreme Microbiology (<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/sections/extreme-microbiology>)
- Marine Biotechnology (<https://www.springer.com/journal/10126>)
- Food Microbiology (<https://www.sciencedirect.com/journal/food-microbiology>)

- Nature (<https://www.nature.com/>)
- Cambridge University Press (<https://www.cambridge.org/>)
- Antimicrobial Resistance & Infection Control (<https://aricjournal.biomedcentral.com/>)
- The Journal of Antibiotics (<https://www.nature.com/ja/>)
- Environmental Microbiology  
(<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/journal/14622920>)
- Microorganism (<https://www.mdpi.com/journal/microorganisms>)
- Invurnus (<https://invurnus.unison.mx/index.php/INVURNUS>)
- Revista Médica de Risaralda (<https://revistas.utp.edu.co/index.php/revistamedica>)
- BioScience (<https://academic.oup.com/bioscience>)

En numerosas ocasiones ha sido necesario la utilización de traductores de idiomas, ya que la mayoría de la bibliografía era en inglés. Para ello he utilizado “DeepL” (<https://www.deepl.com/es/translator>) y “Word reference” (<https://www.wordreference.com/>) .

Además, para que la información fuese lo más reciente posible se utilizaron filtros de búsqueda, de modo que nos permitiese acceder a la información más precisa. Los artículos publicados en los últimos años han sido de mayor relevancia, ya que durante este periodo de tiempo los halófilos han cobrado mayor importancia. Sin embargo, han sido necesarios la utilización de artículos de años anteriores para sentar las bases de esta revisión.

Debido a la gran cantidad de información obtenida en la búsqueda, se han utilizado una serie de criterios para la selección y evaluación de la misma:

- Se han priorizado aquellos artículos que provenían de fuentes de reconocida y alta solvencia y reconocimiento.
- Se ha tenido en cuenta el número de veces que los artículos han sido nombrados o citados.
- Se ha tenido en cuenta el título y el resumen del artículo científico.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1. Compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana

El agotamiento del arsenal antimicrobiano disponible hace necesario la investigación de nuevas fuentes de obtención de compuestos con actividad frente a las bacterias resistentes.

Fue en el año 1982 cuando Rodríguez-Valera y colaboradores notificaron las primeras sustancias con actividad antimicrobiana de origen halófilo, las halocinas procedentes de varios miembros del género *Halobacterium* (Rodríguez-Valera et al., 1982). Las halocinas son compuestos proteicos con actividad antimicrobiana que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de otras comunidades microbianas, permitiendo la supervivencia de la especie que lo sintetiza (Gohel et al., 2015).

Cuando las condiciones de cultivo son las óptimas, tanto los microorganismos halófilos como los halotolerantes tienen la capacidad de sintetizar compuestos con actividad antimicrobiana. Se han aislado gran cantidad de compuestos con actividad procedentes de los géneros *Bacillus*, *Actinobacteria*, *Halorubrum* y *Aspergillus* (Santhaseelan et al., 2022).

Además, se ha comprobado que algunos microorganismos halófilos tienen incluso la capacidad de sintetizar compuestos con actividad antiviral (Santhaseelan et al., 2022).

Actualmente, la mayor parte de los fármacos antibacterianos utilizados en la medicina clínica provienen de fuentes naturales (Jakubiec-Krzesniak et al., 2018).

A continuación vamos a detallar algunos de los compuestos bioactivos descritos hasta la fecha producidos por bacterias, arqueas y hongos halófilos.

Son numerosas las **bacterias halófilas** que tienen la capacidad de sintetizar metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana. Las actinobacterias son las principales responsables de la inhibición de patógenos clínicos, destacando los géneros *Nocardiosis* y *Streptomyces* (Giordano, 2020; Santhaseelan et al., 2022). En la **Tabla 2** se recogen algunos de estos compuestos, así como los microorganismos productores de moléculas.

Los biosurfactantes son moléculas activas que generan una superficie anfipática que presenta tanto fracciones hidrofóbicas como hidrofílicas, lo que se conoce como tensioactivos. Pueden ser sintetizados por gran variedad de microorganismos como hongos, levaduras y bacterias (Sharma et al., 2021). Los biosurfactantes de origen bacteriano han generado en los últimos años un gran interés por su potencial terapéutico y médico debido a que presentan actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral (Bjerk et al., 2021).

**Tabla 2.** Bacterias halófilas, sus moléculas y la actividad antimicrobiana (Corral P et al., 2019, Santhaseelan et al., 2022).

Género	Sustancia bioactiva	Actividad antimicrobiana
<i>Bacillus</i> sp.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Licopéptidos surfactantes</li> <li>13- docosenamida (Z)</li> <li>Manosamina</li> <li>9-octadecenamida</li> <li>N,N,N',N'. tetrametilo</li> </ul>	Antiviral contra el Virus del Síndrome de las Mancha Blanca Antimicrobiano frente a <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomona aeruginosa</i> y <i>Salmonella typhi</i>
<i>Bacillus firmis</i> VE2	Subtilisina A	Antifúngico frente a <i>Candida albicans</i> y <i>Candida parapsilosis</i>
<i>Halobacillus karajiensis</i> y <i>Alkalibacillus samallahensis</i>	Biosurfactantes	Activo frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Aspergillus flavus</i>
<i>Halomonas salifodinae</i>	Extracto de acetato de etilo	Patógenos acuáticos: <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio harveyi</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Halomonas</i> sp. BS4	Biosurfactantes: <ul style="list-style-type: none"> <li>1,2-etanodiamida</li> <li>N,N,N',N'-tetra, 8-metil-6-noneamida</li> <li>(Z)-9-octadecenamida</li> </ul>	Activos frente a : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Salmonella typhi</i>
<i>Marinispora</i> sp.	Linamicina A-E	Amplio espectro frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Activos frente: <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina</li> <li><i>Enterococcus faecium</i> resistente a la vancomicina</li> </ul>
<i>Nocardioides</i> sp.	Sobrenadantes celulares: glicolípidos y/o lipopéptidos	Antibacterianos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Xanthomonas oryzae</i>
<i>Nocardiosis</i> sp.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pirrolo (1,2-A(pirazina-1,4-diona, hexahidro-3-(2-metilpropil)-)</li> <li>Actimonicina C2</li> </ul>	Antifúngica, antibacteriana y antiviral
<i>Nocardiosis</i> sp.	Borrelidina C-E	Macrólido activo frente a <i>Salmonella enterica</i>
<i>Paenibacillus sambharensis</i>	Bacitracina A	Activo frente <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Salinispora arenicola</i>	Rifamicina B, S y W	Activa frente a varias especies del género <i>Mycobacterium</i> : <i>M. leprae</i> , <i>M. avium</i> , <i>M. lepromatosis</i> y <i>M. tuberculosis</i>
<i>Salinispora arenicora</i>	Salinisporamicina	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i>
<i>Salinispora arenicora</i> CNR-647 <i>Salinispora arenicora</i> CNB-527	Arenimicina A  Arenimicina B	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a rifampicina y meticilina. <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Enterococcus faecium</i> Inhibición del bacilo Calmette-Guérin de <i>Mycobacterium bovis</i>
<i>Salinispora arenicora</i> CNS-205	Ciclotrazinas A y B	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecium</i>
<i>Streptomonospora alba</i>	Streptomonicina	Frente a Gram-positivos: <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacilo halodurans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Streptomyces</i> sp. B6921	Fridamicina D Himalomicina A y B	Presentan actividad frente a: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Streptomyces viridochromogenes</i>
<i>Streptomyces</i> sp. CNQ-418	Marinopirroles A	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la

Género	Sustancia bioactiva	Actividad antimicrobiana
	Marinopirroles B	meticilina
<i>Vibrio</i> A1SM3-36-8	13-cis-docosenamida	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> B2	Vibrindole A	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Scaphirhynchus albus</i> y <i>Bacillus subtilis</i>

Por su especial interés debido a que presenta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA), uno de los grandes problemas actuales de salud pública, profundizaremos en el estudio de los marinopirroles A y B.

