



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y FARMACOLÓGICA DE LOS
COMPUESTOS VASOACTIVOS DEL EXTRACTO ACUOSO
DE LA ANEMONA *Condylactis gigantea***

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER
EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA

I.B.T LUIS RAYMUNDO RAMÍREZ MARTÍNEZ

DIRIGIDO POR:

DR. JOSÉ ALEJANDRO GARCÍA ARREDONDO

QUERÉTARO, QRO. ENERO 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y FARMACOLÓGICA DE LOS
COMPUESTOS VASOACTIVOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA
ANÉMONA *Condylactis gigantea***

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA

I.B.T LUIS RAYMUNDO RAMÍREZ MARTÍNEZ

DIRIGIDO POR:

DR. JOSÉ ALEJANDRO GARCÍA ARREDONDO

Dr. José Alejandro García Arredondo.
Presidente

Dr. Mamadou Moustapha Bah.
Secretario

Dr. César Ibarra Alvarado.
Vocal

Dr. Francisco Javier Luna Vázquez.
Suplente

Dra. Judith Sánchez Rodríguez.
Suplente

CENTRO UNIVERSITARIO, QUERÉTARO, QRO.
ENERO 2026
México

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente la ayuda que todos mis sinodales me brindaron en todo este proceso. Siempre admirando al doctor Moustapha por dirigirme de una manera tan precisa y gentil. A la doctora Judith por ayudarme de una manera personal con una gran actitud. Al doctor Cesar por ponerme al límite en mis tutorales y al doctor Francisco por tenderme una mano cuando lo necesitaba.

Agradezco al Doctor Alejandro por inculcarme el amor de la investigación desde la Licenciatura.

Gracias SECIHTI por darme los recursos para continuar con mi investigación al igual que la Universidad Autónoma de Querétaro que me ha acogido desde más de 10 años.

ÍNDICE

Contenido	Página
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ACRÓNIMOS.....	9
RESUMEN.....	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. ANTECEDENTES.....	15
2.1 Toxinas como compuestos bioactivos	15
2.2 Principales categorías de toxinas en anemonas.....	19
2.2.1 Fosfolipasas A ₂	20
2.2.2 Citolisinas	21
2.2.3 Neurotoxinas.....	21
2.3 Venenos como fármacos y terapias aprobadas.....	24
2.4 Mecanismo de regulación del músculo liso.....	25
2.4.1 Contracción.....	26
2.4.2 Relajación.....	26
2.4.3 Vasoconstricción por la toxina pCrTX de anémona.....	27
2.4.4 Vasodilatación por toxinas de Cnidario <i>P. physalis</i>	27
2.4.5 Vasodilatación por la toxina APETx2 de la anémona <i>Anthopleura elegantissima</i>	28
2.5 Anémonas.....	28
2.5.1 Tejido venenoso.....	29
2.5.2 Anémona dorada gigante – <i>Condylactis gigantea</i>	30
3. JUSTIFICACIÓN.....	34
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	35
5. HIPÓTESIS.....	36
6. OBJETIVOS.....	37
6.1 Objetivo General	37
6.1.2 Objetivos específicos	37

7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
7.1 Animales de experimentación.....	38
7.2 Manejo de residuos biológicos y de sustancias químicas	39
7.3 Colecta y preparación del extracto de <i>Condylactis gigantea</i>	39
7.4 Evaluación de la actividad biológica	40
7.5 Electroforesis	41
7.6 Fraccionamiento cromatográfico mediante FPLC	41
7.8 Espectrometría de masas.....	42
7.9 Análisis estadístico	42
8. RESULTADOS	43
8.1 Actividad vasoactiva del extracto acuoso de <i>Condylactis gigantea</i> sobre segmentos de aorta aislada de rata.....	43
8.2 Análisis electroforético del extracto acuoso de <i>Condylactis gigantea</i> en condiciones nativas y reductoras.	45
8.3 Análisis del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i> por espectrometría de masas MALDI-TOF.....	46
8.4 Fraccionamiento cromatográfico del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i>	47
8.5 Evaluación del efecto vasoactivo de las fracciones obtenidas a partir del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i>	48
9.DISCUSION.....	51
10. CONCLUSIÓN.....	54
11. REFERENCIAS	55

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Péptidos antimicrobianos y el microorganismo objetivo.	18
Tabla 2. Principales categorías de toxinas de las anémonas.	23

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ejemplos de péptidos derivados de animales venenosos que presentan un potencial terapéutico.	17
Figura 2. Interacción entre el endotelio y las células del músculo liso vascular de la aorta.	25
Figura 3. Clasificación taxonómica de las anémonas.	29
Figura 4. Vista ampliada de un solo nematocito que expresa EGFP.	30
Figura 5. Clasificación taxonómica de <i>Condylactis gigantea</i> .	31
Figura 6. <i>Condylactis gigantea</i> .	32
Figura 7. Curvas concentración respuesta que muestran el efecto vasodilatador del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i> con endotelio (+E) y sin endotelio (-E).	43
Figura 8. Efecto vasodilatador del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i> sobre los segmentos de aorta (316 µg de proteína/ml) en presencia (+E) y ausencia (-E) de endotelio vascular, así como en presencia de 1 µM de ODQ (+E + ODQ) y 1 µM de L-NAME (+E – L-NAME).	44
Figura 9. Efecto vasoactivo del extracto acuoso de <i>Cg</i> en diferentes condiciones en la misma concentración sobre segmentos de aorta aislada de rata.	45
Figura 10. Perfil electroforético del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i> en condiciones nativas y reductoras en concentraciones de 40 µg/mL y 60 µg/mL de proteína.	46
Figura 11. Análisis por espectrometría de masas MALDI-TOF del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i> .	47
Figura 12. Perfil cromatográfico del extracto acuoso de <i>C. gigantea</i> (100µl) en una columna Hiprep DEAE FF.	48

- Figura 13.** Efecto vasoactivo de las fracciones del extracto acuoso de *Condylactis gigantea* sobre segmentos de aorta aislados de rata. 49
- Figura 14.** Efecto vasoactivo de las fracciones del extracto acuoso de *Condylactis gigantea* sobre segmentos de aorta aislados de rata en condiciones basales. 49
- Figura 15.** Efecto de vasoconstricción del extracto acuoso de *C. gigantea* (316 µg de proteína/ml) sobre los segmentos de aorta aislada de rata en comparación con las fracciones obtenidas. 50

ACRÓNIMOS

EFFP: Enhanced Green Fluorescent Protein.

CCP: Cell-Penetrating peptide.

FDA: Food Drug Administration.

EMA: European Medicines Agency.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación titulada **“CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y FARMACOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS VASOACTIVOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA ANEMONA *Condylactis gigantea*”** fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A t e n t a m e n t e

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Luis Raymundo Ramírez Martínez', with a long horizontal flourish extending to the right.

Luis Raymundo Ramírez Martínez

RESUMEN

Los péptidos derivados de extractos acuosos, especialmente de anémonas, destacan por su potencial farmacológico debido a su afinidad con diversos blancos moleculares. Gran parte de los estudios de nuevos compuestos bioactivos en anémonas se centra en la búsqueda de neurotoxinas y toxinas formadoras de poro. Sin embargo, pocos estudios se han enfocado en la búsqueda de compuestos con efectos vasoactivos que podrían ser útiles en la generación de conocimiento acerca de las enfermedades cardiovasculares y/o los mecanismos de acción de nuevos tratamientos cardiovasculares. En este estudio, se evaluó el efecto vasoactivo del extracto acuoso de la anémona *Condylactis gigantea* y se obtuvo información química y farmacológica de los compuestos vasoactivos presentes en dicho extracto. El extracto se fraccionó mediante métodos cromatográficos, mientras que la evaluación del efecto vasoactivo del extracto y las fracciones cromatográficas se realizó mediante el ensayo de aorta aislada de rata. Las fracciones que presentaron actividad biológica fueron analizadas mediante electroforesis, cromatografía de intercambio iónico y espectrometría de masas. Los resultados obtenidos indicaron que el extracto acuoso de *C. gigantea* induce un efecto bifásico en aorta aislada de rata, que consta de una vasodilatación seguida de una vasoconstricción. El efecto vasodilatador se redujo significativamente en ausencia de endotelio, así como en presencia de L-NAME y ODQ. Por otro lado, la vasoconstricción se bloqueó en ausencia de calcio extracelular. Mediante un fraccionamiento por cromatografía de intercambio iónico, se obtuvieron 3 fracciones con efecto vasoconstrictor. En conclusión, se encontró que el extracto acuoso de *C. gigantea* contiene una mezcla de compuestos vasodilatadores y vasoconstrictores. El efecto vasodilatador depende del endotelio e involucra a la vía del NO/GMPc, mientras que el efecto vasoconstrictor depende de calcio extracelular. Los resultados de este estudio son de utilidad para establecer el potencial farmacológico del extracto acuoso de *C. gigantea* como fuente de nuevos compuestos vasoactivos.

Palabras clave: *Condylactis gigantea*, vasoconstricción, vasodilatación.

ABSTRACT

Peptides derived from aqueous extracts, particularly those from anemones, are recognized for their pharmacological potential due to their high affinity for various molecular targets. While most studies seeking new bioactive compounds in anemones focus on neurotoxins and pore-forming toxins, few have investigated compounds with vasoactive effects, which could advance knowledge regarding cardiovascular diseases and novel treatment mechanisms. In this study, we evaluated the vasoactive effect of the aqueous extract from the sea anemone *Condylactis gigantea* and obtained chemical and pharmacological data on its vasoactive compounds. The extract was fractionated using chromatographic methods, and its vasoactive effect, along with that of the resulting fractions, was assessed via the isolated rat aorta assay. Active fractions were subsequently analyzed through electrophoresis, ion exchange chromatography, and mass spectrometry. Our results showed that the *C. gigantea* aqueous extract induces a biphasic effect in isolated rat aorta, characterized by vasodilation followed by vasoconstriction. The vasodilatory effect was significantly attenuated in the absence of endothelium and in the presence of L-NAME and ODQ, suggesting involvement of the NO/cGMP pathway. Conversely, the vasoconstriction was blocked when extracellular calcium was absent. Furthermore, ion exchange chromatography yielded three fractions displaying vasoconstrictive activity. In conclusion, the *C. gigantea* aqueous extract contains a mixture of endothelium-dependent vasodilatory compounds and extracellular calcium-dependent vasoconstrictive compounds, thus establishing its pharmacological potential as a novel source of vasoactive agents.

Keywords: *Condylactis gigantea*, vasoconstriction, vasodilation.

1. INTRODUCCIÓN

Los péptidos provenientes de extractos acuosos representan herramientas biológicas poderosas que han evidenciado un vasto potencial farmacológico gracias a su elevada afinidad de unión a diversos blancos moleculares. No obstante, la mayoría de estos péptidos no son directamente aplicables como agentes medicinales debido a su toxicidad. Sin embargo, sus derivados poseen un valor considerable para la investigación y constituyen una fuente rica de prototipos para el desarrollo de fármacos novedosos (Novo de Oliveira y col., 2023). Entre las especies consideradas como fuente potencial de nuevos compuestos bioactivos, se encuentran las anémonas marinas (phylum Cnidaria, clase Anthozoa), mismas que representan una oportunidad significativa para el descubrimiento de nuevos péptidos bioactivos novedosos; se estima que, de más de 1,100 especies de anémonas, sólo 4 % han sido investigadas para la búsqueda de péptidos y proteínas bioactivas (Prentis y col., 2018).

Al igual que el resto de las especies del *phylum* Cnidaria, las anémonas presentan células urticantes (nematocitos) en sus tentáculos. Cada una de estas células posee una estructura capsular conocida como nematocisto, mismas que almacenan las toxinas, las cuales se componen principalmente por una mezcla diversa y compleja de péptidos y proteínas con actividad citolítica, citotóxica y moduladora de la función de canales iónicos específicos. Esta mezcla incluye componentes bien documentados como las fosfolipasas A₂ de secreción y las toxinas formadoras de poros (Aneiros y Garateix, 2004; Schaloske y Dennis, 2006). Dichos componentes presentan propiedades innovadoras que podrían usarse como herramientas farmacológicas para la entrega de fármacos dentro del citosol y tratar diversas enfermedades sistémicas e infecciosas (Diez y col., 2009), así como para ser utilizadas en tratamientos para cáncer, enfermedades inflamatorias, inmunológicas, cardiovasculares entre otras (Klaassen y Watkins, 2001; De Castro y col., 2020).

De manera general, se sabe que uno de los efectos prominentes derivados de los componentes del extracto acuoso de los Cnidarios son cardiovasculares. Por ejemplo, ensayos *in vivo* revelaron que el extracto acuoso de *Chironex fleckeri* exhibe actividad hemolítica y provoca la formación de poros en cardiomiocitos de rata, específicamente con las toxinas CfTX-A y CfTX-B (Amreen y col., 2021). *Actinia equina* secreta la toxina equinatoxina III, que impacta en la vasoconstricción coronaria en porcinos. Esta toxina intensifica las contracciones inducidas por potasio en el músculo liso coronario (Šuput y col., 2001). Además, las toxinas aisladas de *Chiropsalmus quadrigatus* y *C. fleckeri* han demostrado efectos vasoconstrictores, seguidos de hipotensión e irregularidades cardíacas. En experimentos con ratas y cobayos, se observaron oscilaciones en la presión arterial hasta alcanzar estados letales (Freeman y Turner, 1972).

