



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
ACTIVIDAD ANTIVIRAL DE
POLISACÁRIDOS EXTRAÍDOS DE PLANTAS**

Autor: Virginia González del Campo Rollán

D.N.I.:53940458 F

Tutor: Estefanía Hernández Benito

Convocatoria: 23 de Junio

RESUMEN

Los polisacáridos presentes en algas son una fuente potencial para el desarrollo de nuevos medicamentos, no sólo por su efectiva actividad antiviral sino por su amplio abanico de propiedades biológicas.

Dado que su extracción a partir de algas resulta menos compleja que desde otros organismos vegetales, las metas futuras se centran en estos polisacáridos, y su posterior modificación química para conseguir una potenciación del efecto antiviral.

Su estructura condiciona de manera significativa el modo en el que son capaces de actuar frente a distintos virus. La presencia de restos aniónicos en estas macromoléculas, así como un elevado peso molecular, dificulta la interacción del virus con las células diana.

Aunque su principal mecanismo de acción se basa en el bloqueo de la unión entre la partícula vírica y la célula huésped, también son capaces de interferir en otras etapas del ciclo de multiplicación viral.

Los estudios realizados hasta el momento han obtenido resultados satisfactorios. Sin embargo su eficacia y seguridad han sido demostradas en condiciones muy limitadas, por lo que es necesario corroborarlas con ensayos futuros.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Los polisacáridos, también conocidos por su estructura, como glicanos, son la forma de carbohidrato más abundante en la naturaleza. Los polisacáridos son macromoléculas, utilizadas por los vegetales bien como materiales estructurales o bien como formas de almacenamiento de energía. Además constituyen un elemento de defensa frente al medio externo, que proporciona rigidez a las paredes celulares de las plantas y aporta flexibilidad a las algas. Pueden encontrarse formando una estructura lineal o ramificada, y están constituidos por un gran número de unidades de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos. El peso molecular de los polisacáridos no tiene un valor fijo, a diferencia de los ácidos nucleicos y las proteínas, ya que el tamaño de los polisacáridos refleja el estado metabólico de la célula que lo produce. (Mckee, T. *et al* 2003).

Los polisacáridos pueden dividirse en dos grandes grupos: polisacáridos homogéneos, formados por un único tipo de monosacárido, y heterogéneos, compuestos por dos o más tipos de monosacáridos. Dentro de los polisacáridos homogéneos encontramos glucanas (almidón, celulosa y dextranos), xilanas, galactanas y fructanas (insulina, fleina). Los polisacáridos heterogéneos engloban por su parte a gomas, mucílagos y pectinas.

En función de su fuente de extracción, la estructura de los polisacáridos puede diferir en la naturaleza de sus componentes así como en la cantidad y longitud de sus ramificaciones. Actualmente, uno de los objetivos más perseguidos es el desarrollo de nuevas rutas de síntesis que modifiquen, a través de la variación química y la combinación con otros polímeros, sus actividades biológicas. (Ahmadi, A *et al* 2015).

Se sabe que la vacuna representa la forma más efectiva de prevención frente a las enfermedades virales, tales como el sarampión, la poliomielitis, o la viruela. Sin embargo, actualmente, para otras enfermedades víricas como la hepatitis C, el dengue, el herpes virus o el VIH no existen vacunas efectivas, por lo que en estos casos es necesario aplicar la quimioterapia antiviral. En los últimos años, la salud humana se ha visto afectada por el estallido constante de enfermedades víricas emergentes o reemergentes, lo que ha desencadenado la búsqueda de nuevos agentes antivirales, así como la mejora y combinación de los ya existentes. Aunque la aprobación de nuevas drogas contra los virus haya aumentado, el equipo antiviral es todavía pequeño y

limitado al tratamiento de unos pocos virus, y se hace necesario considerar otros aspectos importantes como son la eficacia del fármaco, su toxicidad, y su coste, así como la continua aparición de resistencias. Es por ello que el desarrollo de agentes antivirales extraídos de plantas constituye una alternativa promisoría frente a los fármacos de síntesis dada su gran diversidad molecular, su facilidad de obtención y su elevada funcionalidad biológica. (Matulewicz, M.C *et al* 2006).

Numerosos estudios han demostrado que ciertos polisacáridos extraídos de plantas presentan múltiples actividades como antitumoral, antibacteriana y antifúngica, una importante actividad antioxidante y antiinflamatoria, antilipidémica e hipoglucémica, haciendo de ellos unos compuestos bioactivos, con capacidad para ser utilizados como biomateriales. Sus propiedades se deben principalmente a sus características físico-químicas, así como a su estructura. Diversos estudios describen cómo influye en la actividad antiviral la presencia de sulfatos en su estructura, así como el peso molecular que adquieren estos polisacáridos sulfatados, detallando además el que ciertos patrones de sulfatación, la distribución de los restos de azúcar, la complejidad de los polímeros o su composición, pueden ser co-responsables de la potenciación de la eficacia antiviral de dichos polisacáridos. (De Jesus Raposo, M.F. *et al* 2015).

A pesar de ser diversas las fuentes vegetales a partir de las cuales los polisacáridos pueden ser extraídos, las algas son objeto de investigación científica por sus extensas aplicaciones en la industria biomédica, alimentaria, agrícola y farmacéutica, acentuando en esta última, la acción antiviral de los polisacáridos aislados de las mismas.