Con respecto a los compuestos producidos por **arqueas halófilas**, revisando la literatura encontramos 56 géneros que producen halocinas, que como ya hemos mencionado anteriormente son compuestos con actividad antimicrobiana, cuya función principal es la competencia entre especies.

*Haloquadratum walsbyi* produce vesículas de gas que contienen halocinas capaces de destruir a otras arqueas. Sin embargo, no hay evidencia de que las halocinas sean efectivas frente a patógenos humanos (Santhaseelan et al., 2022).

No se han reportado nuevos compuestos con actividad antimicrobiana sintetizados por haloarqueas. Son varias las razones que justifican la falta de investigación biotecnológica en este dominio, entre ellas, el elevado tiempo de cultivo que ronda entre 5 y 30 días (Corral et al., 2019).

Los hongos son el pilar del descubrimiento de los antimicrobianos. La mayoría de los **hongos halófilos** capaces de sintetizar compuestos con actividad antimicrobiana lo hacen en rangos de salinidad baja (Plemenitas et al., 2014).

En este caso, destacan varias especies halófilas dentro del género *Aspergillus* como principales productoras de antibióticos, aisladas de sedimentos submarinos (Corral et al., 2019). En la **Tabla 3** se muestran algunos de los compuestos antimicrobianos producidos por hongos halófilos.

**Tabla 3.** Hongos halófilos, sus moléculas y su actividad antimicrobiana (adaptado de Corral et al., 2019).

Especie	Sustancia bioactiva	Actividad antimicrobiana
<i>Aspergillus protuberus</i> MUT 3638	Bisvertinolona o Bisvertinol	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Burkholderia metallica</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus gracilis</i> <i>Aspergillus penicillioides</i>	Extractos crudos (la molécula no ha sido identificada)	Presentan actividad antimicrobiana y antioxidante.
<i>Aspergillus flocculosus</i> PT05-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>(22R,23S)-epoxi-3<math>\beta</math>,11<math>\alpha</math>,14<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-tetrahidroxiergosta-5,7-dien-12-ona</li> <li>6-(1H-pirrol-2-il)hexa -1,3,5-trienil-4-metoxi-2 H -piran-2-ona</li> </ul>	<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Candida albicans</i>  <i>Enterobacter aerogenes</i>

Especie	Sustancia bioactiva	Actividad antimicrobiana
<i>Aspergillus terreus</i> PT06-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Terremidas A y B</li> <li>• Terrenolactona A</li> </ul>	<i>Pseudomonas aureginosa</i> y <i>Enterobacter aerogenes</i>

#### 4.2. Marinopirroles A y B

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram-positiva anaerobia facultativa, coagulasa positivo. Se trata de un comensal que puede estar presente de forma asintomática en portadores sanos, habitando en la piel, glándulas cutáneas y membranas mucosas (Lakhundi, Zhang, 2018). Este patógeno oportunista tiene la capacidad de producir distintos tipos de infecciones que afectan a diferentes órganos y tejidos como por ejemplo infecciones cutáneas, osteomielitis, meningitis, endocarditis, sepsis o pulmonía entre otras (Conlon, 2014). Podemos encontrarla distribuida de forma amplia en la naturaleza, en aguas, residuos, aire, etc. Tiene la capacidad de sintetizar unas toxinas llamadas enterotoxinas estafilocócicas, que son muy resistentes tanto a la congelación, al calor y a la irradiación. Las principales vías de transmisión de esta bacteria son: alimento-persona, persona-persona y animal-persona, por normal general el contagio es por contacto de piel con piel.

Este microorganismo es uno de los principales responsables de infecciones tanto nosocomiales como a nivel no hospitalario, siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad a nivel mundial de origen infeccioso. La problemática de este patógeno radica en la capacidad que presenta para volverse resistente a los antibióticos, disminuyendo así las opciones terapéuticas disponibles para su tratamiento, siendo la cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) una de las más importantes a nivel clínico. Estas son las razones por las que *Staphylococcus aureus* se encuentra clasificado como patógeno “ESKAPE” (Yang et al., 2016; Cheung et al., 2021).

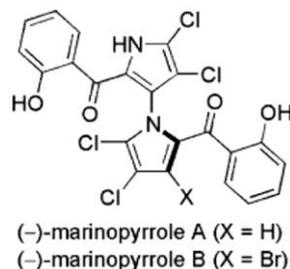
MRSA es un patógeno muy virulento y con una gran capacidad para desarrollar resistencia, esto hace que sea considerado como una amenaza para la salud pública. Es responsable de la mayor parte de las infecciones a nivel de la piel y de los tejidos blandos, además se asocia a con mayores tasas de mortalidad que las infecciones causadas por otras cepas (Lakhundi, Zhang, 2018).

En la actualidad, el tratamiento de primera línea de la infección causada por esta bacteria se basa en vancomicina, un antibiótico del grupo de los glicopéptidos. El problema radica en la reciente y creciente aparición de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la vancomicina (Yang et al., 2016).

En los últimos años, se ha ampliado el conocimiento sobre los mecanismos de patogenia y los determinantes de virulencia de este microorganismo, es importante utilizar esta nueva

información para el desarrollo de nuevos fármacos que sean útiles para el tratamiento de sus infecciones.

Los marinopirroles A y B (**Figura 6**) son alcaloides de origen natural con actividad antibacteriana obtenidos de la bacteria *Streptomyces* sp. CNQ-418 (Hughes et al., 2008).



**Figura 6.** Estructura de los marinopirroles A y B (Hughes et al., 2008).

Estas moléculas presentan una estructura muy novedosa y sin precedentes, han sido denominados como compuestos 1,3,- bipirroles densamente halogenados. Estos además son planos. Como podemos observar en la **Figura 6** los marinopirroles están formados por un núcleo central 1,3-bipirrol, dos sustituyentes saliciloilo y numerosos restos halogenados. Se trata de compuestos axialmente quirales (Hughes et al., 2010). La única diferencia entre ambos compuestos se basa en la presencia de un átomo de bromo en el marinopirrol B (Li, 2016).

Ambos compuestos son estables a temperatura ambiente, además, se ha comprobado que el marinopirrol A es estable tanto configuracional como constitucionalmente en un amplio rango de variaciones del pH, tanto ambientes ácidos como básicos, sin embargo, puede racemizarse cuando la temperatura supera los 100°C (Hughes et al., 2010).