Gran parte de los estudios dirigidos a la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos en el extracto acuoso de Cnidarios se han enfocado en toxinas formadoras de poro, fosfolipasas A₂ y neurotoxinas. Sin embargo, estas especies también podrían ser fuentes importantes para la búsqueda de compuestos bioactivos novedosos que sirvan como prototipos para el diseño de herramientas de investigación farmacológica útiles en la generación de conocimiento sobre los procesos fisiológicos de las enfermedades cardiovasculares y sobre los mecanismos de acción de nuevos medicamentos cardiovasculares. Es importante considerar que se estima que 17.9 millones de personas mueren al año a causa de problemas cardiovasculares en todo el mundo, representando la primera causa de defunción a nivel mundial (OMS, 2023). Considerando lo anterior, en la presente propuesta de investigación, se llevó a cabo un fraccionamiento cromatográfico biodirigido para obtener información acerca de algunas características químicas y farmacológicas de los principales componentes vasoactivos del extracto acuoso de la anémona *Condylactis gigantea*, colectada en el Caribe Mexicano. El efecto vasoactivo se evaluó sobre segmentos de aorta aislados de rata. Dicho ensayo se utilizó para obtener información preliminar sobre los mecanismos de acción involucrados en dichos efectos.

2. ANTECEDENTES

2.1 Toxinas como compuestos bioactivos

El uso de venenos por parte de la civilización humana se remonta hace 14,000 años, con el primer registro de conocimiento de venenos en el periodo (12,500 a.C. - 8,500 a.C.) en Francia. En las cuevas de Massat, en la región de Ariège, se han hallado restos de flechas de hueso cuyas puntas presentaban venenos de origen vegetal y animal. Hallazgos similares de artefactos con vestigios de venenos se han registrado en diversas partes de África, Asia y la región del Amazonas (Pearson, 2002).

La palabra “veneno” tiene su origen en el latín “venenum”, relacionado con Venus, la diosa de la belleza y del amor. También se vincula la palabra a una poción mágica de amor. Inicialmente, el término indicaba “cualquier sustancia líquida con fuerza penetrante capaz de cambiar la propiedad natural de la materia viva” (Nepovimova y Kuca, 2019).

El trabajo realizado por Dioscórides (Siglo I d.C.) y modificado parcialmente por Galeno fue el primer trabajo clásico sobre venenos y antídotos. Este trabajo brindó las bases necesarias para el desarrollo de la medicina, farmacología y ramas de la toxicología (Charitos y col., 2022).

Las toxinas provenientes de animales marinos representan un área de conocimiento poco estudiada. Se sabe que aproximadamente el 80% de organismos del reino animal habitan en el mar, sin embargo, menos del 1% ha sido estudiado en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos. Los organismos menos equipados físicamente, como los invertebrados de cuerpo blando (anémonas) necesitan tener una manera de protección como la excreción de toxinas. Por ello, son excelentes candidatos como fuentes de metabolitos bioactivos (Klaassen y Watkin, 2001).

Cada veneno de los animales se caracteriza por su singularidad. Estos venenos están compuestos por una compleja y heterogénea mezcla específica de la especie, la cual suele incluir una combinación de péptidos, enzimas, moléculas orgánicas de

bajo peso molecular y sales inorgánicas. Todas las sustancias presentes en el veneno exhiben propiedades fisicoquímicas y biológicas que emergen a través de un proceso evolutivo, proporcionando a estos seres vivos un mecanismo altamente eficaz, tanto para la captura de presas como para la defensa propia. Este mecanismo también opera como un arma defensiva (Novo de Oliveira y col., 2023). En la figura 1 podemos observar ejemplos de péptidos de animales con potencial terapéutico como las serpientes, tarántulas, anfibios, animales marinos y mamíferos.

Irónicamente, las moléculas responsables de causar daño a los organismos pueden aprovecharse para desarrollar novedosos tratamientos dirigidos a una amplia gama de enfermedades que afectan tanto a humanos como a animales. Un ejemplo notable de esto es el Captopril®, el primer agente antihipertensivo que se basa en una toxina presente en el veneno de la serpiente *Bothrops jararaca*. Este fármaco actúa como inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (Álvarez, 2017).

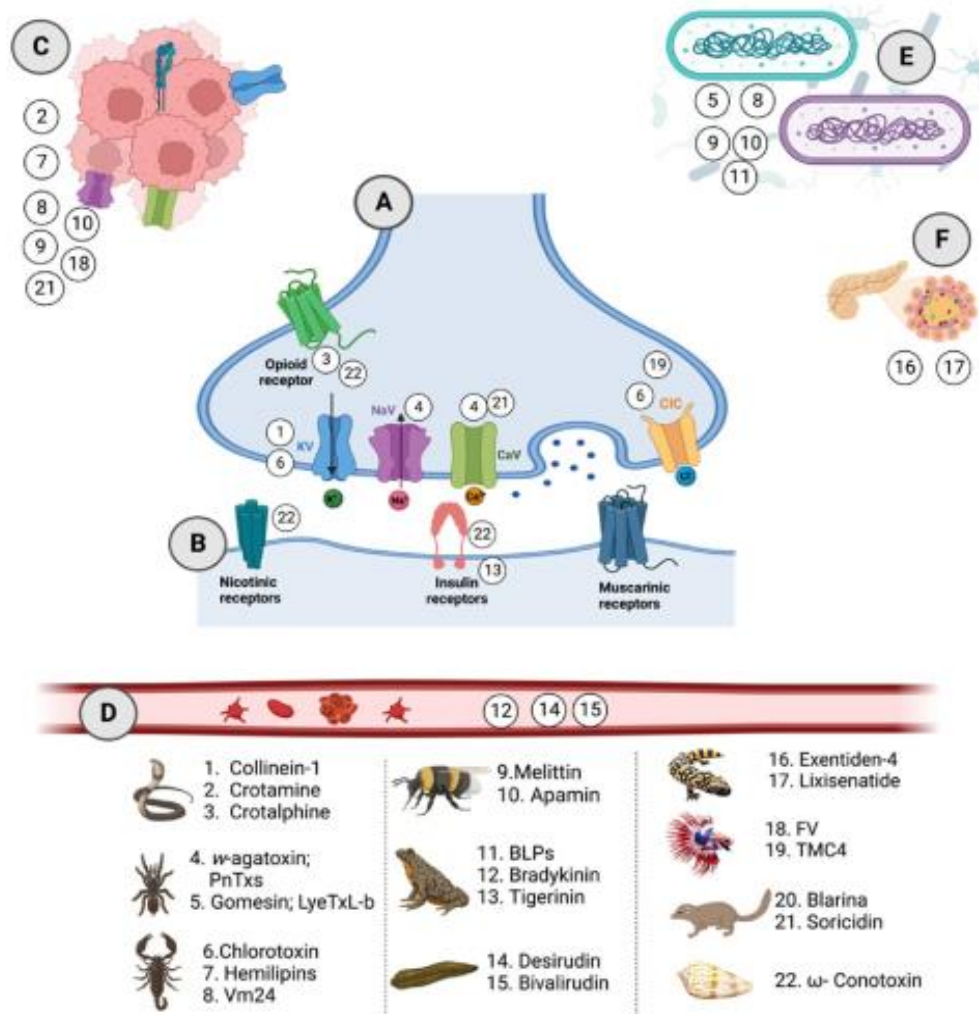


Figura 1. Ejemplos de péptidos derivados de animales venenosos que presentan un potencial terapéutico. A) Células neuronales. B) Células musculares. C) Células cancerígenas. D) Células sanguíneas. E) Célula bacteriana. F) Célula pancreática. (Novo de Oliveira y col., 2023).

Los péptidos de penetración celular (CCP), tanto los obtenidos de manera natural como los diseñados de forma sintética, pueden poseer propiedades antimicrobianas, anticancerígenas, antiinflamatorias, inmunomoduladoras y vasodilatadoras (Ortiz y col., 2015).

Los principales componentes de los venenos marinos son los péptidos y las toxinas proteínicas, que han sido usadas en terapias. Sin embargo, los venenos, por ejemplo, pueden estar compuestos de proteínas de peso molecular tanto alto como bajo, incluso polipéptidos y enzimas. También pueden ser aminas, lípidos, esteroides, aminopolisacáridos, quinonas, 5-hidroxitriptamina (5-HT), glucósidos, u

otras sustancias (Klaassen y Watkins, 2001). La FDA y la EMA han aprobado el Ziconotide como un péptido de 25 aminoácidos rico en cisteína derivado de la conotoxina de *Conus magus* que se utiliza como un medicamento antihiperálgico no opiáceo (Hemmati y Rasekhi, 2022).

En la Tabla 1 se muestra una lista de péptidos antimicrobianos y blancos moleculares “Targets” a los que van dirigidos. Todos ellos son ejemplos de toxinas marinas usadas como moléculas bioactivas.

Tabla 1. Péptidos antimicrobianos y el microorganismo objetivo (modificada de Hemati y Rasekhi, 2022).

Nombre del péptido	Secuencia del péptido	Objetivo (blanco)	Toxina	Especie de origen
CPP10-11	MKYRLSFCRK	AFP (Ca), AVP, APCE	E2S062	<i>Stichodactyla haddoni</i>
CPP10-757	VRWYRNGTCR	AVP, RSV, INFV, HSV, BA, TB	A0A6J2VWA1	<i>Chanos chanos</i>
CPP10-858	EKPLKRRVKQ	AFP, AVP, Kn, APCE	B0KZ78	<i>Conus betulinus</i>
CPP15-81	KLQATIAKKLFARS	BA, APCE, Sa, Ec, Pa, Kn	Q91453	<i>Synanceia horrida</i>
CPP15-134	KRQCRGVRVTRRSLR	BA, Sa, Ec, Kn, TB, AFP, APCE	Q98993	<i>Synanceia verrucosa</i>
CPP15-1029	RDAINFRWRRSLIRR	Sa, Ec, Kn, TB, APCE	Q9BP63	<i>Conus pennaceus</i>
CPP15-1043	AINVRRRRSITRRVS	Sa, BA, APCE	Q9BP64	<i>C. pennaceus</i>
CPP15-1050	NRLKENIKFLLKRKT	Ec, Kn, APCE, IL-4, IL-10, IFN- γ	Q9BPA6	<i>C. pennaceus</i>

CPP20-45	KRQCRGVRVTRRSLR EFSHF	Ec, Kn, BA, IL-4, IL-10, IFN- γ	Q98993	<i>S. verrucosa</i>
CPP20-48	KKICNDYKLNLRQRTIAK KLL	Kn, AVP, APCE, IL-6, IFN- γ	A0A068BD83	<i>Dendrochirus zebra</i>
CPP20-51	RRFERYQQVLCNKGL SRRHY	AVP, Ec, Kn, TB, BA, IL-10, IFN- γ	A0A068BFX2	<i>D. zebra</i>
CPP20-184	VERAGENRSKENIKFL LKRK	AVP, BA, IL-4, IL-10, IFN- γ , HCV	Q9BPB7	<i>C. textile</i>
CPP20-156	RAKINLLSKRKPPAER WWRW	Ec, Kn, TB, AFP, RSV, INFV, HSV, IFN- γ	Q9BHA0	<i>Conus textile</i>
CPP15-1030	DAINFRWRRSLIRRT	Sa, Ec, Kn, TB, APCE	Q9BP63	<i>C. pennaceus</i>

AFP: Péptido antifúngico, **APCE:** epítoto de célula-antígeno, **AVP:** péptido antiviral, **BA:** biopelícula activa, **Ca:** *Candida albicans*, **Ec:** *Escherichia coli*, **HCV:** virus de hepatitis C, **HSV:** virus del herpes simple, **INFV:** virus de la influenza, **Kn:** *Klebsiella pneumonia*, **Sa:** *Staphylococcus aureus*, **Pa:** *Pseudomona aeruginosa*, **TB:** Tuberculosis.

La acción de un veneno o de un componente del mismo depende de diversas variables, entre ellas su vía de administración, absorción y distribución, paso a través de una sucesión de membranas, acumulación y acción en un sitio receptor, así como metabolismo y excreción.

2.2 Principales categorías de toxinas en anemonas

Las toxinas de las anémonas han sido comprobadas como complejas mezclas de proteínas, péptidos y compuestos no proteínicos. Los componentes primarios identificados en el extracto acuoso de las anémonas se clasifican convencionalmente en cuatro categorías funcionales: (1) fosfolipasa A₂, que descompone los fosfolípidos de la membrana en células neuronales y musculares, resultando en daño nervioso e inflamación muscular; (2) citolisinas que afectan las

membranas celulares, causando lisis celular; (3) neurotoxinas que interactúan con receptores, canales iónicos dependientes de voltaje y ligandos (algunas de las cuales también poseen actividad inhibidora de proteasas), modificando la transmisión neuronal; (4) compuestos no proteicos (por ejemplo, purinas, aminas biogénicas) que se presume inducen dolor durante la intoxicación. En la tabla 2, podemos observar las principales categorías de toxinas estructurales y farmacológicas de las anémonas (Aneiros y Garateix, 2004; Madio y col., 2019; Oliveira y col., 2012).

