

Producción de EPA y fucoxantina con *Phaeodactylum tricornutum* y su interacción con el receptor PPAR usando un enfoque *in silico*

Production of EPA and fucoxanthin from *Phaeodactylum tricornutum* and their interaction with the receptor PPAR using an *in silico* approach

Takebayashi-Caballero Noemi¹, Rico-Chávez Amanda Kim¹, Reynoso-Camacho Rosalía¹, Feregrino-Pérez Ana Angélica², Castaño-Meneses Víctor Manuel³, Amaya-Llano Silvia Lorena¹, Regalado-González Carlos^{1*}

¹Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Querétaro, Qro., 76010, México

²Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

³Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Juriquilla, Querétaro, Qro., 76230, México.

takebayashinoemi@gmail.com; regcarlos@gmail.com

RESUMEN:

Phaeodactylum tricornutum es una microalga productora de omega-3 (EPA) y carotenoides (fucoxantina), asociados con efectos benéficos a la salud. Se evaluó la producción de carotenoides y EPA bajo diferentes condiciones de cultivo, tales como mixotrofia y autotrofia, así como el potencial de interacción de EPA y fucoxantínol para estimar su efecto combinado en la ocupación del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR α) mediante herramientas *in silico*. El acoplamiento molecular reveló que ambos compuestos presentan afinidad hacia PPAR α , con valores de la constante de disociación en el rango micromolar (6.35 μ M para EPA y 1.63 μ M para fucoxantínol). Se desarrolló un modelo de superficie de respuesta que integró la concentración y afinidad de ambos compuestos mediante la función de ocupación del receptor. El modelo permitió identificar una combinación óptima de 1385 mg/día de EPA y 32 mg/día de fucoxantínol, que maximiza la ocupación teórica de PPAR α dentro del rango evaluado, evidenciando un comportamiento no lineal con efecto de saturación. Estos resultados constituyen una predicción matemática derivada del modelo computacional y proporcionan una base para futuros estudios experimentales destinados a evaluar la activación funcional de PPAR α y sus posibles implicaciones en la regulación del metabolismo lipídico.

PALABRAS CLAVE: omega-3, microalga, fucoxantina, autotrofia, mixotrofia

ABSTRACT:

Phaeodactylum tricornutum is a microalga known for producing omega-3 fatty acids (EPA) and carotenoids (fucoxanthin), which have been associated with beneficial health effects. In this study, pigment and EPA production were evaluated under different cultivation conditions, such as mixotrophy and autotrophy, along with the potential interaction of EPA and fucoxanthinol to estimate their combined effect on the interaction with the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR α) using *in silico* approaches. Molecular docking analysis revealed that both compounds exhibit affinity toward PPAR α , with dissociation constant (K_d) values in the micromolar range (6.35 μ M for EPA and 1.63 μ M for fucoxanthinol). A response surface model was developed to integrate the concentration and affinity of both compounds through a receptor occupancy function (f_{total}). The model identified a combination of 1385 mg/day of EPA and 32 mg/day of fucoxanthinol that maximized the theoretical occupancy of PPAR α within the evaluated range, exhibiting a nonlinear behavior with a saturation effect. These findings represent a mathematical prediction derived from the computational model and provide a basis for future experimental studies aimed at evaluating the functional activation of PPAR α and its potential role in the regulation of lipid metabolism.

KEYWORDS: omega-3, microalgae, fucoxanthin, autotrophy, mixotrophy

INTRODUCCIÓN

P. tricornutum es una diatomea unicelular diploide del fitoplancton (Sprecher et al., 2023) que puede crecer mediante diferentes modos de nutrición, como el autotrófico, el heterotrófico y el mixotrófico. En modo autotrófico, utiliza la luz como fuente de energía y fija el CO₂ mediante la fotosíntesis, generando ATP y NADPH en los tilacoides del plastidio y sintetizando carbohidratos mediante el ciclo de Calvin. En condiciones heterotróficas, cuando no hay luz, *P. tricornutum* obtiene energía a partir de compuestos orgánicos mediante la glucólisis, el ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones. Bajo condiciones mixotróficas, combina ambos mecanismos, utilizando simultáneamente la fotosíntesis y la captación de carbono orgánico (Abreu et al., 2022). Estas diferencias metabólicas se reflejan en el tiempo de duplicación (TD), definido como el período necesario para que una población duplique su número de células. En este sentido, cuanto más corto sea el TD, más rápido crecerá el cultivo. Por ejemplo, Kim et al. (2016) reportaron valores de TD de 13.9 h en autotrofia, 21 h en heterotrofia y apenas 6.9 h en mixotrofia.