Desde su aislamiento en el año 2008, han sido varias las rutas utilizadas para su síntesis. La primera síntesis total del marinopirrol A se consiguió en 9 pasos con un rendimiento total del 30% (Cheng et al., 2010). La biosíntesis más reciente del marinopirrol A se basa en el homoacoplamiento de N,C-bipirrol, catalizado por la acción de dos enzimas halogenasas que son dependientes de flavina (Yamanaka et al., 2012) . Por su parte, la primera síntesis del marinopirrol B racémico se basa en una reacción de N-alquilación con un aceptor de Michael que tiene como característica novedosa la presencia de un grupo saliente alílico, que permite la construcción de un anillo de pirrol en el átomo de nitrógeno presente en un 3-bromo-4,5-dicloropirrol; el segundo pirrol se obtuvo a través de una reacción de Paal-knorr (Cheng et al., 2013).

Tanto el marinopirrol A como el B presentan actividad antibiótica frente a *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina con una concentración inhibitoria menor a 1 microgramos/ml (Cheng et al., 2013).

Un estudio realizado en el año 2013 por Cheng y colaboradores evaluó la actividad antibiótica del marinopirrol A y de sus derivados frente a 7 bacterias Gram-positivas y 3 Gram-negativas. Todos los compuestos analizados fueron inactivos frente a los patógenos Gram-negativos (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*). Por el contrario, demostraron actividad *in vitro* frente a los 7 patógenos Gram-positivos. El marinopirrol A mostró un nivel de actividad antibiótica frente a MRSA y *Staphylococcus epidermidis* resistente a la meticilina, equiparable a la de la vancomicina (Cheng et al., 2013). El principal problema de este producto natural, marinopirrol A, es la disminución de su actividad frente a MRSA en presencia de suero humano (Liu et al., 2014).

Tras comprobar la actividad de estos compuestos, se evaluaron sus propiedades fisicoquímicas y se determinó que no cumplían la regla de Lipinski o también conocida como regla del cinco, esta nos permite determinar de forma empírica y cualitativa la viabilidad de una molécula para convertirse en un fármaco con buenas propiedades LADME (liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción) (Yang et al., 2016).

Debido a las razones anteriormente expuestas, los estudios sobre este compuesto se basan en la optimización de su estructura mediante la síntesis de derivados del marinopirrol A tanto asimétricos como simétricos o cíclicos, para obtener un nuevo grupo de medicamentos que pueda ser utilizado frente a MRSA (Liu et al., 2014).

#### **4.3. Compuestos con actividad anticancerígena**

Los géneros con mayor capacidad de producción de compuestos con actividad anticancerígena son *Nocardopsis*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Halomonas* y *Aspergillus* (Giordano, 2020), como se muestra en la **Tabla 4**.

La mayoría de bacterias y arqueas halófilas son productoras de carotenoides, pigmentos antioxidantes liposolubles de color amarillo, naranja o rojo. Estudios recientes tanto *in vitro* como *in vivo* han demostrado que existe una relación inversamente proporcional entre la ingesta de algunos carotenoides, por ejemplo el licopeno, beta-caroteno o la luteína, en niveles dietéticos y la aparición de células cancerosas. El mecanismo de quimioprevención se basa en la capacidad de varios carotenoides de inducir la apoptosis y detección del ciclo celular de las células cancerosas, en otras palabras, que pueden disminuir la mutagénesis y la carcinogénesis, esto se debe a que son compuestos con actividad antioxidante. Pueden por lo tanto disminuir la viabilidad de algunas líneas celulares como la del cáncer de próstata o el melanoma, entre otros (Tanaka et al., 2012; Rezaeeyan et al., 2017).

**Tabla 4.** Microorganismos halófilos, sus metabolitos con actividad anticancerígena, el mecanismo de acción y el cáncer sobre el que actúan (adaptado de Corral et al., 2019).

Dominio	Especie	Compuesto con actividad	Tipo de actividad/Mecanismo de acción	Línea celular sobre la que actúa
Bacteria	<i>Actinopolyspora erythraea</i> YIM 90600	Tubercidina	Estabilizador del supresor tumoral Pcd4 (Programmed Cell Death Protein 4).	Supresor de tumores
Bacteria	<i>Bacillus</i> sp.	L-asparaginasa	Inhibición celular	Leucemia linfoblástica aguda
Bacteria	<i>Bacillus</i> sp. BS3	Biosurfactantes	Reducen la viabilidad celular	Carcinoma epitelial de mama
Bacteria	<i>Halomonas smyrnensis</i> AAD6	Polisacárido leván y derivados activados		Adenocarcinoma de mama Adenocarcinoma de pulmón Adenocarcinoma hepatocelular de hígado Adenocarcinoma gástrico
Bacteria	<i>Halomonas</i> sp. BS4	Biosurfactantes	Reducen la viabilidad celular	Carcinoma de mama epitelial.
Bacteria	<i>Halomonas stenophila</i> strain B100	Exopolisacárido sobresulfatado	Bloqueo dosis-respuesta de las células T leucémicas humanas	Leucemia linfoblástica.
Bacteria	<i>Kocuria</i> sp. QWT-12	Carotenoide	Reduce la viabilidad celular	Cáncer de mama MCF-7, MDA-MB-468 y MDA-MB-231 Cáncer de pulmón humano A549
Bacteria	<i>Nocardiosis lucentensis</i> DSM 44048	Nocarbenzoxazol G	Citotóxica	Carcinoma hepático Cáncer de cuello de útero
Bacteria	<i>Piscibacillus</i> sp. C12A1	Extracto crudo	Disminuye la viabilidad de la línea celular MDA-MB-231 mediante regulación negativa de la expresión de Bcl-xL y CDK-2. Inhibición de la migración celular y la formación de colonias de células	Adenocarcinoma de mama
Bacteria	<i>Salicola</i> sp.	L-glutaminasa	Inhibición celular	Leucemia linfoblástica aguda
Bacteria	<i>Salinispora arenicola</i> CNR-647	Arenimicina A	Citotóxica frente a la línea celular HCT116	Cáncer colonorrectal
Bacteria	<i>Salinispora arenicola</i> CNS-205	Ikarugamicina	Reducción dosis dependiente de la liberación de IL-8, de la viabilidad celular de las células de leucemia promielocítica humana HL-60 Inhibición de la lipoproteína de baja densidad oxidada de los macrófagos J774	Leucemia promielocítica humana
Bacteria	<i>Salinispora tropica</i> CNB-392	Salinosporamida A	Inhibición del proteasoma 20S	Mieloma múltiple Mieloma múltiple en recaída y/o