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión actualizada de polisacáridos extraídos de algas y su potencial actividad antiviral, describiendo en cada caso, el posible mecanismo de acción atribuido a las diferentes estructuras que presentan los polisacáridos.

METODOLOGÍA

La realización de el presente trabajo, se llevó a cabo, mediante la búsqueda bibliográfica de artículos y publicaciones científicas, en las principales bases de datos de ámbito científico, tales como, NCBI-Pubmed , ISI Web, así como en la literatura recogida en

otras fuentes de información como revistas y libros. Tras ello, se llevó a cabo un ejercicio de selección y de síntesis, de entre los aspectos considerados más relevantes.

Palabras clave: polysaccharide, antiviral activity, extraction, algae, viral, plants.

RESULTADOS

Los polisacáridos extraídos de algas presentan, entre otras acciones, actividad antiviral. Se trata de macromoléculas, que debido a su estructura, son capaces de interferir en el ciclo vital de diversos virus e incluso mejorar la respuesta inmune frente a ellos, al acelerar el proceso de eliminación. (Wang, W *et al* 2012).

En la siguiente tabla, se muestra un esquema detallado de los polisacáridos participantes de esta actividad y los virus a los que interfieren, muchos de los cuales, trataremos de describir, a continuación.

| Polisacárido antiviral | Organismo | Virus |
|-------------------------------|---|---------------------------|
| Carragenano | <i>Gigartina skottsbergii</i> | VPH, VHS, VRH, VIH |
| Galactano | <i>Callophyllis variegata</i> , <i>Agardhiella tenera</i> , <i>Schizymenia dubyi</i> , <i>Cryptonemia crenulata</i> | VHS, DENV, VIH, VHA |
| Alginato | <i>Laminaria hyperborea</i> , <i>Laminaria digitata</i> , <i>Laminaria japonica</i> , <i>Ascophyllum nodosum</i> , <i>Macrocystis pyrifera</i> | VIH, VHB |
| Fucano | <i>Adenocytis utricularis</i> , <i>Undaria pinnatifida</i> , <i>Stoechospermum marginatum</i> , <i>Cystoseira indica</i> , <i>Fucus vesiculosus</i> , <i>Sargassum piluliferum</i> , <i>Stoechospermum marginatum</i> | VIH, VHS, DENV, CMV |
| Laminaria | <i>Fucus vesiculosus</i> , <i>Saccharina longicruris</i> , <i>Ascophyllum nodosum</i> | VIH |
| Naviculan | <i>Navicula directa</i> | VHS, VIH |
| P-KG03 | <i>Gyrodinium impudicum</i> | VEMC, virus influenza A |
| A1 and A2 | <i>Cochlodinium polykrikoides</i> | Virus influenza, VRS, VIH |
| PSC y PBT | <i>Sphaerococcus coronopifolius</i> , <i>Boergeseniella thuyoides</i> | VIH, VHS |
| Sea algae extract | <i>Schizymenia pacifica</i> | VIH |
| GFP and GLPE | <i>Grateloupia filicina</i> , <i>Grateloupia longifolia</i> | VIH |
| EA1-20 y EC2-20 | <i>Adenocystis utricularis</i> | VIH, VHS |
| Nostaflan | <i>Nostoc flagelliforme</i> | VHS, CMV, virus influenza |

Tabla 1. Actividad antiviral de polisacáridos extraídos de algas. Modificada de Ahmadi, A. *et al.* 2015.

Siguiendo idéntico orden que la tabla, se describe a continuación los polisacáridos extraídos de algas que han supuesto hasta el momento actual una alternativa promissora en la terapéutica antiviral.

❖ CARRAGENANOS:

Los carragenanos, son polisacáridos sulfatados aniónicos naturales, que aparecen en grandes cantidades en ciertas algas rojas, con una función estructural similar a la de la celulosa en las plantas. Existen tres tipos principales de carragenanos en función de la localización de los grupos sulfato y de la existencia de un resto azucarado (3, 6 anhidrogalactopiranos): ι-carragenanos, κ- carragenanos, y λ- carragenanos.

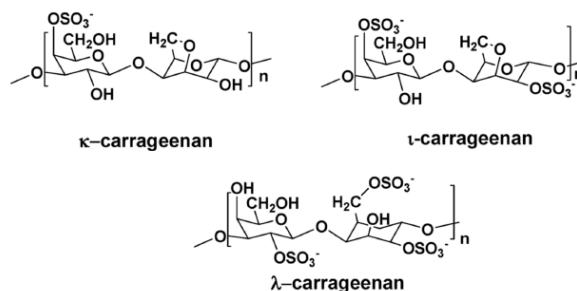


Figura 1. Unidades de repetición de los distintos carragenanos.

(De Jesus Raposo, M.F. *et al* 2015).

Los carragenanos son inhibidores selectivos de diversos virus, tanto con envuelta, como sin ella, y su principal mecanismo de acción es la inhibición de la unión o la internalización del virus, en las células del huésped.