2.2.1 Fosfolipasas A₂

Las fosfolipasas A₂ son toxinas presentes en Cnidarios como las anémonas, estas toxinas catalizan la hidrólisis de fosfolípidos (enlaces éster sn-2 de los glicerofosfolípidos) en ácidos grasos libres y lisofosfolípidos. Estas enzimas se han encontrado homogenizadas en los tejidos que incluyen los tentáculos y la acontia (estructura para cazar) (Talvinen y Nevalainen, 2002).

Estas enzimas se caracterizan por tener de 5 a 8 puentes disulfuro, un tamaño que va de 14 a 19 kDa y, así como la presencia de histidina en el sitio catalítico y ser dependientes de la presencia del ion calcio (Six y Dennis, 2000).

Existen diferentes clasificaciones de las PLA₂ excretadas en diferentes tipos de animales y plantas. Esta familia de enzimas se caracteriza por tener un bajo peso molecular. Las PLA₂ requieren de Ca²⁺ y de sitios catalíticos conservados de His-Asp. Se subdividen en grupos (I/II/V/X) y otros 2 grupos atípicos (III/XII). Cada grupo tiene una especialidad; se propone que algunas PLA₂ son usadas en la maduración celular, en la mediación de la inflamación como promotores en la inmunidad, en la digestión, como defensa y muchos más usos (Murakami y col., 2014; Romero y col., 2010).

2.2.2 Citolisinas

Las citolisinas son habitualmente predominantes en el extracto acuoso de los Cnidarios, sugiriendo que su eficacia para inducir daño en el organismo receptor podría ser evolutivamente más beneficiosa. Esto se debe a que, a concentraciones nanomolares, estas proteínas tienen la capacidad de lisar eritrocitos y otras células. El propósito primordial de estas toxinas es inducir la destrucción de ciertos tipos celulares, logrando esto a través de su interacción con las membranas celulares. El deterioro celular se produce comúnmente debido a la formación de poros en las membranas celulares de los tejidos (Pizaña, 2018).

2.2.3 Neurotoxinas

Las neurotoxinas son moléculas de alto nivel de interés ya que interfieren en la transmisión del impulso nervioso modificando la función de algunos tipos de canales en el nervio o en la membrana muscular. Han sido usadas como herramientas de estudio para caracterizar nuevos receptores membranales por su alta selectividad. En su mayoría son proteínas o polipéptidos (Rees y Bilwes, 1993).

Diversas neurotoxinas de animales, como los de las anémonas, interactúan con canales iónicos para inmovilizar a la presa o como defensa contra los depredadores. Específicamente, las neurotoxinas provenientes de anémonas han sido caracterizadas por su mecanismo de acción; estas interactúan con un gran número de canales iónicos como ASICs, canales TRP, canales de Na_v y canales de K_v (Madio y col., 2019).

Los canales iónicos sensibles al ácido (ASIC, por sus siglas en inglés Acid-Sensing Ion Channel) representan canales iónicos que se activan mediante protones, siendo permeables a los iones sodio (Na^+) y calcio (Ca^{2+}). Estos canales pertenecen a la familia de EnaC/DEG (Canales de Sodio Epitelial/Degerin) y se distribuyen tanto en el sistema nervioso central como en el sistema nervioso periférico (Mercado y col.,

2005). Los ASICs se activan mediante protones extracelulares en un rango de pH ácido de 7.0 a 4.5, lo que conduce a la entrada de iones Na^+ en las células a través de estos canales. Además, se ha observado que los ASICs desempeñan un papel crucial en la mediación de la transmisión sináptica excitatoria rápida en las neuronas corticoespinales, lo que les permite codificar señales táctiles y facilitar la discriminación táctil (Yamada y col., 2024).

Tabla 2. Principales categorías de toxinas estructurales y farmacológicas de anémonas. Las citolisinas de Tipo I y IV no se han incluido debido a que sus estructuras aún son desconocidas (Madio y col., 2019).

Tipo de proteína	Familia estructural	Grupo Farmacológico
Enzimas	Endonucleasa D	Desconocido
	Fosfolipasa A ₂ (PLA ₂)	PLA ₂ Citolicinas Tipo III
	Proteasa Serina S1	Desconocido
Proteínas no enzimáticas	Actinoporinas	Citolisinas tipo II
	Proteínas ricas en cisteína	Desconocido
	Proteínas de dominio WSC	Desconocido
Péptidos neurotóxicos	ATX-III	Na _v tipo 3
	β-defensina	ASIC K _v tipo 3 Na _v tipo 1 Na _v tipo 2 Na _v tipo 4
	β-hairpin	ASIC K _v tipo 4
	Factor de crecimiento epidermal	Actividad EGF TRPV1
	Inhibidor de cisteína	ASIC K _v tipo 5
	Dominio Kunitz	K _v tipo 2 TRPV1 Inhibidor de proteasa
	β-hairpin asimétrico con bisagra de prolina	K _v tipo 6
	Pequeños péptidos ricos en cisteína	TRPA1
	ShK	K _v tipo 1
K _v : Canales de potasio dependientes de voltaje; Na _v : Canales de Sodio dependientes de voltaje.		

2.3 Venenos como fármacos y terapias aprobadas

Aproximadamente existen 11 moléculas aprobadas por la FDA provenientes de venenos, siendo una de ellas el ziconotide (Prialt®) que proviene de caracoles marinos; dos de lagartos: exenatide (Bydureon®) y lixisenatide (Lyxumia® y Adlyxin®); dos de sanguijuelas: Bivalirudin (Angiomax®) y sedirudin; seis de serpientes: Captopril (Capoten®), enalapril (Vasotec®), tirofiban (Aggrastat®), eptifibatide (Integrilin®), batroxobin (Defibrase®, Plateltext-Act®, Vivostat®) y cobratide (Ketongning, cobrotoxin). Algunas de estas moléculas son nativas, recombinantes o sintéticas. Otras más provenientes de las sanguijuelas y de abejas se usan en terapias (Apitox®) (De Castro y col., 2020).

El primer fármaco aprobado proveniente del veneno de un animal en humanos es el captopril, en 1981. El captopril (Capoten, Bristol-Myers Squibb) fue desarrollado basándose en el factor potenciador de bradicinina presente en el veneno de la serpiente *Bothrops jararacá* (Camargo y col., 2012).

En el área cosmética, los venenos también son muy utilizados. De hecho, generan millones de dólares en ventas. Una toxina muy famosa en el ámbito cosmético es la toxina botulínica (Botox®) aislada de *Clostridium botulinum* y usada para paralizar músculo y evitar estragos de la edad. Las ventas de este fármaco rebasan los 3 billones de dólares por año (Clark y col., 2019).

En relación con las anémonas, se ha prestado escasa atención a su estudio hasta la fecha; no obstante, constituyen una fuente prometedora de nuevos compuestos. Un ejemplo notable es el ShK-186, originalmente aislado de *Stichodactyla helianthus*, que ha servido de inspiración para el diseño farmacológico de dalazatide. Este último, un péptido sintético compuesto por 37 aminoácidos, actúa como un inhibidor de los canales de potasio dependientes de voltaje. Se ha aplicado en el tratamiento de la esclerosis en ratones, y aunque ha superado la fase I en ensayos clínicos con humanos, lamentablemente no ha progresado más allá de la fase II de estudio (De Castro y col., 2020).

2.4 Mecanismo de regulación del músculo liso

El músculo liso es un componente importante en tejido aórtico. Las células del músculo liso son embebidas en la matriz celular, manteniendo la integridad estructural y funcional de la aorta, manipulando la contracción y relajación del vaso sanguíneo, de tal forma que modifican el diámetro del vaso para permitir el paso necesario de sangre al tejido (Basatemur y col., 2019; Balint y col., 2023). En la Figura 2, podemos observar la interacción simplificada de la relación músculo vascular-endotelio.

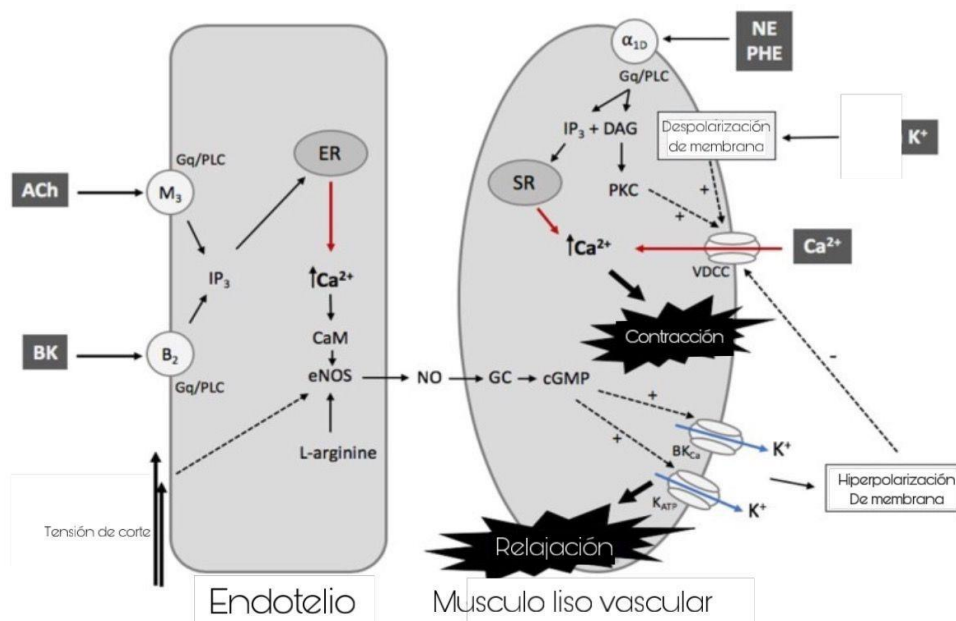


Figura 2. Interacción entre el endotelio y las células del músculo liso vascular de la aorta (Modificada de Knox y col., 2019). PKC: proteína quinasa C; ER: retículo endoplásmico ; ACh: acetilcolina; CaM: calmodulina; eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial; BK: bradicinina; PHE: fenilefrina; NE: noradrenalina; M3 : receptor muscarínico de acetilcolina tipo 3; α 1D : receptor alfa-1D-adrenérgico; B2 : receptor de bradicinina tipo 2; Gq/PLC: proteína Gq/fosfolipasa C; IP3 : inositol 1,4,5-trifosfato; SR: retículo sarcoplásmico; DAG: diacilglicerol; VDCC: canal de Ca²⁺ dependiente de voltaje; NO: óxido nítrico; GC: guanilato ciclasa; BKCa: canal de K⁺ activado por Ca²⁺ de gran conductancia; GMPc: monofosfato de guanosina cíclico; K ATP : canal de K⁺ sensible a ATP.

2.4.1 Contracción

La contracción se inicia mediante la generación de un potencial de acción, con el propósito de desencadenar una serie de mecanismos de traducción para la liberación de calcio desde el retículo sarcoplásmico (Klaassen y Watkins, 2001). Además de este primer mecanismo, existe otro mecanismo regulado por proteínas G y la generación de segundos mensajeros. Ambos procesos conllevan a la activación dependiente de calcio (Ca^{2+}) de la cadena ligera de miosina quinasa (figura 2), así como a la formación de puentes cruzados de actina-miosina, los cuales están asociados con cambios estructurales y la generación de fuerza (Brozovich y col., 2016). Los canales de K^+ en el músculo liso vascular, en el mecanismo de potencial de membrana, regulan la actividad de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. En el caso que los canales de K^+ se cierran, el resultado es la despolarización de la membrana. Esto permite que los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje se activen y permitan el flujo de Ca^{2+} extracelular. El aumento del Ca^{2+} citosólico permite la contracción de las células del músculo liso vascular (Knox y col., 2019).

2.4.2 Relajación

La relajación del músculo liso se desencadena por la cesación del estímulo contráctil o mediante la acción directa de una sustancia que favorece la inhibición del mecanismo contráctil. El proceso de relajación demanda una reducción en la concentración intracelular de Ca^{2+} y el incremento en la actividad de la fosfatasa de la cadena ligera de miosina (MLCK, por sus siglas en inglés) lo que provoca la disociación de la calcio-calmodulina y la interacción actina-miosina. La disminución en la concentración intracelular de Ca^{2+} induce la relajación de la cadena muscular lisa vascular (CMLV) (Mitchell y col., 2003; de Jesús, 2021).

El endotelio juega un papel importante en la relajación muscular, ya que ahí se produce un agente vasoactivo, llamado óxido nítrico (NO). El óxido nítrico estimula

la guanilil ciclasa soluble en las células musculares lisas, aumentando la producción de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) que genera vasodilatación, como se muestra en la figura 2 (Knox y col., 2019).

2.4.3 Vasoconstricción por la toxina pCrTX de anémona

La toxina pCrTX, parcialmente purificada de los tentáculos de la medusa *Carybdea rastonii*, induce una contracción dependiente de calcio en las células del músculo liso arterial. Este fenómeno vasoconstrictor se atribuye tanto a una acción presináptica como postsináptica, implicando la liberación de noradrenalina y la estimulación de la afluencia de calcio transmembrana, respectivamente. La magnitud de estas acciones está condicionada por la concentración externa de calcio (Azuma y col., 1986). Además, la pCrTX parece influir en los mecanismos de absorción y/o almacenamiento de noradrenalina, sin afectar adversamente la funcionalidad contráctil postsináptica. Se ha observado que esta toxina también induce contracción dependiente de calcio en el músculo liso de la aorta a concentraciones superiores a 10^{-7} g/ml. La elevada toxicidad de los cnidarios se asocia principalmente con complicaciones cardiovasculares, siendo objeto de investigación actual para comprender de manera más detallada sus efectos en el sistema cardiovascular (Pizaña, 2018).