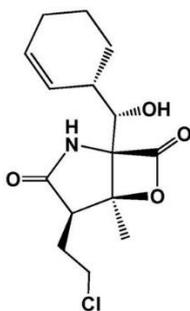
Dominio	Especie	Compuesto con actividad	Tipo de actividad/Mecanismo de acción	Línea celular sobre la que actúa
				refractario Otros tumores sólidos
Bacteria	<i>Streptomyces</i> sp.	Saltemamida A	Inhibe la acumulación de HIF-1alfa inducida por apoxia. Mecanismo: regulación a la baja de sus vías de señalización aguas arriba.	Cáncer colorrectal Cáncer gástrico
Bacteria	<i>Streptomyces</i> sp. WH26	8-O-metiltetrangulol Naftomicina A	Citotóxica frente a varias líneas celulares: - A549 - HeLa - BEL-7402 - HT-29	Adenocarcinoma de pulmón Adenocarcinoma hepatocelular de hígado Carcinoma de cuello de útero Cáncer colorrectal
Arquea	<i>Halobacterium halobium</i>	Extracto con carotenoides: Bacterioruberin	Reducción viabilidad	Adenocarcinoma hepatocelular de hígado
Arquea	<i>Halobacterium salinarum</i> IBRC M10715	Extracto crudo	Citotóxico. Aumento de apoptosis de la línea celular PC3 dependiente de andrógenos. Regulación a la baja del gen SOX2	Carcinoma de próstata
Arquea	<i>Halorubrum</i> sp. TBZ112	EPS bajo peso molecular, sin grupos sulfato	Bajo potencial citotóxico	Adenocarcinoma gástrico
Eucariota (Hongo)	<i>Aspergillus</i> sp. F1	Citocalasina E Ergosterol Rosellicinasina	Reducción de la viabilidad de las líneas celulares - A549 - Hela - BEL-7402 - RKO Efecto inhibitorio del ergosterol: - RKO	Adenocarcinoma de pulmón Adenocarcinoma hepatocelular de hígado Carcinoma de cuello de útero Cáncer colonorrectal

De entre todos estos compuestos vamos a profundizar en el compuesto **Salinosporamida A** cuyo mecanismo principal de acción es la inhibición del proteasoma 20 y parece presentar actividad anticancerígena frente al mieloma múltiple, mieloma múltiple en recaída y/o refractario y otros tumores sólidos.

#### **4.4. Salinosporamida A: Marizomib**

Marizomib es el nombre comercial utilizado para hacer referencia a la Salinosporamida A (NPI-0052), un metabolito secundario obtenido a partir de la actinobacteria halófila *Salinispora tropica*, en concreto, de la cepa CNB-392. Es un producto natural de origen marino que fue aislado en el año 2003 (Ma, Diao, 2015; Jiménez et al., 2020; Kim et al., 2020).

Con respecto a su estructura (**Figura 7**), se trata de una molécula pequeña, pero que presenta numerosas funciones químicas. Está formada por un núcleo central bicíclico, comprendido por una beta-lactona-gamma-lactama; a su vez, presenta como sustitutos un grupo cloroetilo en el carbono 2, un metilo en la posición 3 y un ciclohex-2-enilcarbinol en la posición 4 (Potts et al., 2011). Son estos sustituyentes los responsables de las interacciones importantes que suponen un aumento de la afinidad y especificidad del Marizomib con respecto a otros fármacos del mismo grupo (Macherla et al., 2005).



**Figura 7.** Estructura química de la Salinosporamida A (Fenical et al., 2009).

La complejidad de la molécula requiere la utilización de varias rutas enantioselectivas, estrategias racémicas y síntesis formales que dificulta su obtención por síntesis química. Tras la evaluación de diferentes medios para la obtención de este metabolito se llegó a la conclusión de que el método más productivo es a través de la fermentación salina a gran escala a partir de *Salinispora tropica* (Fenical et al., 2009; Potts et al., 2010).

Para poder comprender el mecanismo de acción de este fármaco es necesario conocer su estructura diana, el proteasoma. Se trata de un complejo de proteinasa multicatalítica encargada de mantener la homeostasis proteica, su principal función radica en la degradación de proteínas intracelulares, de modo que evita la acumulación de proteínas mal plegadas, desnaturalizadas y/o envejecidas. Podemos considerarlo el principal responsable del correcto funcionamiento a nivel celular (Kaijun et al., 2016).

El mecanismo de acción de Marizomib se basa en la inhibición irreversible del proteasoma 20S en sus tres actividades catalíticas, que son el tipo quimotripsina (CT-L), tipo tripsina (TL) y tipo caspasa (CL), con valores de  $IC_{50}$  del rango de nano molar (Kisselev et al., 2006). Esto supone una gran ventaja, ya que permite la inhibición de forma sostenida de la actividad del proteasoma, sin embargo, la duración de esta dependerá de la naturaleza de la célula o tejido (Chauhan et al., 2005). Se considera que es un inhibidor de segunda generación, debido a que presenta distinta actividad y especificidad que otros inhibidores del proteosoma como el bortezomib (Pereira et al., 2019).

Actúa como un potente agente citotóxico frente a 60 líneas celulares humanas ya sean de origen hematológico y de tumores de tipo sólido (Jimenez et al., 2020).

Con respecto a las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, podemos afirmar que presenta una corta vida media, una rápida eliminación y un gran volumen de distribución. La distribución del Marizomid desde el compartimento central transcurre de forma rápida y alcanza el tejido tumoral pocos minutos después de su administración por vía intravenosa. Con respecto a su metabolismo, aún no ha sido definido y la excreción se produce a través tanto de la vía urinaria y como de la fecal, tras administración por vía intravenosa. Tanto la concentración máxima como el AUC<sub>total</sub> presentan una correlación lineal con la dosis. Tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, pudiendo actuar directamente sobre la actividad del proteasoma a nivel del sistema nervioso central. Por otra parte, los estudios realizados hasta el momento indican que el comportamiento del fármaco no varía con la administración repetida. Este fármaco es activo, además de por vía intravenosa, por vía oral con una biodisponibilidad del 30-40%. (Singh et al., 2010; Obaidat et al., 2011; Potts et al., 2011; Richardson et al., 2016).

Esta molécula ha sido evaluada en numerosos ensayos clínicos, ya sea solo o en combinación con otros fármacos, demostrando su actividad antitumoral *in vivo* e *in vitro*. Se ha comprobado que es eficaz en monoterapia y en combinación con otros agentes antitumorales para el tratamiento de varios tipos de tumores malignos hematológicos como el mieloma múltiple, la macroglobulinemia de Waldenström, leucemia linfocítica aguda y crónica, linfoma de células del manto y linfoma de Hodgkin, además de algunos tumores sólidos como el carcinoma colorrectal, el de páncreas y el glioma, entre otros (Potts et al., 2011; Richardson et al., 2016). Alguna de estas aplicaciones las desarrollaremos en los siguientes apartados.

Entre los efectos secundarios reportados del uso de este fármaco son de tipo leve podemos mencionar fatiga, náuseas y vómitos, diarrea, mareos y dolor en el lugar de la administración (Jiménez et al., 2020).

#### **4.4.1. Aplicación en mieloma múltiple**

El mieloma múltiple (MM) es un tipo de cáncer que afecta a las células plasmáticas, situadas principalmente en la médula ósea y que forman parte del sistema inmune. Las células plasmáticas se generan tras la maduración de los linfocitos B y son las encargadas de la producción de anticuerpos (Nagy, 2016).

Ocupa el segundo lugar en prevalencia de neoplasias hematológicas. Esta enfermedad se caracteriza por el aumento de la producción de inmunoglobulinas intactas, que no son funcionales, ocasionando anemia, lesiones a nivel de la estructura ósea, aumento de los niveles de calcio, cansancio, dolor, aumento de las infecciones e insuficiencia renal (Brigle et al., 2017)

Este tipo de enfermedad aparece predominantemente en la población anciana y se trata de la enfermedad maligna más frecuente de la médula ósea (Nagy, 2016).