En relación al VPH (virus del papiloma humano) se ha observado *in vitro* que los carragenanos, son unos potentes inhibidores de la fase de inicio del ciclo de infección. Además el λ- carragenano es activo frente a la replicación del VHS (virus herpes simple), lo que desemboca en una inactivación del virión. Por su parte los ι-carragenanos han demostrado en un estudio *in vitro* su potencial como inhibidores del VRH (rinovirus humano), interfiriendo en las primeras etapas de replicación; de hecho, se sugirió que este efecto se podría atribuir a la supresión de la actividad alostérica de las partículas víricas durante la entrada en la célula. Con respecto a los κ- carragenanos,

un reciente estudio *in vivo* reveló que aquellos con un adecuado grado de sulfatación y acetilación demostraron ser unos excelentes candidatos contra el *influenza* virus.

La actividad antiviral de los carragenanos está directamente relacionada con sus pesos moleculares y la existencia de grupos sulfatados, es por ello que determinados carragenanos O acetilados han mostrado reducir la actividad del VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) mediante un proceso de despolimerización y sulfatación. (Ahmadi, A *et al* 2015).

El carragaén (Carraguard®) es un carragenano sulfatado lineal, compuesto por D-galactosa y 3,6-anhidrogalactosa. El carraguard ha mostrado ser capaz de bloquear el VIH y otras enfermedades de transmisión sexual *in vitro*. (Kang, H. *et al* 2015). La formulación de este compuesto se ha evaluado en forma de microbicida de acción tópica, esto es, un producto de tipo emulsión, película o gel, que se aplica en la vagina de forma previa al contacto sexual para disminuir el riesgo de contagio de enfermedades de transmisión sexual. El carragén forma parte de los fármacos anti VIH que inhiben la entrada del virus en la célula huésped. Este tipo de inhibidores interaccionan de forma electrostática con el VIH: el virus posee una superficie cargada positivamente a la cual este compuesto se adhiere ya que tiene carga negativa, debida a su composición en polianiones. De esta manera, la partícula viral queda “retenida” por las cargas negativas del compuesto y así se impide la unión a la célula sana y posterior infección. Este carragenano no ha sido estudiado únicamente como medicamento aislado, sino que también se han llevado a cabo estudios en los que formaba parte de un gel microbicida combinado, el cual contenía además acetato de zinc, y MIV-150. El MIV-150 es otro fármaco anti VIH, del grupo de los inhibidores de transcriptasa inversa no análogo a nucleósidos. A pesar de esto, la elaboración de este polímero para su actuación como microbicida se ha interrumpido en 2015, debido a que los datos del estudio en fase III mostraron que el gel no alcanzaba los objetivos de eficacia esperados en la prevención de la transmisión sexual de VIH. (InfoSIDA 2015)

❖ GALACTANOS:

Los principales polisacáridos extracelulares de las algas rojas se conocen como galactanos sulfatados. Varios de ellos han demostrado una excelente potencia antiviral

frente a diversos virus envueltos tales como el VHS-1 y 2, DENV (dengue virus), VIH 1 y 2, y VHA (virus de la hepatitis A).

En una valoración del potencial antiviral de tres galactanos extraídos del alga *Callophyllis variegata* frente al VHS y DENV, se observó que estos galactanos no sólo tenían un potente efecto inhibitor sobre los virus, sino que también mostraron una muy baja citotoxicidad. Otro galactano sulfatado presente en *Agardhiella tenera* demostró llevar a cabo un control efectivo sobre el VIH. Este galactano sulfatado lleva a cabo su acción inhibitoria por medio del bloqueo de la adhesión del virus a la célula, además de la fijación de la gp120 del VIH sobre el receptor de la célula T CD4 +. (Ahmadi, A *et al* 2015).

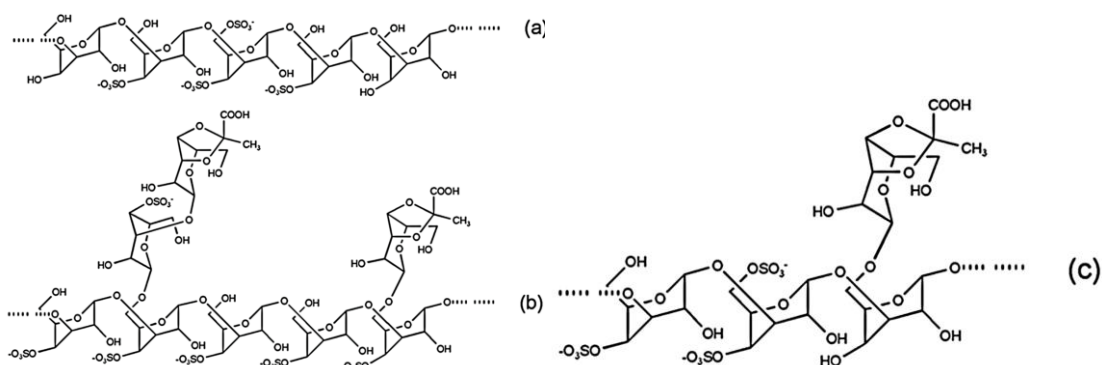


Figura 2. Galactanos de *Codium* spp. (a) (1,3)-β-D-galactano (b) y (c) galactanos sulfatados y piruvilados.

(De Jesus Raposo, M.F. *et al* 2015).