2.4.4 Vasodilatación por toxinas de Cnidario *P. physalis*

La toxina de los nematocistos de *P. physalis* fue una de las primeras toxinas de Cnidarios aisladas. Esta toxina consta de 3 subunidades glicosiladas, con un peso molecular de 240 Kda. Se encontró un efecto vasodilatador en el músculo vascular en perros bajo anestesia con pentobarbital. También se observó un efecto vasodilatador en anillos arteriales aislados de conejos precontraídos con

norepinefrina, lo que estuvo asociado con un aumento de síntesis endógena de prostaglandinas (Loredo y col., 1985; Šuput D, 2009).

2.4.5 Vasodilatación por la toxina APETx2 de la anémona *Anthopleura elegantissima*

APETx2 es un péptido descubierto en 2004, constituido de 42 aminoácidos. Comparte una secuencia muy parecida con APETx1, el cual es un bloqueador de los canales HERG de K⁺. Se considera una toxina vasodilatadora en músculo y piel (Barón y col., 2013).

2.5 Anémonas

Las anémonas o “flores del mar” son especies de la fauna marina pertenecientes al filo Cnidaria, de la familia Actiniidae. Se encuentran distribuidas en todos los ecosistemas marinos con una estructura epitelial esencialmente plana y bidimensional. Existen aproximadamente 1200 especies de anémonas distribuidas en 46 familias, representando la máxima diversidad dentro de la clase Anthozoa (Madio y col., 2019). En la figura 3 podemos observar la clasificación taxonómica de las anémonas.

Pueden habitar incluso en entornos quimiosintéticos y hostiles como zonas hidrotermales. En los océanos Atlántico y Pacífico, no son muy abundantes. Sin embargo, en otros entornos, las anémonas dominan algunos microhábitats (como en el océano Índico y el Caribe) a pesar de su simplicidad estructural (Rodríguez y col., 2010). En la región del Caribe, han sido identificadas más de 60 especies de anémonas. Las anémonas, en el Caribe Mexicano, comúnmente habitan en sistemas de arrecife de coral (INE, 2000).

Las anémonas generan toxinas de una notable diversidad molecular, con al menos 17 estructuras moleculares diferentes registradas hasta la fecha. Tradicionalmente, se ha llevado a cabo una clasificación de estos componentes basada en su actividad farmacológica y la secuencia de aminoácidos (Madio y col., 2019).

Reino: Animal

Filo: Cnidaria

Clase: Antozoos

Subclase: Hexacorales

Orden: Actiniaria

Figura 3. Clasificación taxonómica de las anémonas (Hickman y col., 2000).

2.5.1 Tejido venenoso

2.5.1.1 Nematocitos

Las nematocitos son células especializadas únicas en los cnidarios (anémonas); contienen estructuras especializadas conocidas como nematocistos o cnidocistos (podemos ver su estructura en la Figura 4, junto con un marcador verde y otro magenta, para observar las estructuras internas). Estos organelos cumplen múltiples funciones, incluyendo la depredación, el movimiento y la defensa. Los nematocistos se encuentran principalmente en los tentáculos, facilitando la captura eficiente. Los nematocistos varían en tamaño y forma (en un rango de 5-100 μm , con formas que van desde redondas hasta cilíndricas) pero comparten una arquitectura común que consta de una pared y un tubo adjunto, a menudo adornado con espinas y apéndices. En la parte más alta de la célula, existe una estructura mecanosensorial denominada cnidocilio. Esta estructura consta de un cilium central rodeado de estereocilios más cortos que se extienden hacia afuera (Beckmann y Ozbek, 2012).

Los nematocistos son cápsulas presurizadas derivadas del aparato de Golgi, que albergan un filamento enrollado con una similitud al de un arpón. Estas cápsulas se construyen en el interior de células especializadas denominadas nematocistos. Cuando se activan, la cápsula se descarga explosivamente, eyectando el filamento enroscado que perfora el objetivo y se alarga rápidamente al volverse del revés en un proceso llamado eversión (Karabulut y col., 2022).

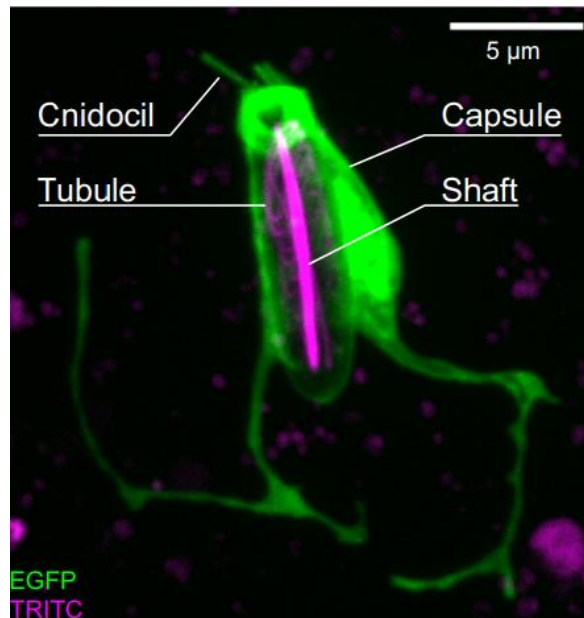


Figura 4. Vista ampliada de un solo nematocito que expresa EGFP (verde). Se muestra el aparato cnidocilo (sensor), el cuerpo. TRITC (magenta) etiqueta el eje central (shaft) (Karabulut y col., 2022).

Las anémonas también producen toxinas en un segundo tipo de célula conocida como célula glandular ectodérmica, que puede o no generar repertorios distintos de toxinas en comparación con los nematocistos (Moran y col., 2012).

2.5.2 Anémona dorada gigante – *Condylactis gigantea*

Condylactis gigantea o Anémona dorada gigante (Condylactis: {gr, kondylos}, protuberancia {gr, aktis}, rayo; gigantea: {lt, giganteus, -a, -um}, de los Gigantes. Es una anémona del filo Cnidaria, clase Anthozoa, de la familia Actiniidae (PIECEMO,

2023). En la figura 5 observamos la clasificación taxonómica de la especie *C. gigantea*.

Clasificación Taxonómica:

Reino: Animal

Filo: Cnidaria

Clase: Antozoos

Subclase: Hexacorales

Orden: Actiniaria

Familia: Actiniidae

Género: *Condylactis*

Especie: *C.gigantea*

Figura 5. Clasificación taxonómica de *Condylactis gigantea* (Martini, 2012).

Condylactis gigantea se encuentra en aguas someras dentro de grietas y agujeros de rocas de coral, campos de pastos marinos y zonas rocosas, a menudo entre 2 a 12 metros de profundidad, pero también se pueden encontrar hasta los 30 metros de profundidad. Se asocia con crustáceos como *Periclimenes yucatanicus* y *Ancylomenes pedersoni*, así como algunos peces de arrecife (González-Muñoz y col., 2012)

Las anémonas desempeñan un papel crucial en las cadenas tróficas. Por un lado, actúan como depredadoras polífagas oportunistas, mientras que, por otro lado, devuelven energía del lecho marino a la columna de agua mediante la liberación de metabolitos, gametos y crías. Además, sirven como presa para una variedad de depredadores, incluyendo peces, crustáceos, moluscos, equinodermos y tortugas marinas (Vicencio de la Cruz y González-Muñoz, 2019).

2.5.2.1 Fisiología

La anémona *Condylactis gigantea* consta principalmente de un disco oral, tentáculos, columnas y disco pedal (Como se observa en la figura 6 con un espécimen vivo). El disco oral es liso y amplio, con colores cálidos desde el café hasta el anaranjado. Los tentáculos son lisos con apariencia estriada y rugosa, cilíndricos, largos, gruesos en la base y se van adelgazando hacia la parte terminal, con puntas redondeadas, capitadas de color blanco y verde pálido, con puntas blancas, verdes o rosadas. Wicksten (1989) consideró que la coloración de *C. gigantea* es variable según el hábitat. Los estudios genéticos de Stoletzki & Schierwater (2005) de *Condylactis gigantea* en Jamaica sugieren que las morfologías de color con puntas verdes son más frecuentes en aguas someras y que las morfologías de color con puntas rosadas dominan en áreas más profundas debido a la adaptación a diferentes niveles de radiación. En el Caribe mexicano, tanto las morfologías de color con puntas verdes como las de puntas rosadas se pueden encontrar a menudo a la misma profundidad y comparten frecuentemente el mismo nicho (González y col., 2012). Las columnas son de aspecto rugoso, cilíndricas con pequeñas verrugas en la parte superior, de coloraciones anaranjado-rojizas con una ligera aclaración hacia el extremo distal. El disco pedal es de contorno circular e irregular el cual se adhiere al sustrato, de color anaranjado pálido o intenso (Cordova, 2013).

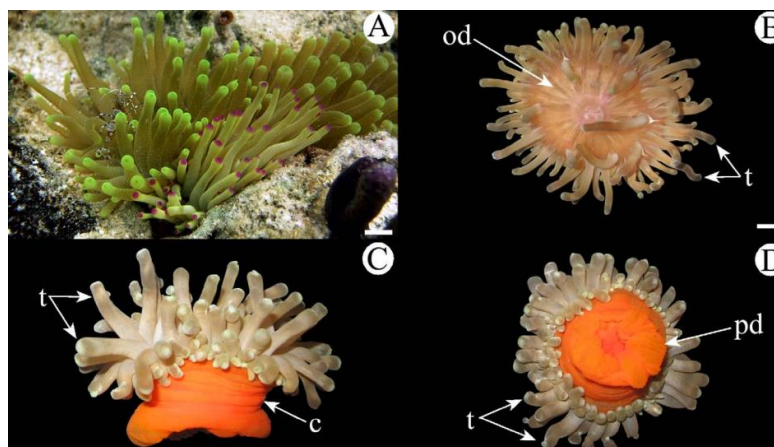


Figura 6. *Condylactis gigantea*. (A) Ejemplar vivo en su hábitat natural. (B) Vista oral. (C) Vista lateral. (D) Vista del disco pedal (González-Muños y col., 2012).

2.5.2.2 Toxinas de *Condylactis gigantea*

Las toxinas provenientes de la anémona *C. gigantea* han sido poco estudiadas. Hasta el momento, se han estudiado 3 principales. Por un lado, tenemos la toxina CgNa del tipo 1, con un peso molecular de 5,043 kDa y 47 residuos de aminoácidos con un patrón típico de 6 residuos de cisteína. La toxina CgNa impide el cierre de canales de Na⁺ voltaje dependientes y prolonga la duración del potencial de acción cardíaco, aumentando la fuerza contráctil (Ständker y col., 2006).

Por otro lado, la toxina aislada de *C. gigantea* llamada Condytoxina 2, con un peso molecular de 18,300 kDa, carece de metionina y contiene principalmente residuos de aminoácidos como la glicina, serina, triptófano y cistina. Se estudiaron efectos sobre las respuestas colinérgicas en dos preparaciones diferentes: células identificadas de caracol terrestre y neuronas sensoriales de ratones disociadas enzimáticamente. La aplicación de la toxina en concentraciones de hasta 25 nmol/L produce un bloqueo reversible de la respuesta, mientras que dosis más altas la potencian. Esto sugiere que contiene uno o más compuestos activos con la capacidad de unirse al receptor nicotínico de acetilcolina de las células excitables en las neuronas de caracoles y ratones (Garateix y col., 1992).

Por último, se ha estudiado la fracción del extracto crudo de *C. gigantea* con un peso molecular de 4,478 kDa, el cual aumenta significativamente el intervalo QT y tiene efectos arritmogénicos en el corazón de la rata en relación a los canales ERG1 de K⁺. Estudios futuros podrían proporcionar información relevante sobre el mecanismo molecular de las toxinas peptídicas de *C. gigantea*, que representan herramientas prometedoras para estudiar la fisiología de diversos canales iónicos (Santos y col., 2013).

3. JUSTIFICACIÓN

Los Cnidarios, como las anémonas, contienen en sus nematocistos mezclas complejas de péptidos y proteínas con efectos biológicos farmacológicos importantes. Una característica distintiva de estos compuestos bioactivos es su capacidad para ser altamente específicos y eficaces al unirse a diversos blancos moleculares, lo que se traduce en actividades farmacológicas de importancia para el desarrollo de nuevas terapias y como herramientas diagnósticas en el ámbito de la biofarmacéutica (Cao y col., 2022).

La mayor parte de las investigaciones relacionadas con las anémonas se enfocan en la identificación de neurotoxinas y toxinas formadoras de poro, mientras que la atención hacia las toxinas con efectos en el sistema cardiovascular es limitada. Además, tan solo el 4 % de un extenso conjunto de más de 1,100 especies de anémonas ha sido objeto de investigación en la investigación de péptidos y proteínas bioactivas (Prentis y col., 2018).