La estrategia más exitosa para el tratamiento de este tipo de cáncer se basa en inhibidores del proteasoma.

El Marizomib fue sometido a numerosos estudios de diverso tipo y llevado a ensayo clínico, donde se obtuvieron varias conclusiones (Potts et al., 2011):

- 1- Presenta actividad apoptótica en las células de mieloma múltiple sensibles y resistentes a otros tratamientos.
- 2- La concentración mínima inhibitoria está dentro del rango de nano molar.
- 3- No disminuye la concentración de los linfocitos no mutados.

Este metabolito disminuye el potencial de la membrana mitocondrial de las células plasmáticas mutadas, aumenta la producción de la especie reactiva de oxígeno superóxido y por último, activa a proteínas apoptóticas mitocondriales y la escisión de algunas caspasas, especialmente, la caspasa 8 (Chauhan et al., 2005).

Marizomib no solo induce la apoptosis de las células del MM sino que también regula a la baja vías de señalización y crecimiento celular de las mismas. Además, inhibe a un grupo de proteínas encargadas de la regulación del crecimiento y supervivencia celular, respuestas inmunitarias e inflamatorias, llamado NF-kB (Ahn et al., 2007).

El estudio *in vivo* realizado en el año 2011 por Potts y colaboradores fue llevado a cabo en ratones que utilizaban un xenoinjerto. Se comprobó que el Marizomib era bien tolerado cuando se administraba por vía intravenosa, prolongaba la supervivencia murina y disminuirá las recaídas. Finalmente, en este estudio preclínico se concluyó que la potente acción antitumoral de este fármaco solo o en combinación debería ser evaluada en ensayos clínicos (Potts et al., 2011).

#### **4.4.2. Aplicación en glioma**

El glioma es un tipo de tumor sólido muy agresivo que se desarrolla en el tejido cerebral y en el de la médula espinal. Según la fundación Johns Hopkins Medicine, suponen el 33% de los tumores cerebrales. Existen distintos tipos de gliomas en función de las características de las células afectadas, su localización y la gravedad (Chen et al., 2017).

El glioblastoma, un tipo de glioma, es el cáncer del sistema nervioso central más maligno, con una esperanza de vida de 15 a 17 meses. Su incidencia aumenta con la edad, siendo más frecuente en varones. El enfoque habitual para su tratamiento se basa en cirugía y radioterapia en combinación con temozolomida, único fármaco que ha demostrado ser eficaz (Vlashi et al., 2010). Sin embargo, el pronóstico de estos pacientes sigue siendo malo, la mayoría sufre una recaída dentro de los 9 meses posteriores al diagnóstico de la enfermedad. Esto genera la

necesidad de encontrar alternativas más potentes y eficaces para combatir esta enfermedad (Tan et al., 2020; Bota et al., 2021).

Como ya hemos comentado, el Marizomib tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica y de este modo, puede inhibir la actividad del proteasoma *in vivo*. Numerosos estudios han demostrado la capacidad de Marizomib de inhibir la proliferación, migración e invasión de células del glioma, inducir su apoptosis y aumentar la generación de especies reactivas de oxígeno (Kaijun et al., 2016).

En el estudio realizado por Boccellato y colaboradores en el año 2021 se evaluó la eficacia del tratamiento del glioblastoma a través de la combinación de Marizomib y el agonista del receptor TRAIL de última generación conocido como IZI1551. La principal conclusión que se obtuvo de este trabajo es que el tratamiento previo de los pacientes de glioblastoma con Marizomib mejora la capacidad de respuesta de las células al agonista del receptor TRAIL, además, las toxicidades se encuentran dentro de los límites manejables (Boccellato et al., 2021).

En el caso del glioblastoma recurrente, se realizó un ensayo clínico de fase I y II para evaluar la efectividad de este fármaco en monoterapia y en combinación con bevacizumab. Los pacientes sometidos al ensayo presentaban glioma maligno en grado IV y estaban sufriendo una primera o segunda recaída, por lo que habían sido tratados previamente con la terapia de primer escalón. Los resultados de este estudio concluyeron que ni la monoterapia ni la combinación de ambos fármacos demostraron una eficacia superior a tratamientos existentes (Bota et al., 2021).

#### **4.4.3. Aplicación en cáncer de mama triple negativo**

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es una neoplasia maligna que afecta al tejido mamario. Se caracteriza, principalmente, por la ausencia de receptores de estrógeno, de progesterona y de receptores Her2, de ahí su nombre. La ausencia de estos receptores dificulta su diagnóstico. Este tipo de tumor supone el 10-15% de todos los cánceres de mama (Collado et al., 2021).

Se trata de una enfermedad con mayor prevalencia en mujeres jóvenes, muy agresiva y con rápida capacidad de metastatización, siendo, por lo tanto, difícil de tratar. La principal razón por la que las terapias conocidas no son eficaces es porque no son capaces de eliminar de forma agresiva a las células iniciadoras del tumor, conocidas en este caso como células madre del cáncer de mama (BCSC), esto se debe a que son resistentes a la quimioterapia y radioterapia (Balic et al., 2006).

Por ello, en busca de nuevas alternativas, se ha evaluado tanto *in vitro* como *in vivo* la efectividad del Marizomib para el tratamiento de este tipo de tumor, ya que, como hemos dicho, es efectivo para el tratamiento de otros tumores sólidos y hematológicos (Chauhan et al., 2006).

Se ha observado que la vía del proteasoma presenta una mayor actividad en este tipo de cáncer que en el resto de los cánceres de mama. Se realizó un estudio en el año 2020 en el que se comprobó que Marizomib reduce la proliferación de la células CMTN malignas de forma dosis-dependiente, siendo su efecto mínimo sobre las células mamarias no cancerígenas. Los ensayos *in vivo* se realizaron sobre xenoinjertos, esto permitió determinar que este metabolito tiene la capacidad de suprimir el crecimiento del tumor TNBC, reduciendo además el peso del mismo (Raniga et al., 2020).

Las conclusiones del estudio realizado sobre Marizomib fueron (Raniga et al., 2020):

- Suprime el crecimiento de este tipo de tumor primario
- Inhibe, de forma significativa, la metástasis en pulmones y cerebro *in vivo*

Por otra parte ha supuesto el descubrimiento de un nuevo mecanismo anticancerígeno: regulación a la baja de las proteínas OXPHOS. Este estudio justifica la realización de ensayos clínicos (Raniga et al., 2020).

## 5. CONCLUSIONES

Tras la realización de este Trabajo de Fin de Grado de carácter bibliográfico podemos establecer las siguientes conclusiones:

1. Los microorganismos halófilos son productores de una gran cantidad de sustancias bioactivas, desde compuestos utilizados en la industria alimentaria o la textil hasta compuestos utilizados en la industria farmacéutica y médica entre otros.
2. La necesidad de nuevos fármacos con propiedades antimicrobianas y anticancerígenas es una realidad, debido a la aparición de bacterias multirresistentes y a la elevada tasa de mortalidad relacionada con el cáncer.
3. Los marinopirroles A y B han demostrado ser efectivos en el tratamiento de las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Aunque, debido a sus malas propiedades farmacocinéticas ha sido necesaria la obtención de derivados de estos para poder utilizarlos como fármacos.
4. Marizomib es un compuesto producido por un actinobacteria halófila con actividad antitumoral con utilidad actual en numerosos tipos de cáncer y potencial para cánceres más difíciles de tratar. Se han llevado a cabo numerosos ensayos clínicos con esperanzadores resultados. Sin embargo, aún se necesita continuar con la investigación.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Abrol, IP, Yadav JSP, Massoud FI. Salt-affected soils and their management. FAO soils bulletin 39 (Rome). 1988.