Un glucuronogalactano extraído del alga roja *Schizymenia dubyi* exhibió también actividad anti VIH. Este compuesto es capaz de proteger de forma efectiva a células MT4 de los efectos citopáticos del VIH por medio de la supresión de la formación de sincitios. Los estudios *in vitro* de este compuesto sugieren que su mecanismo de acción se basa en la interferencia de la unión de las partículas víricas a la célula huésped, así como en la inhibición de las etapas iniciales de la infección por este virus. (Kim, S.K *et al* 2015)

Aislado del alga roja *Cryptonemia crenulata*, el galactano híbrido C2S-3 posee una potente y selectiva actividad anti viral frente al dengue virus en células Vero. Su adición durante la adsorción e internalización viral mostró una inhibición dosis dependiente del DENV 2. Sin embargo, cuando las partículas del DENV 2 entran a las células huésped

por un mecanismo alternativo (bypass) al habitual, este galactano no es capaz de bloquear el ciclo de multiplicación.

Los fragmentos que componen a este híbrido son similares a las estructuras repetidas en el heparin sulfato, asemejándose a la secuencia mínima necesaria para interacción con la glicoproteína C del VHS (Figura 3). (Kang, H *et al* 2015).

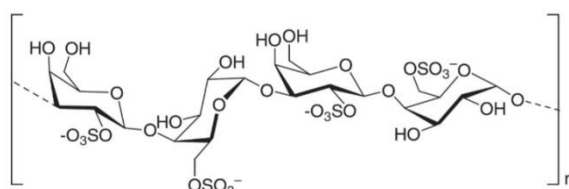


Figura 3: Estructura del galactano híbrido C2S-3. (Kang, H *et al* 2015).

❖ ALGINATOS:

Los alginatos son un tipo de polisacáridos ácidos aniónicos que están ampliamente distribuidos en algas pardas tales como *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pyrifera*. Tienen una estructura lineal, compuesta por una columna principal de ácido poli-D- glucurónico (bloques G) y ácido poli-D- manurónico (bloques M), junto con ácido D-gulurónico y ácido D-manurónico alternados (bloques GM). (Figura4). (Ahmadi, A. *et al* 2015).

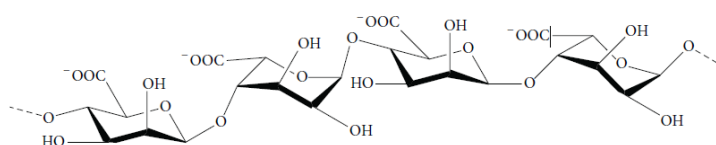


Figura 4. Estructura química de los alginatos, bloque GM. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

El descubrimiento de un fármaco derivado de estos alginatos marinos, llamado 911, supuso un gran avance en el campo de los antivirales procedentes de fuentes vegetales, pues en diversos estudios contra el VIH-1, tanto en la infección crónica de las células H9 como en la infección aguda de células MT4, exhibió una actividad prometedora *in vitro* e *in vivo*. Este fármaco demostró ser capaz de disminuir significativamente la actividad de la transcriptasa inversa así como de llevar a cabo la interrupción de la adsorción del virus, lo que daba lugar a una inhibición de la replicación del VIH. Así

mismo, se observó que la droga 911 no sólo actuaba de forma directa sobre el virus sino que también mejoraba los mecanismos de defensa de las células huésped. El 911 también ha demostrado ser activo frente al VHB (virus de la hepatitis B); la replicación del VHB queda suprimida al ser capaz de interferir con la actividad de la DNA polimerasa. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

Otro alginato con importantes propiedades antivirales es el SPMG (sulfated polymannuroguronate), que es aislado de la especie *Laminaria japonica*, un tipo de alga parda. Este compuesto es capaz de interactuar con la proteína gp120 del VIH, interfiriendo su unión a los receptores CD4 de los linfocitos T. Cuando las proteínas gp 120 del VIH ya se han unido a los CD4, el SPMG sigue interaccionando pero con una menor afinidad. (Meiyu, Gl. *et al* 2003). Se ha sugerido que sus propiedades inhibitorias para el VIH están fuertemente correlacionadas con el tamaño de este SPMG, existiendo una secuencia mínima de ocho azúcares para prevención de la formación del sincitio viral. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

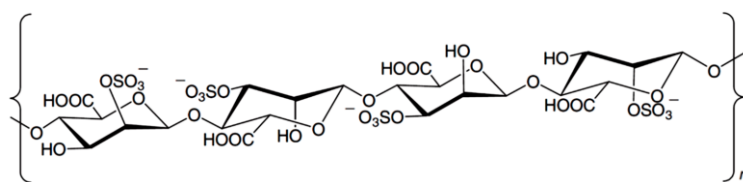


Figura 5: Estructura química del SPMG. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

❖ FUCANOS:

Los fucanos son un tipo de polisacáridos sulfatados, cuyo peso molecular es elevado y que se suelen clasificar en tres subgrupos: glicuronogalactofucanos, fucoidanos y xilofucoglicuronanos. Estos polisacáridos se encuentran formando parte de los tejidos intercelulares o de la matriz mucilaginosa de las algas pardas. La estructura de estos fucanos varía en función de la especie del alga. Los fucanos son polisacáridos que poseen un amplio espectro de actividades biológicas. Al tener unas estructuras tan variadas, cada fucano posee una actividad distinta, y por lo tanto, cada uno de ellos es un nuevo fármaco potencial. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

A parte de muchas otras propiedades evidenciadas tal como antiproliferativa o antiadhesiva, los fucanos son capaces de proteger a las células de infecciones de tipo viral. Los fucanos sulfatados han demostrado ser unos compuestos con actividad preventiva frente a la infección por VIH al bloquear la transcriptasa inversa. En la búsqueda de esta actividad antiviral también se pudo observar que esta propiedad es dependiente, en este tipo de polisacáridos, de la existencia de grupos sulfatados y carboxilos.