P. tricornutum sintetiza ácidos grasos omega-3 como parte de su metabolismo. Los omega-3 desempeñan funciones esenciales tanto en la fisiología de las microalgas como en la salud humana. En *P. tricornutum*, los omega-3 son un componente estructural de las membranas celulares, especialmente de los tilacoides del plastidio, donde contribuyen a mantener su fluidez e integridad (Zakaria et al., 2025). En humanos, los ácidos grasos omega-3 confieren múltiples beneficios para la salud. Se ha demostrado que contribuyen a reducir los niveles de triglicéridos plasmáticos, favorecen el control de la presión arterial y disminuyen la agregación plaquetaria, efectos que, en conjunto, se asocian con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares (Alagawany et al., 2022; Patted et al., 2024). En particular, un tipo de omega-3, el ácido eicosapentaenoico (EPA), aumenta la expresión del transportador de glucosa GLUT4 en el tejido muscular, lo que facilita la captación de glucosa (Farsi et al., 2014). Asimismo, estimula la secreción de adiponectina, una hormona producida por los adipocitos que mejora la sensibilidad a la insulina y ejerce efectos antiinflamatorios (Kapoor et al., 2021).

De manera complementaria, *P. tricornutum* sintetiza fucoxantina, un carotenoide que actúa como pigmento accesorio al absorber luz en torno a 450 nm y en el rango de 470 a 540 nm. Esta característica le permite captar la luz azul-verde que las clorofilas no absorben de manera eficiente, ampliando el espectro de radiación disponible para la fotosíntesis y favoreciendo el crecimiento de la microalga (Abdoul-Latif et al., 2024). En investigaciones recientes, la fucoxantina ha sido ampliamente descrita como un carotenoide con potente actividad antioxidante y antiinflamatoria, capaz de eliminar especies reactivas de oxígeno y modular vías clave de señalización celular, como NF-κB y las vías de señalización de MAPK (Guan et al., 2022).

El receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPARα) es un factor de transcripción que regula el metabolismo lipídico en humanos. PPARα se activa por ligandos específicos, como el EPA, forma un heterodímero con el receptor X de retinoides (RXR) y se une a elementos de respuesta específicos en el ADN, promoviendo la expresión de genes involucrados en la captación, el transporte y la β-oxidación de ácidos grasos, al tiempo que reduce la síntesis de triglicéridos y la inflamación (Ahmadi et al., 2023; Kapoor et al., 2021). Aunque la fucoxantina (Fx) y su principal metabolito, el fucoxantínol (FxOH), no actúan como agonistas directos de PPARα, se ha propuesto que sus efectos metabólicos se derivan de la modulación de vías de señalización dependientes de este receptor (Sayuti et al., 2023).

Para este proyecto se planteó la hipótesis de que la coexistencia natural de EPA y fucoxantina en *P. tricornutum* podría generar un efecto complementario o sinérgico en vías metabólicas dependientes de PPARα, contribuyendo a los beneficios metabólicos atribuidos a los componentes de *P. tricornutum*. En este contexto, las herramientas *in silico* representan una aproximación útil para explorar de manera preliminar las posibles interacciones entre compuestos bioactivos y sus blancos moleculares, así como para generar hipótesis que orienten estudios experimentales posteriores. Por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del modo de cultivo sobre la producción de compuestos bioactivos (pigmentos y EPA) en *Phaeodactylum tricornutum*, así como analizar su potencial interacción con el receptor PPARα mediante acoplamiento molecular y modelado de superficie de respuesta, con el fin de estimar su efecto combinado en la ocupación del receptor.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales

La cepa de *Phaeodactylum tricornutum* se obtuvo del cepario del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE, Baja California, México). El medio de cultivo F/2 de Guillard se preparó con agua de mar PANAKos® filtrada (México) suplementada con soluciones estériles de nitrato de sodio (NaNO_3), fosfato monobásico de sodio monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), metasilicato de sodio nonahidratado ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), solución de elementos traza y solución vitamínica. Para la preparación de la solución de elementos traza se emplearon cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), EDTA disódico dihidratado ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sulfato cúprico pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), molibdato de sodio dihidratado ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), cloruro de cobalto hexahidratado ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y cloruro de manganeso tetrahidratado ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). La solución vitamínica estuvo compuesta por tiamina (vitamina B_1), biotina (vitamina H) y cianocobalamina (vitamina B_{12}). Para establecer las condiciones mixotróficas, se utilizó glicerol esterilizado en autoclave ($\geq 99\%$ de pureza, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) como fuente de carbono orgánico, a una concentración final de 0.1 M.