Ahn KS, Sethi G, Chao TH, Neuteboom ST, Chaturvedi MM, Palladino MA, et al. Salinosporamide A (NPI-0052) potentiates apoptosis, suppresses osteoclastogenesis, and inhibits invasion through down-modulation of NF-kappaB regulated gene products. *Blood*. 2007; 110(7): 2286-95.

Alba A, López-Abarrategui C, Otero-González AJ. Host defense peptides: an alternative as anti-infective and immunomodulatory therapeutics. *Biopolymers*. 2012; 98(4): 251-67.

Amoozegar MA, Siroosi M, Atashgahi S, Smidt H, Ventosa A. Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. *Microbiology (Reading)*. 2017; 163(5): 623-45.

Balic M, Lin H, Young L, Hawes D, Giuliano A, McNamara G, et al. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. *Clin Cancer Res*. 2006; 12(19): 5615-21.

Bell R, Carmeli S, Sar N. Vibrindole A, a Metabolite of the marine bacterium, *Vibrio parahaemolyticus*, isolated from the toxic mucus of the boxfish *Ostracion cubicus*. *J Nat Prod*. 1994; 57 (11): 1587-90.

Bjerk TR, Severino P, Jain S, Marques C, Silva AM, Pashirova T, Souto EB. Biosurfactants: Properties and Applications in Drug Delivery, Biotechnology and Ecotoxicology. *Bioengineering (Basel)*. 2021; 8(8): 115.

Boccellato C, Kolbe E, Peters N, Juric V, Fullstone G, Verreault M, et al. Marizomib sensitizes primary glioma cells to apoptosis induced by a latest-generation TRAIL receptor agonist. *Cell Death Dis*. 2021; 12(7): 647.

Bose U, Hewavitharana A, Ng Y, Shaw P, Fuerst J, Hodson M. LC-MS-based metabolomics study of marine bacterial secondary metabolite and antibiotic production in *Salinispora arenicola*. *Mar Drugs*. 2015; 13 (1): 249-66.

Bota DA, Mason W, Kesari S, Magge R, Winograd B, Elias I, et al. Marizomib alone or in combination with bevacizumab in patients with recurrent glioblastoma: Phase I/II clinical trial data. *Neurooncol Adv*. 2021; 3(1): vda142.

Brigle K, Rogers B. Pathobiology and Diagnosis of Multiple Myeloma. *Semin Oncol Nurs*. 2017; 33(3): 225-36.

Carvalho HA, Villar RC. Radiotherapy and immune response: the systemic effects of a local treatment. *Clinics (Sao Paulo)*. 2018; 73(suppl 1): e557s.

Chauhan D, Catley L, Li G, Podar K, Hideshima T, Velankar M, et al. A novel orally active proteasome inhibitor induces apoptosis in multiple myeloma cells with mechanisms distinct from Bortezomib. *Cancer Cell*. 2005; 8(5): 407-19.

Chauhan D, Hideshima T, Anderson KC. A novel proteasome inhibitor NPI-0052 as an anticancer therapy. *Br J Cancer*. 2006; 95(8): 961-5.

Chen R, Smith-Cohn M, Cohen AL, Colman H. Glioma Subclassifications and Their Clinical Significance. *Neurotherapeutics*. 2017; 14(2): 284-97.

Cheng C, Pan L, Chen Y, Song H, Qin Y, Li R. Total synthesis of (+/-)-marinopyrrole A and its library as potential antibiotic and anticancer agents. *J Comb Chem*. 2010; 12(4): 541-7.

Cheng P, Clive DL, Fernandopulle S, Chen Z. Racemic marinopyrrole B by total synthesis. *Chem Commun (Camb)*. 2013; 49(6): 558-60.

Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. 2021; 12(1): 547-69.

Collado MV, Gandur MN, Aguilar A, Cugliari MS, Pulero C, Guidi MM, Cáceres MV, D'Ortencio A. Cáncer de mama triple negativo, abortos a repetición e isquemia digital grave [Triple negative breast cancer, repeated abortions and severe digital ischemia]. *Medicina (B Aires)*. 2021; 81(2): 289-92.

Conlon BP. *Staphylococcus aureus* chronic and relapsing infections: Evidence of a role for persister cells: An investigation of persister cells, their formation and their role in *S. aureus* disease. *Bioessays*. 2014; 36(10): 991-6.

Contreras-Castro L, Martínez-García S, Cancino-Díaz JC, Maldonado LA, Hernández-Guerrero CJ, Martínez-Díaz SF, et al. Marine Sediment Recovered *Salinispora* sp. Inhibits the Growth of Emerging Bacterial Pathogens and other Multi-Drug-Resistant Bacteria. *Pol J Microbiol*. 2020; 69(3): 321-30.

Corral P, Amoozegar MA, Ventosa A. Halophiles and Their Biomolecules: Recent Advances and Future Applications in Biomedicine. *Mar Drugs*. 2019; 18(1): 33.

Corral P, Esposito FP, Tedesco P, Falco A, Tortorella E, Tartaglione L et al. Identification of a Sorbicillinoid-Producing *Aspergillus* Strain with Antimicrobial Activity Against *Staphylococcus aureus*: a New Polyextremophilic Marine Fungus from Barents Sea. *Mar Biotechnol (NY)*. 2018; 20(4): 502-11.

Daza Pérez RM. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica Del Sistema Nacional de Salud*. 1998; 22: 57-67.

Di K, Lloyd GK, Abraham V, MacLaren A, Burrows FJ, Desjardins A, et al. Marizomib activity as a single agent in malignant gliomas: ability to cross the blood-brain barrier. *Neuro Oncol.* 2016; 18(6): 840-8.

Durán A. Tesis doctoral: Superando los límites del cultivo: taxogenómica y genómica comparativa de las nuevas haloarqueas, 2020.

Fajardo-Gutiérrez A, Rendón-Macías ME. Importancia del "diagnóstico temprano" en los niños con cáncer para mejorar el pronóstico: concepto con poco sustento científico. *Gac Med Mex.* 2018; 154(4): 520-6.

Fenical W, Jensen PR, Palladino MA, Lam KS, Lloyd GK, Potts BC. Descubrimiento y desarrollo del agente anticancerígeno salinosporamida A (NPI-0052) *Bioorg Med Chem.* 2009; 17: 2175-80.

Forsyth MP, Kushner DJ. Nutrition and distribution of salt response in populations of moderately halophilic bacteria. *Can J Microbiol.* 1970; 13, 142-47.

Fox-Powell MG, Hallsworth JE, Cousins CR, Cockell CS. Ionic Strength Is a Barrier to the Habitability of Mars. *Astrobiology.* 2016; 16(6): 427-42.

Gérvás J. La resistencia a los antibióticos, un problema de salud pública. *Aten Primaria.* 2000; 25: 589-96.