Un representante de este tipo de macromoléculas es el MC26; se trata de un compuesto extraído de una especie de alga parda, la *Sargassum piluliferum*. El MC26 fue evaluado en su actividad contra el influenza virus, resultando una potente actividad antiviral y una baja citotoxicidad en comparación con otros compuestos activos conocidos contra este virus. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

En cuanto a los fucoidanos, este término se utiliza para designar a los polisacáridos basados principalmente en L-fucosa sulfatada y menos del 10% en otros monosacáridos. Su estructura y composición es muy variable, dependiendo sobre todo de la especie de la que se aíslan, aunque en su mayoría se trata de fucoidanos sulfatados o acetilados y que pueden llevar anclado ácido urónico. Con respecto a sus propiedades biológicas, los fucoidanos poseen actividad anti RNA y DNA viral, demostrada tanto en estudios *in vivo* como *in vitro*, frente a virus como el VIH, VHS 1 y 2, dengue y citomegalovirus.

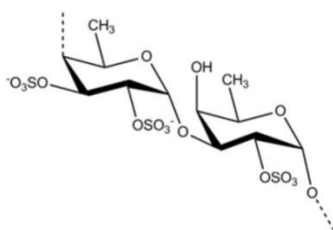


Figura 6: Estructura de un fucoidano. (Kang H. *et al* 2015).

El modo de acción de estos fucoidanos también parece estar basado en el bloqueo de la interacción del virus con la célula huésped, de manera que son capaces de inhibir por tanto la formación del sincitio inducido por el virus.

Adicionalmente, fucoidanos aislados de las especies *Adenocytis utricularis*, *Undaria pinnatifida*, *Stoechospermum marginatum*, y *Cystoseira indica* mostraron que, además de tener una baja citotoxicidad, poseían un potente efecto antiviral frente al VHS.

Otro fucoidano aislado de *F. vesiculosus*, mostró su potencial para inhibir la retrotranscriptasa del VIH in vitro, además de ser capaz de aumentar la respuesta inmune mediante la activación de reacciones inmunológicas activando un aumento de a fagocitosis mediada por macrófagos. Este fucoidano está compuesto únicamente por unidades de fucosa sulfatadas. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

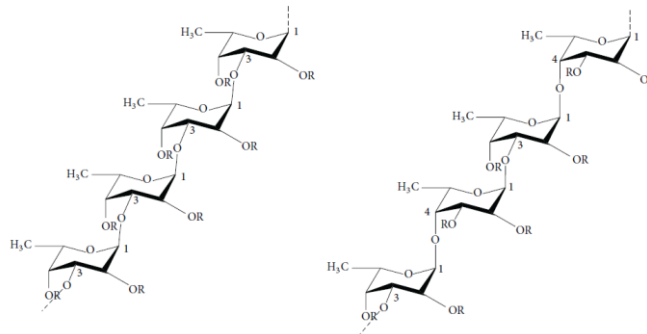


Figura7: Estructura química de dos cadenas principales de fucoidanos. Los grupos R representan sitios de unión para residuos de α -L-fucopiranososa, ácido α -D-glucurónico y grupos acetilo y sulfato. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

❖ LAMINARIA:

La laminaria, un compuesto creado durante la fotosíntesis, es uno de los polisacáridos más abundantes en gran variedad de algas pardas como *Fucus vesiculosus*, *Saccharina longicuris*, y *Ascophyllum nodosum*.

Existen dos tipos de laminaria, en función de la composición de sus cadenas: una está compuesta de residuos de glucosa (cadenas G) y la otra tiene en su extremo residuos de D-manitol (cadenas M). (Figura 8).

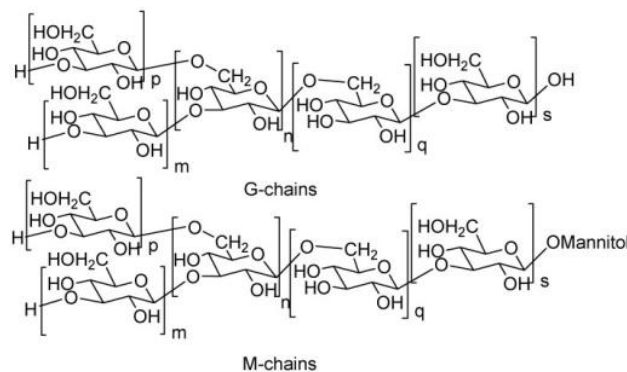


Figura8: Estructuras de las cadenas G y M de laminaria. (Fedorov SN, *et al* 2013).

La laminaria posee actividad anti viral además de una baja citotoxicidad. Polisacáridos laminariales extraídos del queipo (distintos tipos de algas pardas), demostraron ser competentes en la prevención del contagio por VIH, puesto que son capaces de prevenir la adsorción del virus a linfocitos y bloquear la transcriptasa inversa, la cual es clave en la replicación vírica. Por ello, se sugiere que la laminaria es un compuesto inhibidor de la replicación y proliferación del VIH. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

❖ NAVICULAN:

Naviculan es un polisacárido sulfatado extraído del alga diatomea *Navicula directa*. Se trata de un compuesto formado diferentes monosacáridos, tales como galactosa, xilosa, ramnosa, fucosa, y manosa, junto con residuos de sulfato, por todo ello, se trata de macromoléculas con que tiene un peso molecular muy elevado.