Existe una búsqueda continua de nuevos compuestos bioactivos que pueden servir como prototipos estructurales para el diseño de nuevas herramientas farmacológicas. Así se puede generar conocimiento sobre los procesos fisiológicos de las enfermedades cardiovasculares y/o sobre los mecanismos de acción de nuevos fármacos útiles para estas enfermedades. Es importante considerar que estas enfermedades son la principal causa de muerte a nivel mundial (OMS, 2023). La información derivada de esta investigación será esencial para establecer si el extracto acuoso de *C. gigantea* puede ser considerado una fuente de nuevos prototipos estructurales con propiedades cardiovasculares. Además, este estudio servirá para orientar futuros estudios centrados en el aislamiento y purificación de los compuestos vasoactivos presentes en este extracto.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto del extracto acuoso de la anémona *Condylactis gigantea* sobre el tono del músculo liso arterial y mediante qué mecanismos genera dicho efecto? Así mismo, ¿cuál es la naturaleza química de los compuestos vasoactivos presentes en el extracto acuoso que son responsables de generar dicho efecto?

5. HIPÓTESIS

El extracto acuoso de la anémona *Condylactis gigantea* contiene polipéptidos capaces de inducir vasoconstricción sobre segmentos de aorta aislados de rata mediante mecanismos independientes de endotelio que involucran la participación de calcio extracelular.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Evaluar el efecto del extracto acuoso de la anémona *Condylactis gigantea* sobre el tono del músculo liso arterial y rastrear los componentes vasoactivos mediante un fraccionamiento cromatográfico biodirigido.

6.1.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto vasoactivo (vasoconstricción y/o vasodilatación) del extracto acuoso de *C. gigantea* sobre segmentos de aorta aislados de rata.
2. Determinar la participación del calcio y del endotelio vascular en el efecto vasoactivo del extracto acuoso de *C. gigantea*.
3. Rastrear los compuestos vasoactivos presentes en el extracto acuoso de *C. gigantea* mediante un fraccionamiento cromatográfico biodirigido.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Animales de experimentación

Para este estudio, se utilizaron 15 ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre 250 a 300 g. Los animales de experimentación fueron adquiridos en el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, campus Juriquilla en Querétaro. Los animales se resguardaron conforme a las especificaciones de la NOM-062-ZOO-1999 apartado 5.1, manteniéndose las ratas dentro del bioterio de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (Edificio 2, planta baja) en condiciones de agua y alimento *ad libitum* (alimento ABENE BDL-7100 para animales de laboratorio en fase de mantenimiento) dentro de jaulas de acrílico, la limpieza de las jaulas se realizó cada dos días. Considerando que los ensayos biológicos considerados en esta propuesta son con tejidos aislados, los animales se decapitaron con guillotina para extraer inmediatamente los tejidos requeridos (NOM-062-ZOO-1999 apartado 9.5.3.3). Según la NOM-062-ZOO-1999 el grado de molestia que se causó a los animales de investigación es de categoría A.

Por otra parte, los Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos (RPBI) se etiquetaron y almacenaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SSA-2002. Las bolsas amarillas con los cadáveres se almacenaron en congeladores por un periodo no mayor a 30 días para posteriormente contratar un servicio especial dedicado al tratamiento y procesamiento de RPBI.

7.2 Manejo de residuos biológicos y de sustancias químicas

Los desechos biológicos infecciosos peligrosos se etiquetaron y almacenaron de acuerdo con las pautas establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 por un período que no excedió un mes. En cuanto a los desechos químicos, se gestionan y almacenan de conformidad con las disposiciones de la NOM-005-STPS-1998. Además, se contrató un servicio especializado para la recolección, tratamiento y procesamiento de estos residuos.

7.3 Colecta y preparación del extracto de *Condylactis gigantea*

La anemona *Condylactis gigantea* fue colectada en la costa de Puerto Morelos, Quintana Roo, México, del lugar conocido como “La Bocana Chica” en diciembre del 2022. Los fragmentos de la anemona fueron resguardados en agua marina para su transportación hasta la “Unidad Académica de Sistemas Arrecifales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Después, fueron congelados y resguardados a -70°C para posteriormente ser transportados en hielo seco hasta el Laboratorio de Investigación Química y Farmacológica de Productos Naturales de la Facultad de Química de la UAQ.

La descarga de nematocistos fue inducida mediante agitación en agua desionizada a 4 °C por 24 horas. El extracto obtenido fue centrifugado a 3,000 rpm (2,060 x g) por 15 minutos a 4 °C. Este proceso se repitió por duplicado, y el sobrenadante se secó por liofilización para después ser almacenado -70°C. El producto liofilizado fue disuelto en agua desionizada a una concentración de 150 mg/mL y centrifugado a 3,000 rpm (2,060 x g) por 15 minutos a 4 °C. Después, el sobrenadante fue filtrado a través de un filtro de 0.45 µm de poro (Millipore, Alemania). La solución de filtrado fue resguardada a -20°C y fue usada para determinar los efectos biológicos (García-Arredondo y col.,2014).

7.4 Evaluación de la actividad biológica

La evaluación de la actividad del extracto y sus fracciones se llevó a cabo mediante el ensayo de aorta aislada de rata bajo condiciones previamente estandarizadas (García-Arredondo y col., 2015). Los animales de experimentación fueron sacrificados por decapitación utilizando una guillotina. La aorta torácica descendente se extrajo y se colocó en una solución fisiológica de Krebs-Henseleit (pH 7.4; NaCl 126.8 mM, KCl 5.9 mM, CaCl₂ 2.5 mM, MgSO₄ 1.2 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, NaHCO₃ 30 mM y D-glucosa 5 mM) sobre un baño de hielo, siendo constantemente gasificada con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂). Inmediatamente después de la extracción, se hizo fluir la solución de Krebs-Henseleit por el interior de la aorta para prevenir la formación de coágulos. Posteriormente, se eliminó el tejido conectivo y se cortaron segmentos de 4 mm de longitud. Estos anillos se montaron en ganchos de acero inoxidable suspendidos en cámaras de baño orgánico que contenía la solución de Krebs-Henseleit a 37 °C, constantemente oxigenada con carbógeno. Los tejidos se estabilizaron durante 60 minutos bajo una tensión de 1.5 g, renovando la solución de Krebs-Henseleit en las cámaras durante el proceso. Después del periodo de estabilización, los segmentos de la aorta se contrajeron con KCl 100 mM para sensibilizar el tejido. Una vez estabilizada la tensión, los tejidos se lavaron con solución de Krebs-Henseleit para recuperar la tensión basal de 1.5 g. Posteriormente, los tejidos se contrajeron con fenilefrina (1 µM), registrándose como referencia el grado de contracción alcanzado. En el caso de la actividad vasoconstrictora, los tejidos se lavaron nuevamente después de registrar la contracción con fenilefrina. Luego, se agregó la muestra a evaluar, para el caso del extracto acuoso se evaluaron concentraciones acumulativas de 0.1, 1, 10 y 100 µg de proteína/ml (n = 3); las fracciones obtenidas en los fraccionamientos se evaluaron a una concentración de 10 µg de proteína/ml (n = 3), para obtener 5 fracciones. En los casos en los que se evaluó el efecto vasodilatador, la muestra se agregó directamente sobre los tejidos una vez alcanzado el grado máximo de contracción con fenilefrina (1 µM). La participación de calcio en el efecto del extracto se evaluó de la siguiente manera, se evaluó el efecto vasoactivo del extracto de

acuerdo al procedimiento antes mencionado, pero empleando una solución de Krebs-Henseleit libre de calcio (n = 3).

Los cambios en la tensión de los tejidos se midieron con transductores de fuerza (Grass FT003) acoplados a un polígrafo de cuatro canales de registro (Grass 7D). El efecto vasoconstrictor se expresó como el porcentaje de la contracción inducida por 1 μ M de fenilefrina, mientras que el efecto vasodilatador se expresó como el porcentaje de reducción del efecto vasoconstrictor inducido por 1 μ M de fenilefrina.

7.5 Electroforesis

La electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) fue llevada a cabo siguiendo los métodos descritos previamente (Laemmli, 1970). Las muestras se diluyeron 1:1 en un tampón de muestra (Bio-Rad, Cat # 161-0737) que contuvo β -mercaptoetanol y se calentó a 95 °C durante 5 minutos. Posteriormente, las muestras fueron corridas en geles de poliacrilamida al 12% a 120 V durante 2 horas a 4 °C, utilizando Tris-glicina como tampón (25 mM de Tris, 192 mM de glicina, pH 8.3; Bio-Rad, Cat # 161-0734). Las bandas de proteínas fueron teñidas con Azul de Coomassie. Las masas moleculares se determinaron mediante la comparación con estándares de polipéptidos de rango amplio (Bio-Rad, Cat # 161-0318).

7.6 Fraccionamiento cromatográfico mediante FPLC

Se llevó a cabo un fraccionamiento del extracto de *C. gigantea* (100 μ g de proteína) mediante cromatografía de intercambio iónico y exclusión de tamaño en un Sistema de Purificación tipo FPLC. Para ello, se empleó una columna de celulosa DEAE (2.6 \times 30 cm), que se equilibró con un amortiguador de acetato de amonio de 10 mM (pH 7). La elución de la columna se realizó mediante un gradiente escalonado de solución amortiguadora de acetatos con NaCl 1 M, a una velocidad de flujo de 3

ml/min. La absorbancia fue medida a 280 nm y se colectaron fracciones de acuerdo con los picos observados en el cromatograma. A continuación, las fracciones recolectadas se desalaron mediante una membrana de osmosis inversa para después ser llevadas a liofilización. Las fracciones se colectaron según los picos identificados en el cromatograma y posteriormente se llevó a cabo el secado por liofilización.

7.8 Espectrometría de masas

Las fracciones de masa molecular baja fueron analizadas mediante espectrometría de masas por desorción/ionización con láser asistida por matriz y tiempo de vuelo (MALDI-TOF). Se agregaron cinco microlitros de una solución saturada de ácido sinapínico a 10 µg de la fracción liofilizada. Posteriormente, se depositó 1 µL de esta solución en la placa MALDI y se permitió que se seque a temperatura ambiente. El espectro se registró en modo positivo lineal en un espectrómetro de masas (Microflex Bruker Daltonics, Alemania) equipado con láser de nitrógeno $\lambda = 377$ nm y una tensión de aceleración de 20 kV.

7.9 Análisis estadístico

El programa Prism versión 5.00 (GraphPad Software, EE. UU.) se utilizó para el análisis de datos y estadísticas. Cada curva de concentración-respuesta se realizó por triplicado. Para cada curva, el valor de la concentración efectiva media (CE_{50}) se estimó ajustando log (agonista) vs. respuesta mediante un análisis de regresión no lineal. Los valores de CE_{50} en cada condición experimental se expresaron como media \pm SEM ($n = 3$) y se realizaron comparaciones múltiples mediante un análisis de varianza unidireccional seguido de la prueba de Tukey.

8. RESULTADOS

Mediante la cuantificación de proteína por el método de Bradford del extracto acuoso de *C. gigantea*, se encontró que por cada 693.46 μg de polvo liofilizado se tienen 13.022 μg de proteína.

8.1 Actividad vasoactiva del extracto acuoso de *Condylactis gigantea* sobre segmentos de aorta aislada de rata.

El extracto acuoso de *C. gigantea* presentó un efecto vasodilatador transitorio, dependiente de la concentración, sobre la contracción inducida por fenilefrina (1 μM) en segmentos de aorta aislados de rata. La concentración efectiva media (CE_{50}) del extracto sobre segmentos de aorta con endotelio intacto fue de 462.9 (24.18 a 8,862) μg de proteína/ml, con un efecto máximo (E_{max}) de $143.1 \pm 114.4 \%$; mientras que la CE_{50} del extracto sobre segmentos de aorta sin endotelio fue de 8.3 (0.2 a 339), con un valor de E_{max} de $17.17 \pm 5.56 \%$ (Figura 7). Estos resultados sugieren que el efecto vasodilatador de *C. gigantea* depende en gran parte de la presencia del endotelio vascular.

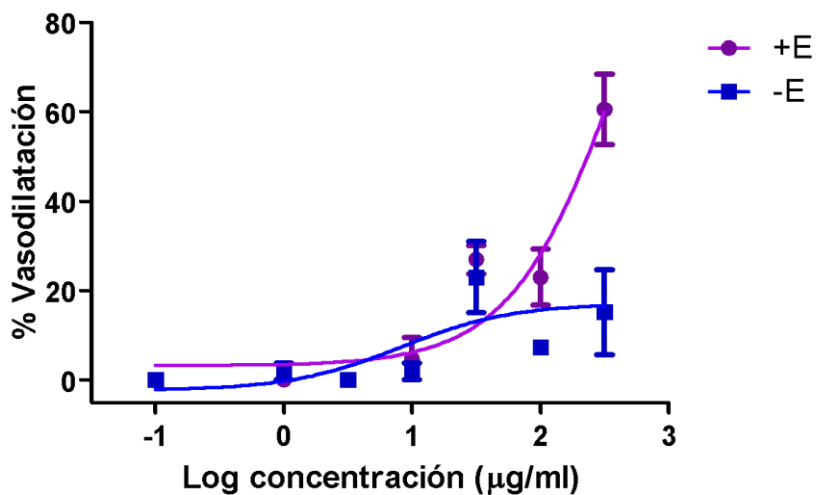


Figura 7. Curvas concentración-respuesta que muestran el efecto del extracto acuoso de *C. gigantea* con endotelio (+E) y sin endotelio (-E). Resultados expresados como la media \pm SEM ($n = 2$ o 3).