Giani M, Garbayo I, Vílchez C, Martínez-Espinosa RM. Haloarchaeal Carotenoids: Healthy Novel Compounds from Extreme Environments. *Mar Drugs.* 2019; 17(9): 524.

Gil-Gil T, Laborda P, Sanz-García F, Hernando-Amado S, Blanco P, Martínez JL. Antimicrobial resistance: A multifaceted problem with multipronged solutions. *Microbiologyopen.* 2019; 8(11): e945.

Giordano D. Bioactive Molecules from Extreme Environments. *Mar Drugs.* 2020; 18(12): 640.

Gohel SD, Sharma AK, Dangar KG, Thakrar FJ, Singh SP Potencial antimicrobiano y biocatalítico de las actinobacterias haloalcalófilas. En: Maheshwari DK, Saraf M., editores. *halófilos. Volumen 6.* Springer; Heidelberg, Alemania; 2015. p. 29-55.

González-Hernández JC, Peña A. Estrategias de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (Levadura halófila). *Rev Latinoam Microbiol.* 2002; 44(3-4): 137-56.

Groffman PM, Bohlen PJ. Soil and sediment biodiversity: Cross-system comparisons and large-scale effects. *Bioscience.* 1999; 49 (2): 139-48.

Gunde-Cimerman N, Oren A, Plemenitaš A. Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations. *FEMS Microbiol.* 2018; 42(3): 353-75.

Hughes CC, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical W. Structures, reactivities, and antibiotic properties of the marinopyrroles A-F. *J Org Chem.* 2010; 75(10): 3240-50.

Hughes CC, Prieto-Davo A, Jensen PR, Fenical W. The marinopyrroles, antibiotics of an unprecedented structure class from a marine *Streptomyces* sp. *Org Lett.* 2008; 10(4): 629-31.

Jakubiec-Krzesniak K, Rajnisz-Mateusiak A, Guspiel A, Ziemska J, Solecka J. Secondary Metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties. *Pol J Microbiol.* 2018; 67(3): 259-72.

Jimenez PC, Wilke DV, Branco PC, Bauermeister A, Rezende-Teixeira P, Gaudêncio SP, et al. Enriching cancer pharmacology with drugs of marine origin. *Br J Pharmacol.* 2020; 177(1): 3-27.

Kim H, Kim S, Kim M, Lee C, Yang I, Nam SJ. Bioactive natural products from the genus *Salinospora*: a review. *Arch Pharm Res.* 2020; 43(12): 1230-58.

Kisselev AF, Callard A, Goldberg AL. Importance of the different proteolytic sites of the proteasome and the efficacy of inhibitors varies with the protein substrate. *J Biol Chem.* 2006; 281(13): 8582-90.

Kisselev AF. Site-Specific Proteasome Inhibitors. *Biomolecules.* 2021; 12(1): 54.

Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev.* 2018; 31(4): e00020-18.

Liu Y, Haste NM, Thienphrapa W, Li J, Nizet V, Hensler M, Li R. Marinopyrrole derivatives as potential antibiotic agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (III). *Mar Drugs.* 2014; 12(5): 2458-70.

Liu Y, Haste NM, Thienphrapa W, Nizet V, Hensler M, Li R. Marinopyrrole derivatives as potential antibiotic agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (I). *Mar Drugs.* 2012; 10(4): 953-62.

Lucena-Padrós H, Ruíz-Barba JL. Diversity and enumeration of halophilic and alkaliphilic bacteria in Spanish-style green table-olive fermentations. *Food Microbiol.* 2016; 53: 53-62.

Ma L, Diao A. Marizomib, a potent second generation proteasome inhibitor from natural origin. *Anticancer Agents Med Chem.* 2015; 15(3): 298-306.

Macherla VR, Mitchell SS, Manam RR, Reed KA, Chao TH, Nicholson B, et al. Structure-activity relationship studies of salinosporamide A (NPI-0052), a novel marine derived proteasome inhibitor. *J Med Chem.* 2005; 48(11): 3684-7.

Mackay J, Jemal A, Lee NC, Parkin DM. *El Atlas del Cáncer.* Atlanta: Sociedad Americana del Cáncer; 2006.

- Martin DD, Ciulla RA, Roberts MF. Osmoadaptation in Archaea. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65(5): 1815-25.
- Matsuda S, Adachi K, Matsuo Y. Salinisporamicina, un nuevo metabolito de *Salinispora arenicora*. *J Antibiot.* 2009; 62(9): 519-26.
- Medina E, Ruiz-Bellido MA, Romero-Gil V, Rodríguez-Gómez F, Montes-Borrego M, Landa BB, et al. Assessment of the bacterial community in directly brined Aloreña de Málaga table olive fermentations by metagenetic analysis. *Int J Food Microbiol.* 2016; 236: 47-55.
- Medina Morales A, Machado Duque ME, Machado-Alba J. Resistencia a los antibióticos, una crisis global. *Rev Méd Risaralda.* 2015; 21(1): 74.
- Mesbah NM, Wiegel J. Life under multiple extreme conditions: diversity and physiology of the halophilic alkalithermophiles. *Appl Environ Microbiol.* 2012; 78(12): 4074-82.
- Mesbah NM, Abou- Mesbah NM, Abou-El-Ela SH, Wiegel J. Novel and unexpected prokaryotic diversity in water and sediments of the alkaline, hypersaline lakes of the Wadi An Natrun, Egypt. *Microb Ecol.* 2007; 54(4): 598-617.
- Mesbah NM, Wiegel J. Life at extreme limits: the anaerobic halophilic alkalithermophiles. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1125: 44-57.
- Meseguer I. Los microorganismos halófilos y su potencial aplicado a la biotecnología. 2004 I.S.S. N 1561-0861.
- Muñoz Martín AJ, Ramírez SP, Morán LO, Zamorano MR, Benítez MCV, Salcedo IA, Escobar IG, Fernández JMS. Pharmacological cancer treatment and venous thromboembolism risk. *Eur Heart J Suppl.* 2020; 22(Suppl C): C2-C14.
- Nagy Z. Multiple myeloma and other plasma cell dyscrasias. *Magy Onkol.* 2016; 60(2): 154-63.
- Obaidat A, Weiss J, Wahlgren B, Manam RR, Macherla VR, McArthur K, et al. Proteasome regulator marizomib (NPI-0052) exhibits prolonged inhibition, attenuated efflux, and greater cytotoxicity than its reversible analogs. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011; 337(2): 479-86.
- Oren A, Arahall DR, Ventosa A. Emended descriptions of genera of the family Halobacteriaceae. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009; 59(Pt 3): 637-42.
- Oren A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2002; 28(1): 56-63.
- Oren A. Population dynamics of halobacteria in the Dead Sea water column. *Limnol Oceanogr.* 1983; 28(6): 1094-103.