Su actividad antiviral ha sido evaluada frente al VHS-1 y VSH-2, resultando efectiva frente a ambos. Este compuesto interfiere con las etapas iniciales de la replicación viral e inhibe la unión, adsorción y penetración en las células huésped. Además lleva a cabo una actividad inhibitoria del virus influenza, a través del bloqueo de la internalización del virus en las células huésped.

Se ha descrito además cómo es capaz de ejercer un efecto inhibitorio de la fusión, entre las células que expresaban receptor CD4 y las células del cultivo que expresaban gp160 (línea celular HeLa usada como modelo de infección del VIH). Este estudio proponía por tanto, al naviculan, como un polisacárido sulfatado con una actividad antiviral muy prometedora. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

❖ P-KG03:

El P-KG03 es un exopolisacárido altamente sulfatado, que es producido y extraído del microalga marina *Gyrodinium impudicum*. Se trata de un polisacárido homogéneo compuesto por unidades de galactosa que se encuentran conjugadas con ácido urónico y grupos sulfato. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

El P-KG03 resultó ser un compuesto muy versátil; conocido por su capacidad de inhibir el crecimiento de células tumorales, este compuesto no sólo posee una potente actividad antiviral, por la cual es capaz de suprimir el efecto citopático asociado a la infección por VEMC (virus de la encefalomiocarditis) en células HeLa, sino que también ha demostrado llevar a cabo la estimulación del sistema inmune a través de la activación de células NK. (Han Yim, J. *et al* 2007)

Un estudio llevado a cabo a por Kim, M. *et al*, se centró en el efecto del P-KG03 sobre virus envueltos, más concretamente en el virus Influenza y en los mecanismos biológicos por los cuales interfería en la infección viral. Este compuesto fue examinado y comparado con otros polisacáridos sulfatados y con agentes antivirales de síntesis (oseltamivir, amantadina y rivabirina). Los resultados hallados *in vitro* en este estudio posicionaron al P-KG03 como un efectivo antiviral frente al virus influenza A. Sin embargo no demostró una total cobertura frente al virus Influenza B. En cuanto a su mecanismo de acción, se observó que la inhibición de la replicación viral era máxima desde el momento de la infección hasta pasadas seis horas, lo que sugería que las etapas sobre las que actuaba este compuesto eran la adsorción e internalización viral. Además se concluyó que su actividad antiviral estaba directamente relacionada con su interacción con las partículas virales. (Kim, M. *et al* 2012).

Todos estos resultados sitúan al P-KG03 en el punto de mira de posibles nuevos estudios con el fin del desarrollo de nuevos agentes antivirales.

❖ A1 Y A2:

Cochlodinium polykrikoides es una especie de microalga marina en la que se han encontrado dos nuevos polisacáridos, A1 y A2, con actividad antiviral. Se trata de polisacáridos sulfatados, compuestos por azúcares como glucosa, galactosa, y manosa, conjugados con ácido urónico y grupos sulfato.

Ambos compuestos mostraron ser efectivos inhibidores de distintos virus: en células MT-4, los efectos citopatogénicos inducidos por la infección por VIH eran suprimidos; de igual manera sucedía en células MDCK infectadas con virus influenza 1 y 2, y en células Hep-2 infectadas por virus respiratorio sincitial tipo A y B. (Kang H. *et al* 2015).

❖ PSC Y PBT:

PSC, extraído de *Sphaerococcus coronopifolius*, y PTB aislado de *Boergeseniella thuyoides*, son dos polisacáridos sulfatados cuya estructura se basa en unidades de galactosa, 3,6-anhidrogalactosa, junto con restos de ácido urónico y sulfato.

Han demostrado ser capaces de inhibir *in vitro* la replicación del VIH, controlando por tanto la aparición de nuevas generaciones virales y suprimiendo los efectos derivados de ellas.

Además, en una línea celular Vero, tanto PSC como PBT suprimieron la replicación del VSH-1, interfiriendo con la etapa de adsorción a la célula huésped. (Kang H. *et al* 2015).

❖ SEA ALGAE EXTRACT:

El SEA, polisacárido sulfatado extraído del alga roja *Schizymenia pacifica*, posee un elevado peso molecular, pues su estructura viene definida por unidades de galactosa, sulfonato, y 3,6- anhidrogalactosa.

Este compuesto es un inhibidor selectivo de la transcriptasa inversa y replicación vírica del VIH *in vitro*. Además tiene la ventaja de no inducir ningún efecto adverso en la proliferación celular. También se observó que el SEA *in vitro* no ejercía ningún efecto sobre la ADN polimerasa α ni la RNA polimerasa II. Se cree que su capacidad para inhibir la retrotranscriptasa está fuertemente influenciada por la presencia de los grupos sulfato en su composición. (Kang H. *et al* 2015).

❖ GFP Y GLPE:

Grateloupia filicina y *Grateloupia longifolia* son dos especies de algas rojas de las que se aíslan GFP y GLPE respectivamente. Se trata de dos polisacáridos sulfatados que han mostrado actividad antirretrovital *in vitro*.