Al evaluar el efecto vasodilatador del extracto acuoso de *G. gigantea* sobre los segmentos de aorta a la concentración de 316 μg de proteína/ml en presencia y ausencia de endotelio vascular, así como en presencia de 1 μM de ODQ (inhibidor de la guanilato ciclasa soluble) y 1 μM de L-NAME (inhibidor de la óxido nítrico sintasa), se observó una disminución estadísticamente significativa del efecto vasodilatador en ausencia de endotelio o en presencia de los inhibidores (Figura 8). Estos resultados muestran que el extracto acuoso de *C. gigantea* depende de la participación de la vía del NO/GMPc. También se observó un efecto en los registros bifásicos (Figura 9), el cual consta de una primera fase de vasodilatación seguido de una contracción sostenida. Así mismo, se observa el comportamiento del efecto vasoactivo en diferentes condiciones sobre la aorta aislado de rata; como control positivo de contracción, se usó fenilefrina 1M.

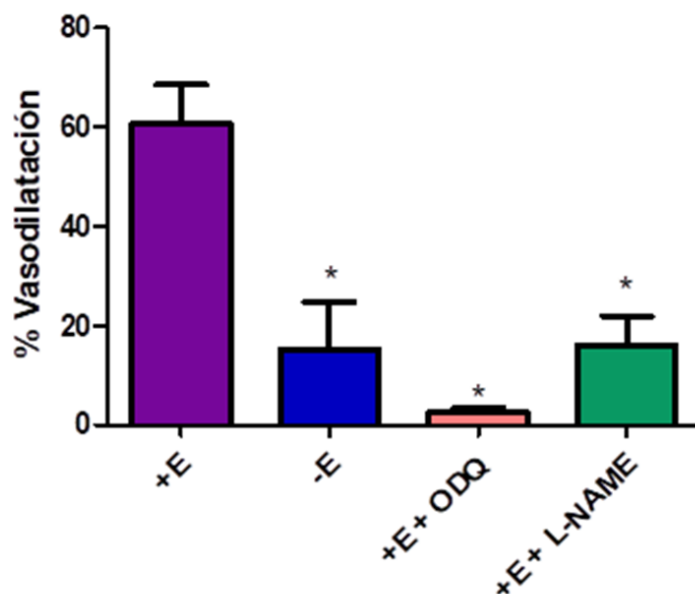


Figura 8. Efecto vasodilatador del extracto acuoso de *C. gigantea* sobre los segmentos de aorta (316 μg de proteína/ml) en presencia (+E) y ausencia (-E) de endotelio vascular, así como en presencia de 1 μM de ODQ (+E + ODQ) y 1 μM de L-NAME (+E – L-NAME). Resultados expresados como la media \pm SEM (n = 4). *Presentó diferencias significativas al compararse con el efecto del extracto con endotelio (+E) mediante un ANOVA de una vía seguido de un análisis post-hoc de Dunnett ($p < 0.05$).

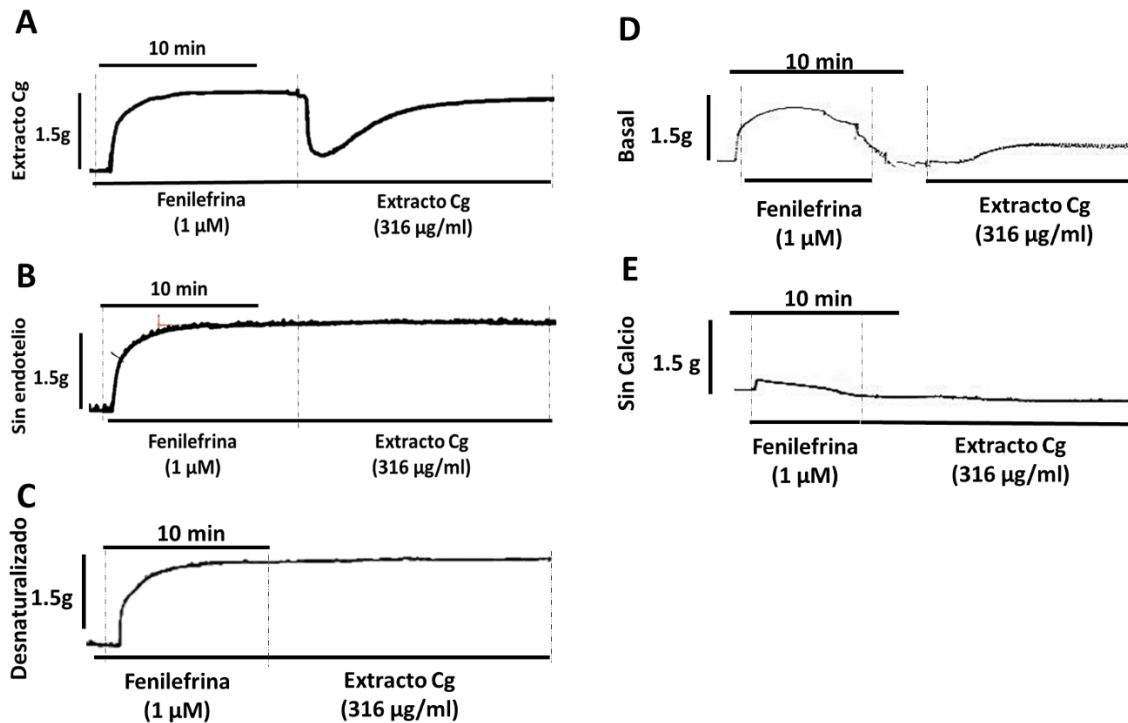


Figura 9. Efecto vasoactivo del extracto acuoso de Cg en diferentes condiciones en la misma concentración sobre segmentos de aorta aislada de rata. Extracto de Cg en condiciones normales (A), extractos de Cg sobre aorta aislada de rata sin endotelio (B), extracto de Cg desnaturalizado (C), Extracto de Cg en condiciones basales (D) y extracto de Cg en un medio sin calcio (E).

8.2 Análisis electroforético del extracto acuoso de *Condylactis gigantea* en condiciones nativas y reductoras.

El extracto acuoso de *C. gigantea* contiene proteínas que abarcan un intervalo de pesos moleculares comprendidos entre 5 y 203 kDa (Figura 10). En condiciones nativas y reductoras podemos encontrar bandas importantes de 202.915 kDa. En condiciones nativas observamos el bandeo de 83.403 kDa similar al peso de la albúmina de suero bovino mientras que en condiciones reductoras observamos un bandeo diferente en comparación a estas mismas que van aproximadamente cercano a los 60 kDa. En condiciones reductoras y nativas también observamos bandas cercanas a 114 kDa y 30 kDa. Este perfil electroforético nos da una visión

preliminar de la complejidad proteica dentro del extracto acuoso de *C. gigantea* y cómo estas proteínas pueden verse influenciadas mediante la adición de condiciones reductoras como es el β -mercaptoetanol.

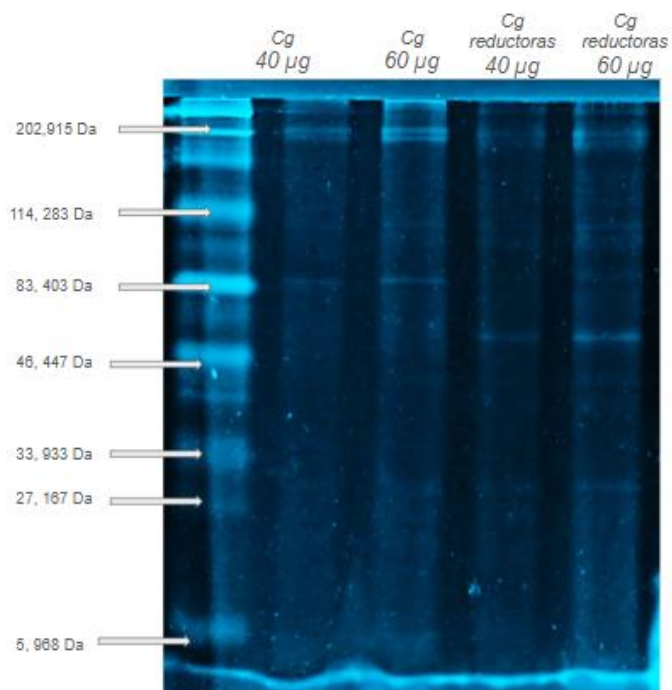


Figura 10. Perfil electroforético SDS-PAGE (12%) del extracto acuoso de *Condylactis gigantea* (Cg) en condiciones nativas y reductoras en concentraciones de 40 μ g y 60 μ g de proteína.

8.3 Análisis del extracto acuoso de *C. gigantea* por espectrometría de masas MALDI-TOF.

En la Figura 11, se muestran los espectros de masas obtenidos a partir del extracto acuoso de *C. gigantea*. Se utilizó un método de detección para péptidos y proteínas de bajo peso molecular (entre 5 y 200 kDa). Se logra apreciar que todas las fracciones tienen perfiles similares, mostrando picos de alta intensidad entre 26,217 y 38,187 kDa. Sin embargo, se necesita realizar una purificación del extracto acuoso para eliminar picos dentro del espectro. Esto muestra la complejidad de la muestra y las principales proteínas a fraccionar.

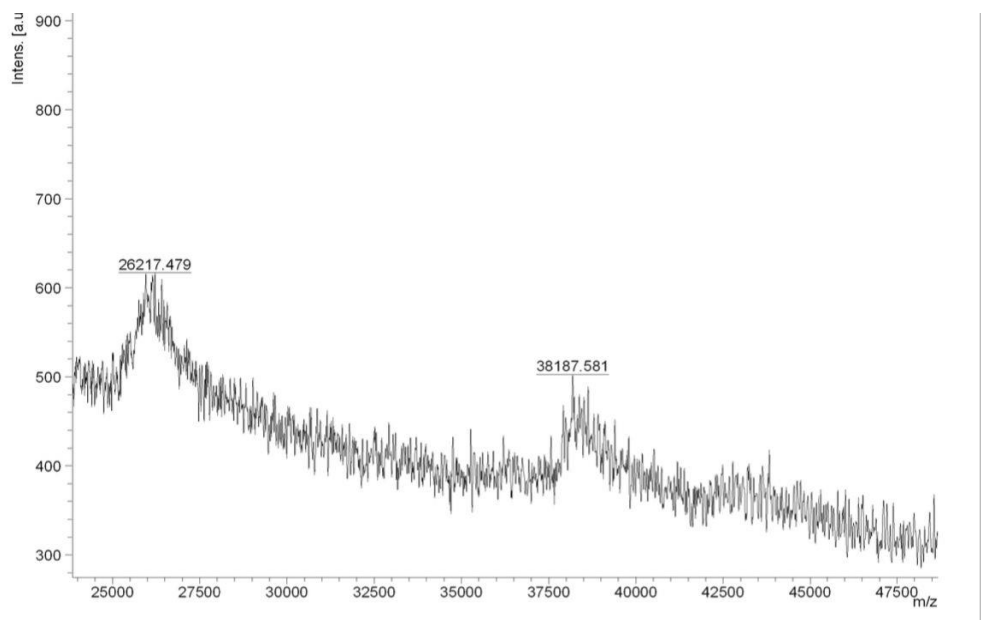


Figura 11. Análisis por espectrometría de masas MALDI-TOF del extracto acuoso de *C. gigantea*.

8.4 Fraccionamiento cromatográfico del extracto acuoso de *C. gigantea*

Mediante el fraccionamiento del extracto acuoso de *C. gigantea* por cromatografía de intercambio iónico se obtuvieron tres fracciones (F1, F2 y F3), mismas que se colectaron de acuerdo a los tiempos de retención, tal como se muestra en el cromatograma representativo de la Figura 12. Es importante mencionar que, para poder concentrar las fracciones por liofilización, primero se sometieron a un proceso de diálisis para eliminar el cloruro de sodio que se agregó durante el fraccionamiento cromatográfico.

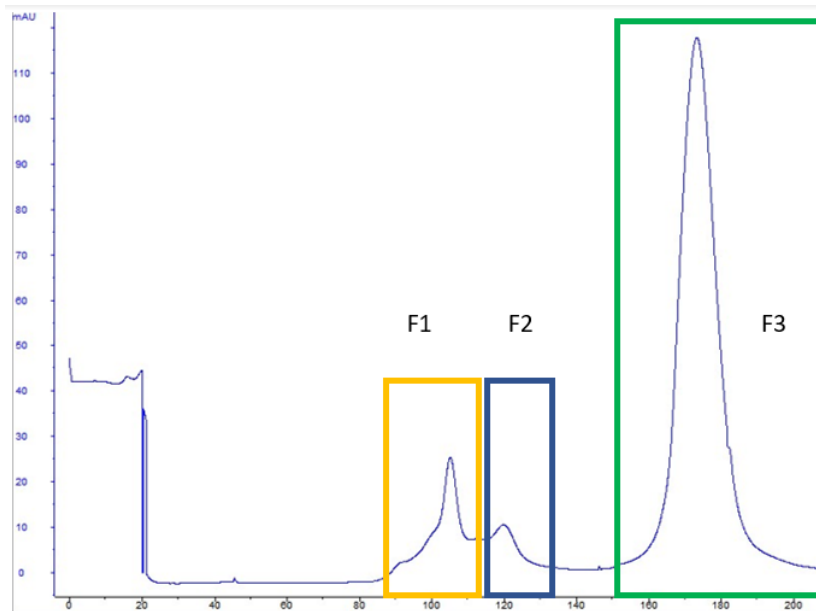


Figura 12. Perfil cromatográfico del extracto acuoso de *C. gigantea* (100 μ l) en una columna Hiprep DEAE FF. La columna se eluyó con Tris-HCl y Tris-HCl NaCl 20 Mm con un pH de 8.8 a un flujo de 0.5 ml/min.