- Orth M, Lauber K, Niyazi M, Friedl AA, Li M, Maihöfer C, Schüttrumpf L, Ernst A, Niemöller OM, Belka C. Current concepts in clinical radiation oncology. *Radiat Environ Biophys.* 2014; 53(1): 1-29.
- Padilha M, Henriques M, Guardado MJ, Miranda C, Melo G, Alves P. Radioterapia e hormonoterapia a título neoadjuvante no carcinoma localmente avançado da mama: estado da arte. *Acta Med Port.* 2012; 25(6): 422-6.
- Pereira RB, Evdokimov NM, Lefranc F, Valentão P, Kornienko A, Pereira DM, Andrade PB, Gomes NGM. Marine-Derived Anticancer Agents: Clinical Benefits, Innovative Mechanisms, and New Targets. *Mar Drugs.* 2019; 17(6): 329.
- Plemenitaš A, Lenassi M, Konte T, Kejžar A, Zajc J, Gostinčar C, Gunde-Cimerman N. Adaptation to high salt concentrations in halotolerant/halophilic fungi: a molecular perspective. *Front Microbiol.* 2014; 5: 199.
- Potts BC, Albitar MX, Anderson KC, Baritaki S, Berkers C, Bonavida B, et al. Marizomib, a proteasome inhibitor for all seasons: preclinical profile and a framework for clinical trials. *Curr Cancer Drug Targets.* 2011; 11(3): 254-84.
- Potts BC, Lam KS. Generating a generation of proteasome inhibitors: from microbial fermentation to total synthesis of salinosporamide a (marizomib) and other salinosporamides. *Mar Drugs.* 2010; 8(4): 835-80.
- Puente R, Omar E, Jesús OG, Hoyos B, Manuel J, Jesús, LE, et al. Los fertilizantes biológicos en la agricultura. *Invurnus.* 2015; 10(1): 10-7.
- Raninga PV, Lee A, Sinha D, Dong LF, Datta KK, Lu X, et al. Marizomib suppresses triple-negative breast cancer via proteasome and oxidative phosphorylation inhibition. *Theranostics.* 2020; 10(12): 5259-5275.
- Rezaeeyan Z, Safarpour A, Amoozegar MA, Babavalian H, Tebyanian, H, Shakeri F. High carotenoid production by a halotolerant bacterium, *Kocuria* sp. strain QWT-12 and anticancer activity of its carotenoid. *EXCLI J.* 2017; 16: 840-51.
- Rhoades JD, Chanduvi F, Lesch S. Soil salinity assessment. Methods and interpretation of electrical conductivity measurements. *FAO.* 1999; 57: 1-150.
- Richardson PG, Zimmerman TM, Hofmeister CC, Talpaz M, Chanan-Khan AA, Kaufman JL, et al. Phase 1 study of marizomib in relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma: NPI-0052-101 Part 1. *Blood.* 2016; 127(22): 2693-700.

- Rodríguez-Valera F, Ruiz-Berraquero F, Ramos-Cormenzana A. Characteristics of the heterotrophic bacterial populations in hypersaline environments of different salt concentrations. *Microb Ecol.* 1981; 7(3): 235-43.
- Rodríguez-Valera F. Biotechnological potential of halobacteria. *Biochem Soc Symp.* 1992; 58: 135-47.
- Rodríguez-Valera F. Characteristics and microbial ecology of hypersaline environments. En: Rodríguez-Valera, F, editor. *Halophilic Bacteria.* CRC Press, Boca Raton,; 1998; p. 3-30.
- Rodríguez-Valera F, Juez G, Kushner DJ. Halocinas: bacteriocinas dependientes de la sal producidas por bastones extremadamente halófilos. *J. Microbiol.* 1982; 28: 151-154.
- Rothschild LJ, Mancinelli RL. Life. in extreme environments. *Nature.* 2001; 409(6823): 1092-101.
- Roy PS, Saikia BJ. Cancer and cure: A critical analysis. *Indian J Cancer.* 2016; 53(3): 441-2.
- Sánchez-Porro C, de la Haba RR, Soto-Ramírez N, Márquez MC, Montalvo-Rodríguez R, Ventosa A. Description of *Kushneria aurantia* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Halomonadaceae, and a proposal for reclassification of *Halomonas marisflavi* as *Kushneria marisflavi* comb. nov., of *Halomonas indalinina* as *Kushneria indalinina* comb. nov. and *Halomonas avicenniae* as *Kushneria avicenniae* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009; 59(2): 397-405.
- Santhaseelan H, Dinakaran VT, Dahms HU, Ahamed JM, Murugaiah SG, Krishnan M, Hwang JS, Rathinam AJ. Recent Antimicrobial Responses of Halophilic Microbes in Clinical Pathogens. *Microorganisms.* 2022; 10(2): 417.
- Schmidt TM, Schaechter M. Sediment habitats. En: Schmidt TM, Schaechter M, editores. *Topics in Ecological and Environmental Microbiology.* Academic Press, Amsterdam. 2011; p. 749.
- Sharma J, Sundar D, Srivastava P. Biosurfactants: Potential Agents for Controlling Cellular Communication, Motility, and Antagonism. *Front Mol Biosci.* 2021; 8:727070.
- Singh AV, Palladino MA, Lloyd GK, Potts BC, Chauhan D, Anderson KC. Estudios farmacodinámicos y de eficacia del nuevo inhibidor del proteasoma NPI-0052 (marizomib) en un modelo murino de xenoinjerto de plasmocitoma humano. *Br J Haematol.* 2010; 149(4): 550-9.
- Tan AC, Ashley DM, López GY, Malinzak M, Friedman HS, Khasraw M. Management of glioblastoma: State of the art and future directions. *CA Cancer J Clin.* 2020; 70(4): 299-312.

- Tanaka T, Shnimizu M, Moriwaki H. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules*. 2012; 17(3): 3202-42.
- Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversit, life strategies, and adaptations to life in extreme soils. En: Dion P, Nautiyal S, editores. *Microbiology of Extreme Soils*,. Springer-Verlag, Berlin: Heidelberg; 2008. p. 15-43.
- Tseng WP, Chen YC, Chen SY, Chen SY, Chang SC. Risk for subsequent infection and mortality after hospitalization among patients with multidrug-resistant gram-negative bacteria colonization or infection. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018; 7: 93.
- Ventosa A. Unusual micro-organisms from unusual habitats: hypersaline environments. En: Logan NA, Lappin-scott HM, Oyston PCF, editores. *Prokaryotic diversity- mecanisms and significance*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006. p. 223-53.
- Vera B. Tesis doctoral: Diversidad filogenómica y funcional de procariotas de suelos hipersalinos. 2018.
- Vlashi E, Mattes M, Lagadec C, Donna LD, Phillips TM, Nikolay P, McBride WH, Pajonk F. Differential Effects of the Proteasome Inhibitor NPI-0052 against Glioma Cells. *Transl Oncol*. 2010; 3(1): 50-5.
- Wang Y, Zheng J, Liu P, Wang W, Zhu W. Tres nuevos compuestos de *Aspergillus terreus* PT06-2 cultivados en un medio alto en sal. *Drogas marinas*. 2011; 9(8): 1368-78.
- Yamanaka K, Ryan KS, Gulder TA, Hughes CC, Moore BS. Flavoenzyme-catalyzed atropo-selective N,C-bipyrrole homocoupling in marinopyrrole biosynthesis. *J Am Chem Soc*. 2012; 134(30): 12434-7.
- Yang Z, Liu Y, Ahn J, Qiao Z, Endres JL, Gautam N, et al. Novel fluorinated pyrrolomycins as potent anti-staphylococcal biofilm agents: Design, synthesis, pharmacokinetics and antibacterial activities. *Eur J Med Chem*. 2016; 124: 129-137.