2. Preparación del medio F/2

Se preparó el medio F/2 con las concentraciones indicadas en los Cuadros 1, 2 y 3. El medio se ajustó inicialmente a pH 7 (a lo largo del experimento no se volvió a ajustar el pH), se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min. Dicho procedimiento se obtuvo del Centro Nacional para Algas Marinas y Microbiota (National Center for Marine Algae and Microbiota; Guillard, 1975; Guillard & Ryther, 1962).

Cuadro 1. Composición del medio de cultivo F/2

Componente	Solución madre	Cantidad adicionada	Concentración molar final
NaNO_3	75 g/L en agua destilada	1.0 mL	8.82×10^{-4} M
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5 g/L en agua destilada	1.0 mL	3.62×10^{-5} M
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	30 g/L en agua destilada	1.0 mL	1.06×10^{-4} M
Solución de elementos traza	Ver Cuadro 2	1.0 mL	-
Solución vitamínica	Ver Cuadro 3	0.5 mL	-
Agua de mar	Panakos	Aforado a 1 L	

Cuadro 2. Composición de la solución de elementos traza

Componente	Solución madre	Cantidad	Concentración molar final en el medio
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	—	3.15 g	1.17×10^{-5} M
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	—	4.36 g	1.17×10^{-5} M
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	9.8 g/L	1.0 mL	3.93×10^{-8} M
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6.3 g/L	1.0 mL	2.60×10^{-8} M
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22 g/L	1.0 mL	7.65×10^{-8} M
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10 g/L	1.0 mL	4.20×10^{-8} M
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	180 g/L	1.0 mL	9.10×10^{-7} M

Cuadro 3. Composición de la solución vitamínica

Componente	Solución madre	Cantidad	Concentración molar final en el medio
Clorhidrato de tiamina (Vitamina B ₁)	—	200 mg	2.96×10^{-7} M
Biotina (Vitamina H)	0.1 g/L	10.0 mL	2.05×10^{-9} M
Cianocobalamina (Vitamina B ₁₂)	1.0 g/L	1.0 mL	3.69×10^{-10} M

3. Crecimiento de *P. tricornutum*

P. tricornutum se cultivó en medio F/2 de Guillard bajo condiciones autotróficas y mixotróficas. Los cultivos fueron inoculados al 10% v/v utilizando una suspensión de *P. tricornutum* obtenida de un cultivo previo en fase logarítmica media, con una densidad óptica a 750 nm de 0.8. En los tratamientos mixotróficos, el medio se suplementó con glicerol 0.1 M (esterilizado por autoclave junto con los demás ingredientes del medio de cultivo) como fuente de carbono orgánico, mientras que los tratamientos autotróficos se cultivaron únicamente en medio F/2. Los cultivos se incubaron a 20 ± 1 °C en una cava de vinos termoeléctrica (Gutstark, modelo mkz.cavae32boneg, Coyoacán, CDMX, México), bajo iluminación continua (24:0 h:h luz:oscuridad) proporcionada por una lámpara de luz blanca de 40 W con una intensidad aproximada de $100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los cultivos se realizaron en matraz Erlenmeyer de 500 mL con cultivo de trabajo de 250 mL, sin aireación, aunque los cultivos se homogeneizaron mediante agitación manual cada 8 h, con el fin de evitar la sedimentación celular y favorecer una distribución uniforme de las células y los nutrientes en el medio. El crecimiento se monitoreó mediante la determinación de la densidad óptica a 750 nm (OD_{750}) utilizando una cubeta con una longitud de trayectoria óptica de 1 cm. Las mediciones se realizaron al día 10 tras la inoculación.