En cuanto a la estructura de estos dos compuestos, se sabe que en el GFP los residuos éster sulfato están situados en el carbono dos del azúcar, con un total del 25,7% de sulfato en su composición mientras que en el GLPE los grupos sulfato se encuentran

tanto en el carbono 2 como en el 6, a pesar de que su composición porcentual en este radical es del 18,5%. (Kim,S.K *et al* 2015).

Aunque la actividad antirretroviral frente a VIH se puede investigar en líneas celulares T y TCLA (T-cell line adapted), GFP y GLPE fueron evaluados en una línea PBMC (peripheral blood mononuclear cells) ya que estas eran más representativas de la situación *in vivo*. Ambos compuestos mostraron ser unos potentes inhibidores frente al VIH cuando eran aplicados en el momento y dos horas post infección, además de poseer una muy baja citotoxicidad. Parece que el modo de acción de estos compuestos se basa en la inhibición de las fases tempranas post-absorción, tal como la internalización o la transmisión célula-célula en los ciclos de replicación.

Estos resultados, junto con la baja citotoxicidad que muestran, los hacen muy buenos candidatos a ser utilizados en formulaciones para evitar la infección viral. (Kang H. *et al* 2015).

❖ EA1-20 y EC2-20

Las fracciones de galactofucano EA1-20 y EC2-20, aisladas del alga parda *Adenocystis utricularis*, poseen una potente actividad anti VIH *in vitro*, junto con una baja citotoxicidad. Su mecanismo de inhibición no se debe a la inactivación de la propia partícula viral, si no que su modo de acción se basa en bloquear las etapas tempranas de la replicación viral. De hecho, EA1-20 y EC2-20 muestran esta capacidad inhibitoria sobre el virus salvaje y frente a las cepas de VIH resistentes a medicamentos. Estos resultados hacen que estos compuestos sean unos promisoros candidatos para ser utilizados en profilaxis y/o tratamiento del VIH. (Vo, T-S. *et al* 2012)

Además el EA1-20 ha mostrado una potente actividad frente al VSH 1 y 2, en ausencia de efecto anticoagulante. Esto es una ventaja pues al tener este selectivo efecto antiviral, se reduce considerablemente el riesgo de efectos adversos asociados al uso de este tipo de compuestos derivados de algas. (Kang H. *et al* 2015).

❖ NOSTOFLAN:

Nostoc flagelliforme es un tipo de alga verde de la que se puede extraer un polisacárido ácido llamado Nostoflan (NSF). Su estructura se basa principalmente en dos tipos de secuencia de azúcar : $\rightarrow 4$) - β -D- glucosa- (1 \rightarrow 4) -D -xilosa- (1 \rightarrow y \rightarrow 4) - [β -d -ácido glucónico - (1 \rightarrow 6) -] - . β -D- glucosa- (1 \rightarrow 4) -D - galactosa- (1 \rightarrow .

Nostoflan es capaz de inhibir a distintos virus envueltos, siendo activo frente a VHS-1 y 2, CMV (citomegalovirus) e influenza virus tipo A; esto es, que posee actividad antiviral frente a virus provistos de envoltura, cuyos receptores celulares son carbohidratos. En un ensayo realizado para evaluar la actividad del Nostoflan, se concluyó que su efecto era máximo durante la unión e internalización del virus en la célula huésped. Sin embargo, más tarde se comprobó que en el único virus en el que se bloqueaba la unión era el VHS, por lo que se consideró que el Nostoflan era un muy buen candidato para desarrollar un nuevo fármaco antiherpético. (Ahmadi, A. *et al* 2015).

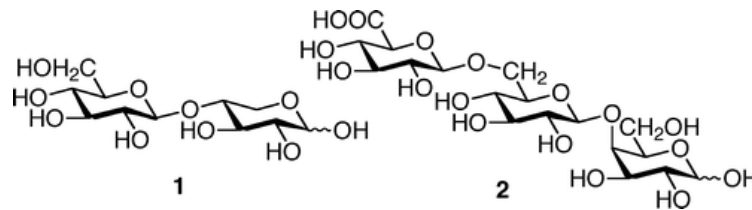


Figura 9: Secuencias de azúcares que componen el Nostoflan. (Kanekiyo, K. *et al* 2005)

DISCUSIÓN

Las algas constituyen una fuente muy valiosa y variada de polisacáridos aniónicos activos frente a virus. Estas macromoléculas están compuestas por sulfatos y/o ácidos urónicos que contribuyen a esta propiedad aniónica, que es determinante en su potencial antiviral. Todo ello está descrito en numerosos artículos de polisacáridos sulfatados extraídos de algas, y es constatado en un estudio llevado a cabo en 2011, por Liu y sus colaboradores, que a partir de una modificación química sobre un polisacárido neutro, y mediante la introducción de grupos sulfato, fosfato y acetilo, se describe una mayor actividad antiviral que el mismo polisacárido neutro y sin modificar. (Liu *et al*, 2011). Tanto es así, que polisacáridos de fácil extracción como son los procedentes de algas,

son modificados en su estructura, de forma que se les añaden grupos sulfato u otros radicales con carga negativa, para de esta manera potenciar el efecto antiviral.

Los polisacáridos extraídos de algas, además de tener un amplio espectro de actividades, poseen las ventajas de no conllevar altos costes de producción, tener muy baja citotoxicidad, y contar con una amplia aceptación.