8.5 Evaluación del efecto vasoactivo de las fracciones obtenidas a partir del extracto acuoso de *C. gigantea*

Se evaluó el efecto vasoactivo de las fracciones cromatográficas obtenidas a partir del extracto acuoso de *C. gigantea* sobre los segmentos de aorta aislados de rata. Al evaluar el efecto de las fracciones sobre la contracción inducida por fenilefrina, no se observó efecto vasodilatador (Figura 13). Por otro lado, en condiciones basales, las tres fracciones indujeron un efecto contráctil sobre los segmentos de aorta (Figura 14). En la Figura 15, se muestra la comparación de los efectos vasoconstrictores de las fracciones cromatográficas con el efecto del extracto acuoso de *C. gigantea*; se observa que la fracción 3 presentó mayor actividad.

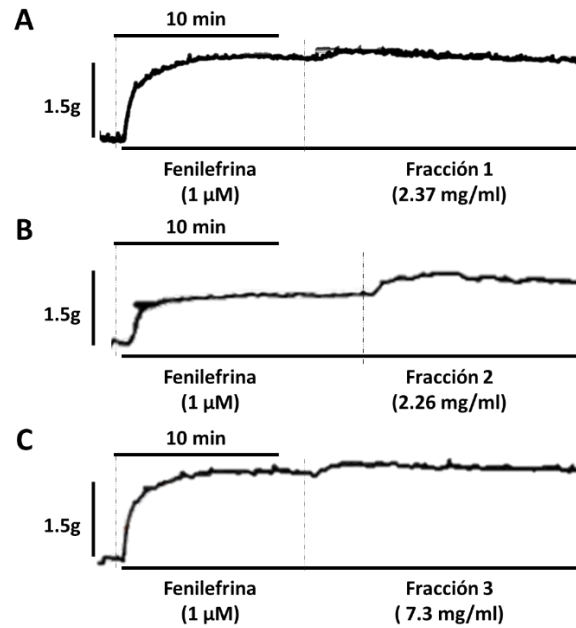


Figura 13. Efecto vasoactivo de las fracciones del extracto acuoso de *Condylactis gigantea* sobre segmentos de aorta aislados de rata. Fracción 1 [2.37 mg/mL] (A), fracción 2 [2.26 mg/mL] (B) y fracción 3 [7.3 mg/mL] (C).

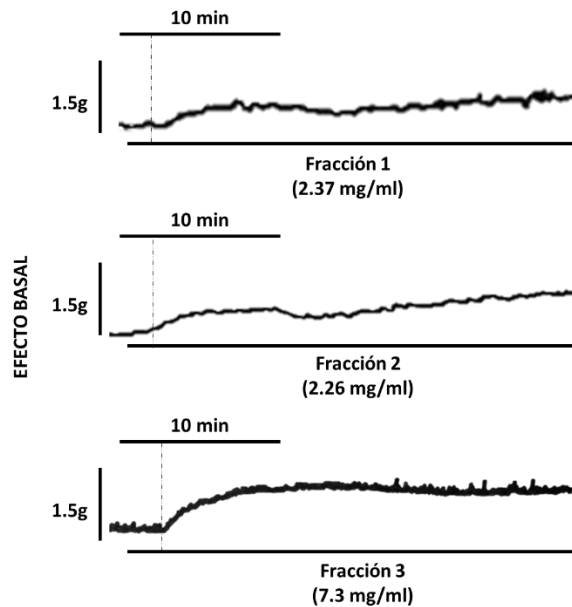


Figura 14. Efecto vasoactivo de las fracciones del extracto acuoso de *Condylactis gigantea* sobre segmentos de aorta aislados de rata en condiciones basales. Fracción 1 [2.27 mg/mL], fracción 2 [2.26 mg/mL] y fracción 3 [7.3 mg/mL].

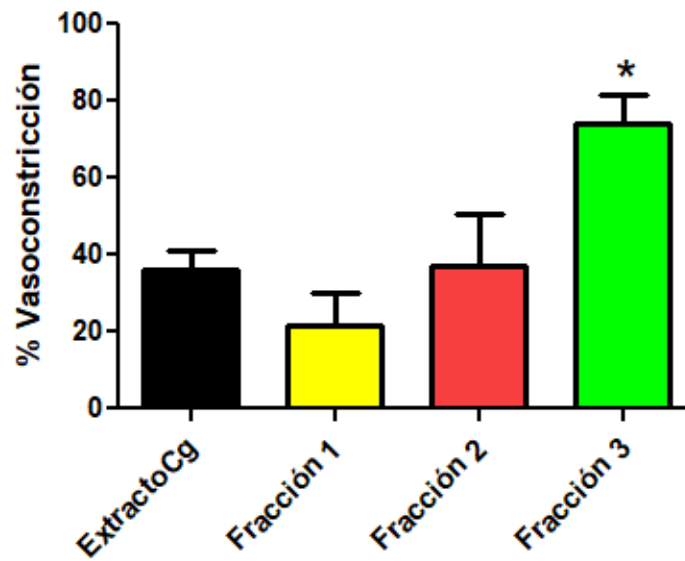


Figura 15. Efecto de vasoconstricción del extracto acuoso de *C. gigantea* (316 μ g de proteína/ml) sobre los segmentos de aorta aislada de rata en comparación con las fracciones obtenidas. Resultados expresados como la media \pm SEM (n = 4). *Presentó diferencias significativas al compararse con la vasoconstricción de la fracción 3 mediante un ANOVA de una vía seguido de un análisis post-hoc de Dunnett ($p < 0.05$).

9.DISCUSION

De acuerdo con investigaciones anteriores, se ha encontrado que las toxinas de las anémonas y Cnidarios en general contienen moléculas con propiedades interesantes que pueden servir como herramientas biotecnológicas incluidas muchas con posibles usos médicos (Palacios-Ortega y col., 2022). El veneno de las anémonas es muy diverso en sus constituyentes moleculares, incluyendo toxinas auxiliares, alérgenos y toxinas de inmunidad innata, toxinas de actividad hemostática y hemorrágica; enzimas de función mixta; toxinas que modulan canales dependientes de voltaje (neurotoxinas), toxinas formadoras de poros (citolisinas); inhibidores de proteasa y otras toxinas actinarias de función desconocida (Delgado y col., 2024). Todos los Cnidarios contienen estructuras conservadas llamadas cnidocitos, que son células especializadas que contienen toxinas. La mayor parte de estas son péptidos y proteínas que se almacenan en los cnidocitos. Algunas de estas toxinas podrían ser responsables de generar una respuesta sobre el tono del musculo liso arterial (D'Ambra y Lauritano, 2020).

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del extracto acuoso de la anémona *C. gigantea* sobre el tono del musculo liso arterial y rastrear los componentes vasoactivos mediante el ensayo de aorta aislado de rata y fraccionamiento biodirigido. Los resultados obtenidos muestran que el extracto acuoso de *C. gigantea* induce cambios significativos en la vasoactividad sobre los segmentos de aorta aislados de rata. Dicho extracto es capaz de generar una respuesta bifásica, donde observamos primeramente una actividad vasodilatadora seguida de una contracción prolongada. Particularmente, en Cnidarios podemos observar estas características con potencial farmacológico (Leone y col., 2013). En este estudio, se encontró que el extracto de *C. gigantea* produjo un efecto bifásico en la aorta de rata (Figura 9, A) a una concentración de 316 µg/mL tras el uso de la fenilefrina como control positivo de contracción. Esto puede deberse a la presencia de una mezcla de compuestos vasoconstrictores y compuestos vasodilatadores. En la Figura 9 (B), se observa cómo se preserva la vasoconstricción de la aorta en ausencia de endotelio, sin observarse una vasodilatación en contraste con la aorta

intacta. Este comportamiento es consistente con lo reportado por Wang y colaboradores en 2013 con el Cnidario *Cyanea capillata*. En su investigación, se menciona que el extracto de *C. capillata* presenta una vasoconstricción en aorta aislada de rata dependiente de la concentración y que se observa aun la contracción en aorta con endotelio como en aorta sin endotelio. Sin embargo, cuando la aorta es desprovista del endotelio, la vasoconstricción es mayor. Por ello, Wang y colaboradores (2013) sugieren que este extracto podría contener péptidos responsables de una vasodilatación funcional débil, indicando que, mediante experimentos farmacológicos, la vasodilatación podría estar mediada por el óxido nítrico, y que la vasoconstricción está inducida por la entrada de calcio (Wang y col. 2013). En este estudio, lo mismo se observa en la Figura 9. Cuando la aorta es desprovista del endotelio, cesa la vasodilatación y permanece la vasoconstricción, lo que sugiere que la vasodilatación depende totalmente del endotelio vascular. Sumado a esto, se comprueba que al usar L-NAME Y ODQ, como bloqueadores de la enzima óxido nítrico sintasa y de la enzima guanilato ciclasa soluble, la vasodilatación está mediada por la participación de la vía del NO/GMPc. Cuando el medio es restringido de calcio, la vasoconstricción desaparece, lo que sugiere que la vasoconstricción es totalmente dependiente de calcio. Así mismo, podemos ver este tipo de efecto bifásico en otros Cnidarios como *Chironex fleckeri* y *Chiropsella bronzie*, donde igualmente se observa primero una vasodilatación seguida de una vasoconstricción sostenida (Winter y col., 2007).

El análisis electroforético reveló que el extracto acuoso de *C. gigantea* contiene un amplio intervalo de pesos moleculares. Comparando las bandas electroforéticas y las bases de datos como UniProt y ProtParam, se pueden atribuir ciertas bandas por sus pesos moleculares a compuestos proteicos similares a las reportadas en las bases de datos, como son fosfolipasas A₂ con pesos aproximados de 14 kDa, como proteínas de pesos similares a 25 kDa o toxinas con pesos cercanos a 5 kDa con actividad sobre los canales de Na⁺ dependientes de voltaje (UniProt; ProtParam 2025). Incluso el bandeo electroforético arroja pesos moleculares similares a las toxinas reportadas CgNa y Condytoxina 2: La primera toxina con peso un peso molecular de 5034 kDa y la segunda con un peso molecular de 18,300 kDa, ambas con actividad vasocontractil (Garateix y col., 1992; Ständker y col., 2006).

El fraccionamiento cromatográfico del extracto acuoso de *C. gigantea* por cromatografía de intercambio iónico permitió hacer la separación de 3 fracciones fácilmente visibles. Los efectos de las tres fracciones fueron evaluados sobre aorta aislada de rata a una sola concentración para observar si tenían o no algún efecto vasoactivo. En las tres fracciones, se observó un efecto de contracción sobre el tono del musculo liso. Sin embargo, la actividad vasodilatadora se dejó de observar. Esto muestra que el extracto acuoso de *C. gigantea* presenta una mezcla de compuestos vasodilatadores y vasoconstrictores. El método cromatográfico empleado en este estudio permitió la separación de algunos de los compuestos vasoconstrictores. Sin embargo, al parecer este método no es adecuado para la obtención de los compuestos vasodilatadores, por lo que podrían realizarse pruebas con otros métodos cromatográficos para ese propósito. Entre las perspectivas que quedan pendientes en este estudio, es continuar con los análisis de las fracciones obtenidas para obtener información acerca de su composición. Debido a dificultades técnicas, está pendiente el análisis de las fracciones por MALDI-TOF para explorar los pesos moleculares de los componentes presentes en estas fracciones. Entre las perspectivas a futuro, también está el diseño de un protocolo de fraccionamiento para purificar los compuestos vasoconstrictores presentes en las fracciones F1, F2 y F3.

10. CONCLUSIÓN

Los resultados de esta investigación mostraron que el extracto acuoso de *Condylactis gigantea* induce un efecto vasoactivo bifásico sobre segmentos de aorta aislados de rata. El primer efecto es vasodilatador transitorio dependiente de la concentración y del endotelio vascular que se pierde tras la desnaturalización del extracto acuoso. El segundo efecto es vasoconstrictor independiente de endotelio y dependiente de calcio extracelular con compuestos termoestables para mantener una contracción. Los compuestos vasoconstrictores se pueden obtener mediante cromatografía de intercambio iónico, pero es necesario establecer métodos de purificación para extraer estos compuestos. Además, es necesario analizar a profundidad la respuesta vasodilatadora del extracto acuoso y probar otros métodos para obtener los componentes responsables de dicha respuesta.

11. REFERENCIAS

Álvarez E. (2017) *Anthopleura xanthogrammica* como fuente de péptidos moduladores de la respuesta nociceptiva evaluada en un modelo murino [tesis de Maestría no publicada] CICESE.

Almeida J, Resende L, Watanabe R, Carregari V, Huancahuire-Vega S, da Silva C, Coutinho-Neto A, Soares A, Vale N, Marangoni S, Calderon L, Da Silva S. Snake venom peptides and low mass proteins: molecular tools and therapeutic agents. *Curr Med Chem* (2017) 24(30):3254–3282.

Amreen S, Vinu D, Krupakar P, Govindaraju K, Sharma D, Vivek R. Jellyfish venom proteins and their pharmacological potentials: A review. *Int J Biol Macromol* (2021) 176 424-436.

Aneiros A, Garateix A. Bioactive peptides from marine sources: pharmacological properties and isolation procedures. *J. Chromatogr. B* (2004) 803 41–53.