4. Cuantificación de carotenoides

Para la cuantificación de carotenoides (como aproximación de la fucoxantina), se tomó 1 mL de cultivo, que se centrifugó a $5300 \times g$ durante 10 min, se añadió 1 mL de DMSO al pellet y se incubó en la oscuridad a 6 ± 2 °C durante 48 h. Posteriormente, se centrifugó nuevamente y se midió la absorbancia del sobrenadante a 480, 630, 649 y 665 nm. La cuantificación de carotenoides se realizó mediante la ecuación 1 (Ritchie et al., 2022):

$$\text{Carotenoides totales} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{1000(A_{480}) - 1.29(\text{Chl } a) - 53.78(25.06A_{649} - 6.5A_{665})}{220} \quad (1)$$

5. Determinación de la biomasa y lípidos

La biomasa se determinó al final del cultivo mediante el peso seco (n=3). Un volumen conocido del cultivo se centrifugó; la biomasa recuperada se lavó con agua destilada, se secó a 40 °C hasta peso constante y los resultados se expresaron en g/L de cultivo.

Los lípidos totales se extrajeron de la biomasa de *P. tricornutum* mediante el método de Bligh y Dyer modificado (n=3) (Breil et al., 2017). La fracción lipídica se recuperó tras la separación de fases con KCl al 0.58 % y se cuantificó gravimétricamente tras la evaporación del disolvente.

6. Cuantificación de EPA

Los ácidos grasos se esterificaron con grupos metilo y se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), según el procedimiento descrito por Soares et al. (2019), en duplicado. Para cada pico, se integró el área bajo la curva correspondiente. El EPA se calculó mediante la ecuación 2. La concentración de EPA (mg/L) se calculó multiplicando el % de EPA por la concentración de lípidos totales.

$$\text{EPA (\%)} = \frac{\text{Área de EPA}}{\text{Sumatoria de áreas}} \quad (2)$$

7. Preparación del receptor para el acoplamiento molecular y de los ligandos

Se seleccionó al receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR α), porque es el principal receptor implicado en la regulación de la β -oxidación de ácidos grasos y una de las principales dianas moleculares a través de las cuales el EPA ejerce sus efectos antiinflamatorios. La estructura se obtuvo del Protein Data Bank (PDB, ID: 2ZNN) y corresponde a una estructura resuelta por difracción de rayos X y cristalizada en complejo con el agonista sintético TIPP703. La selección de esta estructura se debió a que representa el dominio de unión funcional de PPAR α y contiene un agonista cocrystalizado que permite identificar con precisión el bolsillo de unión del receptor. La estructura se preparó en UCSF Chimera. Inicialmente, se inspeccionó la proteína para identificar el ligando cocrystalizado (TIPP703) y verificar la localización del sitio activo. Posteriormente, se eliminaron el ligando, las moléculas de agua y otros heteroátomos no esenciales para obtener una estructura limpia del receptor destinada al acoplamiento molecular. El centro geométrico del sitio de unión se determinó a partir de la posición del ligando cocrystalizado y se utilizó como referencia para corroborar la cavidad de unión identificada durante el proceso de docking.

Los ligandos evaluados fueron el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el fucoxantínol, principal metabolito de la fucoxantina. Las estructuras químicas de ambos compuestos se obtuvieron de la base de datos pública PubChem (ID 5282847 para EPA e ID 11273547 para fucoxantínol) en formato SDF (Structure Data File).

8. Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular se realizó con CB-Dock2, una plataforma web que identifica automáticamente cavidades potenciales de unión mediante un procedimiento de blind docking y calcula la afinidad ligando-receptor con el motor de búsqueda AutoDock Vina.

La estructura preparada del receptor PPAR α se utilizó como macromolécula de entrada, mientras que las estructuras tridimensionales de EPA y fucoxantínol, obtenidas de PubChem, se emplearon como ligandos independientes. Para cada compuesto, CB-Dock2 detectó automáticamente las cavidades potenciales de unión presentes en el receptor, energías de unión (ΔG) y aminoácidos involucrados en la unión. La constante de disociación (Kd) se obtuvo a partir de la ecuación 3.

$$Kd = e^{\Delta G/0.5929} \quad (3)$$

Se realizó un diseño factorial con EPA (dosis diaria de 100-2000 mg/día) y fucoxantínol (dosis diaria de 2-40 mg/día). Para cada mezcla, se calculó la ocupación de receptor (f total) usando la ecuación 4 y se modeló mediante una superficie de respuesta, únicamente como herramienta estadística para describir el comportamiento de f total en los rangos de dosis evaluados. El modelado se realizó en R.

$$f_{total} = \frac{\frac{C_{EPA}}{Kd_{EPA}} + \frac{C_{Fx}}{Kd_{Fx}}}{1 + \frac{C_{EPA}}{Kd_{EPA}} + \frac{C_{Fx}}{Kd_{Fx}}} \quad (4)$$