Son numerosos los estudios que demuestran su efectividad antiviral frente a diferentes baterías de virus; en algunos de ellos incluso, se trata de describir su posible mecanismo de acción, en cuyo caso la diana, siempre está relacionada con la unión virus-célula huésped, o con la internacionalización del virus en la célula. A pesar de esto, sería necesario realizar nuevos estudios dado que muchos de los mecanismos por los cuales estos polisacáridos ejercen su acción no están del todo claros. Además, muchos de los estudios realizados han concluido que existe una actividad antiviral efectiva, pero tan sólo demostrada *in vitro*, por lo que sería necesario constatarla *in vivo*; es decir, a la hora de generar una nueva terapia en el campo antiviral, estos polisacáridos deberían tener una biodisponibilidad y toxicidad estudiada en el ser humano.

CONCLUSIÓN

Los polisacáridos extraídos de algas, debido a su estructura de carácter aniónico, poseen actividad antiviral en diferentes virus.

La estructura de los polisacáridos es determinante en su efecto. La introducción de modificaciones tipo, como la inclusión de grupos sulfato a fin de potenciarlo, constituye actualmente una meta en el campo de la investigación farmacológica.

Son necesarios estudios más concluyentes que describan su mecanismo de acción, efecto, y tratándose de macromoléculas, con un elevado peso molecular, su biodisponibilidad y el grado de toxicidad a través de estudios *in vivo*.

Queda demostrado que los polisacáridos extraídos de algas con actividad antiviral constituyen una alternativa a considerar en la terapéutica actual.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmadi, A.; Moghadamtousi, S.Z.; Abubakar, S.; Zandi, K. “Antiviral Potential of Algae Polysaccharides Isolated from Marine Sources: A Review”. *BioMed Research International*. 2015; 10. Disponible en: Hindawi Publishing Corporation.
- De Jesus Raposo, M.F.; de Morais, A.M.B.; de Morais, R.M.S.C. “Marine Polysaccharides from Algae with Potential Biomedical Applications”. *Mar. Drugs* [Internet] 2015; 13(5), p. 2985-2986.
- Fedorov SN, Ermakova SP, Zvyagintseva TN, Stonik VA. “Anticancer and cancer preventive properties of marine polysaccharides: some results and prospects” *Mar Drugs*. 2013; 11(12), p. 4883.
- Han Yim, J.; Jin Kim, S.; Hun Ahn, S.; Kum Lee, H. “Characterization of a novel bioflocculant, p-KG03, from a marine dinoflagellate, *Gyrodinium impudicum* KG03” *Bioresource Technology*. Volume 98, Issue 2, 2007, p. 361–367.
- Kanekiyo, K.; Lee, JB; Hayashi, K.; Takenaka, H.; Hayakawa, Y.; Endo, S.; Hayashi, T. “Isolation of an Antiviral Polysaccharide, Nostoflan, from a Terrestrial Cyanobacterium, *Nostoc flagelliforme*”. *J. Nat. Prod.* 2005; 68 (7), p. 1037–1041.
- Kang, H.; Seo, C.; Park, Y: “The Effects of Marine Carbohydrates and Glycosylated Compounds on Human Health”. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, p. 6035-6039.
- Kim, M.; Han Yim, J.; Kim, S-Y.; Soo Kim, H.; Ghil Lee, W.; Jin Kim, S.; Kang, P-S.; Lee, C-K. : In vitro inhibition of influenza A virus infection by marine microalga-derived sulfated polysaccharide p-KG03. *Antiviral Research* Volume 93, Issue 2; 2012. p. 253–259.
- Kim, S.K; Chojnacka, K. “Marine Algae Exctracs: processes, products, and applications; 2nd volume”. Ed: John Wiley & Sons; 2015. p. 375-377.
- Liu XX, WANG, ZJ, SHI, L, LU, XX (2011). Preparation And antiherpetic activities of chemically modified polysaccharides from *Polygonatum cyrtonema* Hua. *Carbohydrate polymers* 83, p. 737-742.
- Matulewicz, M.C.; Damonte, E.B. “Perspectivas de los polisacáridos sulfatados de algas marinas como agentes antivirales”. *Industria & Química*. 2006. Artículos Técnicos N°354, p. 3-7.

- Mckee, T.; Mckee, J.R. Bioquímica: la base molecular de la vida. Mc.Graw Hill Interamericana; 2003. p. 217.
- Meiyu, G.; Fuchuan, L.; Xianliang, X.; Jing, L. ; Zuowei, Y. Huashi, G. “The potential molecular targets of marine sulfated polymannuroguluronate interfering with HIV-1 entry. Interaction between SPMG and HIV-1 rgp120 and CD4 molecule”. Antiviral Res. 2003; 59(2), p. 127-135.
- Wang,W; Wang.S; Guan, H. “The Antiviral Activities and Mechanisms of Marine Polysaccharides: An Overview”. Mar. Drugs. 2012; 10, p. 2795-2816.
- Vo, TS.; Ngo, DH.; Kim, SK. Cap 25: Anti- VIH Activities of Marine Macroalgae en: Se-Kwon Kim, editor. Handbook of Marine Macroalgae Biotechnology and Applied Phycology. UK: Ed. John Wiley & Sons; 2012. p. 417-419.

-
- InfoSIDA. Carragaen. [Internet]. Disponible en: <https://infosida.nih.gov/drugs/400/carragaen/0/patient>