Azuma H, Ishikawa M, Nakajima T, Satoh A, Sekizaki S. Calcium-dependent contractile response of arterial smooth muscle to a jellyfish toxin (pCrTX: *Carybdea rastonii*). *Br J Pharmacol* (1986) 88:549-559.

Balint B, García I, Schwab T, Schafers H. Aortic regurgitation provokes phenotypic modulation of smooth muscle cells in the normal ascending aorta. *JTCVS* (2023).

Baron A, Diochot S, Saliinas M, Deval E, Noel J, Lingueglia E. Venom toxins in the exploration of molecular, physiological and pathophysiological functions of acid-sensing ion channels. *Toxicon* (2013) 1-18.

Basatemur G, Jorgensen H, Clarke M, Bennett M, Mallat Z. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol* (2019) 16 727–744.

Beckmann A, Ozbek S. The nematocyst: a molecular map of the Cnidarian stinging organelle. *Int. J. Dev. Biol* (2012) 56: 577-582.

Brozovich F, Nicholson C, Degen C, Gao Y, Aggarwal M, Morgan K. Mechanisms of Vascular Smooth Muscle Contraction and the Basis for Pharmacologic Treatment of Smooth Muscle Disorders. *Pharm. Rev.* **(2016)** 68:476–532.

Camargo A, Ianzer D., Guerreiro J, Serrano S. Bradykinin-potentiating peptides: Beyond captopril. *Toxicon* **(2012)** 59 (4), 516–523.

Cao Z, Shahbazzadeh D, Kovacic H, McNutt P, Wang J, Wulff H, Utkin Y, Sabatier J. Editorial: venoms, animal and microbial toxins, volume II. *Front Pharmacol* **(2022)** 13:973628.

Charitos I, Gagliano-Candela R, Santacroce L, Bottalico L. Venoms and poisons during the centuries: A narrative review. *Bentham Science* **(2022)** 22 558-570.

Chippaux J. Estimating the global burden of snakebite can help to improve management. *PLoS Med* **(2008)** 5 (11):221.

Clark G, Casewell N, Elliott C, Harvey A, Jamieson A, Strong P. Friends or foes? Emerging impacts of biological toxins. *Trends Biochem. Sci* **(2019)** 44 (4), 365–379.

Córdova A. **(2013).** *Anémonas (Cnidaria, Anthozoa, Hexacorallia: Actiniaria, Corallimorpharia, Ceriantharia y Zoanthidea, del arrecife de Madagascar, Golfo de México.* [Tesis de maestría no publicada] UNAM.

D´Ambra I, Lauritano C. A Review of toxins from Cnidaria. *Marine Drugs* **(2020)** 18(10), 507.

De Castro K, Takeno C, Correa E, Lopes E, Cerni F, Gobbi F, Pino F, Almeida F, Wiezel G, Cardoso I, Gobbo I, Sousa I, Boldrini J, Berto M, Amaral M, Candiani E. From Animal Poisons and Venoms to Medicines: Achievements, Challenges and Perspectives in Drug Discovery. *Front Pharmacol* **(2020)** 11: 1132.

De Jesús J. **(2021).** *Estudio del mecanismo de acción del efecto vasodilatador del veneno de la tarántula Poecilotheria ornata.* [Tesis de maestría no publicada] UAQ.

Delgado A, Sozanski K, Daly M. Towards the exploration and evolution of insulin-like venoms in Actiniaria (sea anemones). *Marine Drugs* **(2024)** 22(3):136.

Diez N, Faks J, Nieves J, Sosa D. Caracterización de moléculas bioactivas presente en los extractos de la anémona *Condylactis gigantea*. CIBE (2018) 18-31.

Freeman S, Turner J. Cardiovascular effects of Cnidarian toxins: A comparison of toxins extracted from *Chiropsalmus quadrigatus* and *Chironex fleckeri*. Toxicon (1972) 10 31-37.

Garateix A, Castellanos M, Hernández JL, Más R, Menéndez R, Romero L, Chávez M. Effects of a high molecular weight toxin from the sea anemone *Condylactis gigantea* on cholinergic responses. Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol Toxicol (1992) 103(2):403-9.

García-Arredondo A, Murillo-Esquivel L, Rojas A, Sanchez-Rodriguez J. Characteristics of hemolytic activity induced by the aqueous extract of the Mexican fire coral *Millepora complanata*. JVATiTD (2014) 20:49.

García-Arredondo A, Rojas-Molina A, Bah M, Ibarra-Alvarado C, Gallegos-Corona M, García-Servín M. Systemic toxic effects induced by the aqueous extract of the fire coral *Millepora complanata* and partial purification of thermostable neurotoxins with lethal effects in mice. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. (2015) 169 55-64.

García-Arredondo A, Rojas-Molina A, Ibarra-Alvarado C, Lazcano-Pérez F, Arreguín-Espinosa R, Sánchez-Rodríguez J. Composition and biological activities of the aqueous extracts of three scleractinian corals from the Mexican Caribbean: *Pseudodiploria strigosa*, *Porites astreoides* and *Siderastrea siderea*. JVATiTD (2016) 22:32.

González-Muñoz R, Simoes N, Sánchez-Rodríguez J, Rodríguez E, Segura-Puertas L. First inventory of sea anemones (Cnidaria: Actiniaria) of the Mexican Caribbean. Zootaxa (2012) 3556: 1–38.

Hemmati S, Rasekhi H. Polypharmacological Cell-Penetrating Peptides from Venomous Marine Animals Based on Immunomodulating, Antimicrobial, and Anticancer Properties. Mar. Drugs (2022) 20, 763.

Hickman C, Roberts L, Parson A. Principios Integrales de Zoología. 10ª ed. Madrid: McGraw Hill Interamericana de España **(2000)**.

INE. Programa de Manejo del Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos, Quintana Roo. Instituto Nacional de Ecología **(2000)** 225.

Karabulut A, McClain M, Rubinstein B, Sabin K, McKinney S, Gibson M. The architecture and operating mechanism of a Cnidarian stinging organelle. Nat Commun. **(2022)** 13(1):3494.

Klaassen C, Watkins J. **(2001)**. Toxicología. Quinta edición McGraw-Hill Interamericana cap 25-26.

Knox M, Vinet R, Fuentes L, Morales B, Martínez J. A Review of endothelium-dependent and independent vasodilation induced by phytochemicals in isolated rat aorta. Animals **(2019)** 9(9): 623.

Laemmli U. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature **(1970)** 227:680-685.

Leone A, Lecci R, Durante M, Piraino S. Extract from the Zooxanthellate Jellyfish *Cotylorhiza tuberculata* Modulates Gap Junction Intercellular Communication in Human Cell Cultures. Marine Drugs **(2013)** 11(5), 1728-1762.

Loredo J, Gonzalez J, Hessinger D. Vascular effects of *Physalia physalis* venom in the skeletal muscle of the dog. J. Pharmacol. Exp. Ther. **(1985)** 232 (2), 301–304

Madio B, King G, Undheim E. Sea Anemone Toxins: A Structural Overview. Mar Drugs **(2019)** 1;17(6):325.

Martini V. **(2012)** *Estudios proteómicos de toxinas marinas extraídas de la anémona Condylactis gigantea procedente de la bahía de Mochima, Edo. Sucre - Venezuela* [Tesis de Maestría no publicada] UCV.

Mercado F, Vega E, Soto E. Canales iónicos sensibles a la concentración extracelular de protones: estructura, función, farmacología y fisiopatología. Neurología **(2005)** 41.

Mitchell B, Chitaley K, Webb R. Vascular smooth muscle contraction and relaxation. In: Hypertension Primer: The Essentials of High Blood Pressure. Heart Assoc (2003) 97-99.

Moran Y, Genikhovich G, Gordon D, Wienkoop S, Zenkert C, Ozbek S, Technau U, Gurevitz M. Neurotoxin localization to ectodermal gland cells uncovers an alternative mechanism of venom delivery in sea anemones. Proc Biol Sci. (2012) 7;279 (1732):1351-8.

Moran Y, Gordon D, Gurevitz M. Sea anemone toxins affecting voltage-gated sodium channels, molecular and evolutionary features. Toxicon (2009) 54: 1089-1101.

Murakami M, Taketomi Y, Miki Y, Sato H, Yamamoto K, Lambeau G. Emerging roles of secreted phospholipase A2 enzymes: The 3rd edition. Biochimie (2014) 1-9.

Nepovimova E, Kuca K. The history of poisoning: from ancient times until modern era. Arch. Toxicol (2019) 93(1), 11-24.

Novo de Oliveira A, Martins A, Da Silva S. Why to Study Peptides from Venomous and Poisonous Animals? Int J Pept Res Ther (2023) 29:76.

Oliveira J, Fuentes D, King G. Development of a rational nomenclature for naming peptide and protein toxins from sea anemones. Toxicon (2012) 539-550.

Ortiz E, Gurrola G, Schwartz E, Possanl L. Scorpion Venom Components as Potential Candidates for Drug Development. Toxicon (2015) 93, 125–135.

Palacios-Ortega J, Heras-Márquez D, Amigot-Sánchez R, García-Montoya C, Torrijos C, Laxalde D, Gavilanes J, García-Linares S, Martínez-del-Pozo Á. Sea anemones, actinoporins, and cholesterol. Int. J Mol Sci (2022) 23(15), 8771.

Pennington M, Czerwinski A, Norton R. Peptide therapeutics from venom: Current status and potential. Bioorg. Med. Chem (2017) 0968-0896.

Pearson J. Shamanism and the Ancient World: A Cognitive Approach to Archeology; Altamira Press: Lanham (2002).

PIECEMO, UNAM. (s.f.). *Condylactis gigantea*. <http://piecemo.sisal.unam.mx/cgi-bin/especies.cgi?id=10>

Pizaña A. (2018). Caracterización química y farmacológica de los compuestos vasoconstrictores del extracto acuoso de *Pseudodiploria strigosa* [Para obtener el grado de Maestría, UAQ].

Prentis P, Pavasovic A, Norton R. Sea anemones: Quiet achievers in the field of peptide toxins. *Toxins* (2018) 10 36-40.

Rees B, Bilwes A. Three-Dimensional Structures of Neurotoxins and Cardiotoxins. *Chem. Res. Toxicol* (1993) 6,4.

Rodríguez E, Daly M. Phylogenetic Relationships among Deep-Sea and Chemosynthetic Sea Anemones: Actinoscyphiidae and Actinostolidae (Actiniaria: Mesomyaria). *PLoS ONE* (2010) 5 (6): e10958.

Romero L, Marcussi S, Marchi D, Silva F, Fuly A, Stábeli R, da Silva S, Gonzalez J, del Monte A, Soares A. Enzymatic and structural characterization of a basic phospholipase A2 from the sea anemone *Condylactis gigantea*. *Biochimie* (2010) 1063-1071.

Santos Y, Martínez M, Sandoval A, Rodríguez AA, Falcón A, Heimer de la Cotera EP, Aguilar MB, Flores P, Felix R, Arreguín R. Arrhythmogenic effect of a crude extract from sea anemone *Condylactis gigantea*: possible involvement of rErg1 channels. *Toxicon* (2013) 1; 67:47-54.

Schaloske R, Dennis E. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochim. Biophys* (2006) 1246-1259.

Six D, Dennis E. The expanding superfamily of phospholipase A2 enzymes: classification and characterization. *Biochim Biophys Acta* (2000) 1488(1):1-19.

Ständker L, Béress L, Garateix A, Christ T, Ravens U, Salceda E, Soto E, John H, Forssmann WG, Aneiros A. A new toxin from the sea anemone *Condylactis gigantea* with effect on sodium channel inactivation. *Toxicon* (2006) 48(2):211-20.

Stoletzki N, Schierwater B. Genetic and color morph differentiation in the Caribbean sea anemone *Condylactis gigantea*. Mar. Biol (2005) 147, 747–754.

Suput D, Frangez R, Bunc M. Cardiovascular effects of equinatoxin III from the sea anemone *Actinia equina* (L.). Toxicon (2001) 39 1421-1427.

Suput D. In vivo effects of cnidarian toxins and venoms. Toxicon (2009) 54 (2009) 1190–1200.

Talvinen K, Nevalainen T. Cloning of a novel phospholipase A2 from the cnidarian *Adamsia carciniopados*. CBP (2002) 132 571-578.

Vicencio de la Cruz F, González-Muñoz R. Las anémonas marinas de los sistemas arrecifales de Veracruz. Estudios Científicos en el Corredor Arrecifal del Suroeste del Golfo de México, UAC (2019) 139-156.

Wang B, Zhang B, Wang Q, Zhang Z, Nie F, Liu G, Zeng J, Xiao L, Zhang E. Pharmacological studies of tentacle extract from the jellyfish *Cyanea capillata* in isolated rat aorta. Marine Drugs (2013) 11(9), 3335-3349.

Wicksten M. Why are there bright colors in sessile marine invertebrates?. Bulletin of marine science (1989) 45(2): 519-530.

Winter K, Fernando R, Ramasamy S, Seymour J, Isbister GK, Hodgson W. The in vitro vascular effects of two chirodropid (*Chironex fleckeri* and *Chiropsella bronzie*) venoms. Toxicol Lett (2007) 168:13-20.

Yamada A, Ling J, Yamada A, Furue H, Gu J. ASICs mediate fast excitatory synaptic transmission for tactile discrimination. Neuron (2024).