Donde C_{EPA} = concentración equivalente de EPA calculada a partir de la dosis; C_{Fx} = concentración equivalente de fucoxantínol calculada a partir de la dosis; Kd_{EPA} = Kd estimado de EPA; Kd_{Fx} = Kd estimado de fucoxantínol

9. Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado biológico (n = 3) y únicamente la cromatografía de gases se realizó por duplicado (n=2). Los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar y, para determinar si existía una diferencia significativa, se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Phaeodactylum tricornutum se cultivó en condiciones estándar a 20 ± 1 °C, bajo luz continua, manteniendo constante el glicerol (0,1 M), sin suministro de CO₂, en medio F/2. Se midió la densidad óptica a 750 nm, una medida indirecta del crecimiento de microalgas. Al día 10, se obtuvo $A_{750} = 0.35 \pm 0.03$ para el cultivo autotrófico y $A_{750} = 0.90 \pm 0.05$ para el cultivo mixotrófico. Kim et al. (2016) obtuvieron mayor tiempo de duplicación para el cultivo autotrófico (13.9 h) comparado con el mixotrófico (6.9 h).

Asimismo, al día 10 se midieron los carotenoides (como una estimación de fucoxantina), obteniéndose 7.66 ± 0.80 µg/ml en el cultivo autotrófico y 4.40 ± 0.39 µg/ml en el cultivo mixotrófico. Al no depender de una fuente de carbono, la fotosíntesis resulta primordial para el crecimiento de la microalga (Abreu et al., 2022). Los pigmentos de *P. tricornutum* se encuentran en el complejo fucoxantina-clorofila de las membranas tilacoidales. La fucoxantina actúa como pigmento antena, ayudando a captar la luz y a transferir la energía a la clorofila a (Songaila et al., 2013). En cambio, bajo condiciones de mixotrofia, la microalga puede recurrir a la glucólisis, al ciclo de Krebs y al transporte de electrones, así como a la fotosíntesis (Abreu et al., 2022). Por ello, en cultivos autotróficos la concentración de fucoxantina es mayor, como se observa a simple vista en la Figura 1, a pesar de presentar una menor densidad óptica a 750 nm (indicativa de la biomasa celular).



Figura 1. Imagen representativa de las fermentaciones; cultivo autotrófico (a la izquierda) y cultivo mixotrófico (a la derecha).

Posteriormente, se cuantificaron la biomasa y los lípidos por gravimetría, los cuales se muestran en el Cuadro 4. Además, se corrieron las muestras en cromatógrafo de gases (Figura 2). En ambas muestras se observaron diversos ácidos grasos mayoritarios, entre ellos metil tetradecanoato (12 min), metil palmitato (C16:0; 14-15 min) y metil oleato (C18:1; 18 min), como se muestra en la Figura 2. También se observó un pico a los 29 min que corresponde a EPA. En el caso del cultivo mixotrófico, se obtuvo 31.22 ± 3.67 mg EPA L⁻¹ de cultivo, mientras que el cultivo autotrófico presentó 8.31 ± 0.08 mg EPA L⁻¹ de cultivo (Cuadro 4). Esto puede deberse a que el glicerol, además de estimular el crecimiento, en exceso puede redirigir el metabolismo hacia la producción de ácidos grasos (Cerón-García et al., 2013). Rehmanji et al. (2022) demostraron que, en condiciones mixotróficas, el glicerol aumenta la producción de EPA hasta 27 mg/L. Asimismo, Cerón García et al. (2005) observaron que la adición de glicerol (0.1 M) aumentó la productividad de EPA de 3.35 mg L⁻¹ día⁻¹ a 8.56 mg L⁻¹ día⁻¹. Por lo tanto, para producir un suplemento, se podría proponer extraer fucoxantina en condiciones autotróficas, mientras que el EPA se podría obtener en condiciones mixotróficas.

Cuadro 4. Comparación de la biomasa, contenido lipídico y producción de EPA de *P. tricornutum* en cultivos autotróficos y mixotróficos.

Parámetro	Autotrofia	Mixotrofia
Biomasa (g L ⁻¹)	0.94 ± 0.05b	1.55 ± 0.11a
Lípidos (g L ⁻¹)	0.44 ± 0.04b	0.59 ± 0.04a
EPA (mg L ⁻¹)	8.31 ± 0.08b	31.22 ± 3.67a

Los resultados se presentan como media ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a Tukey ($p < 0.05$).

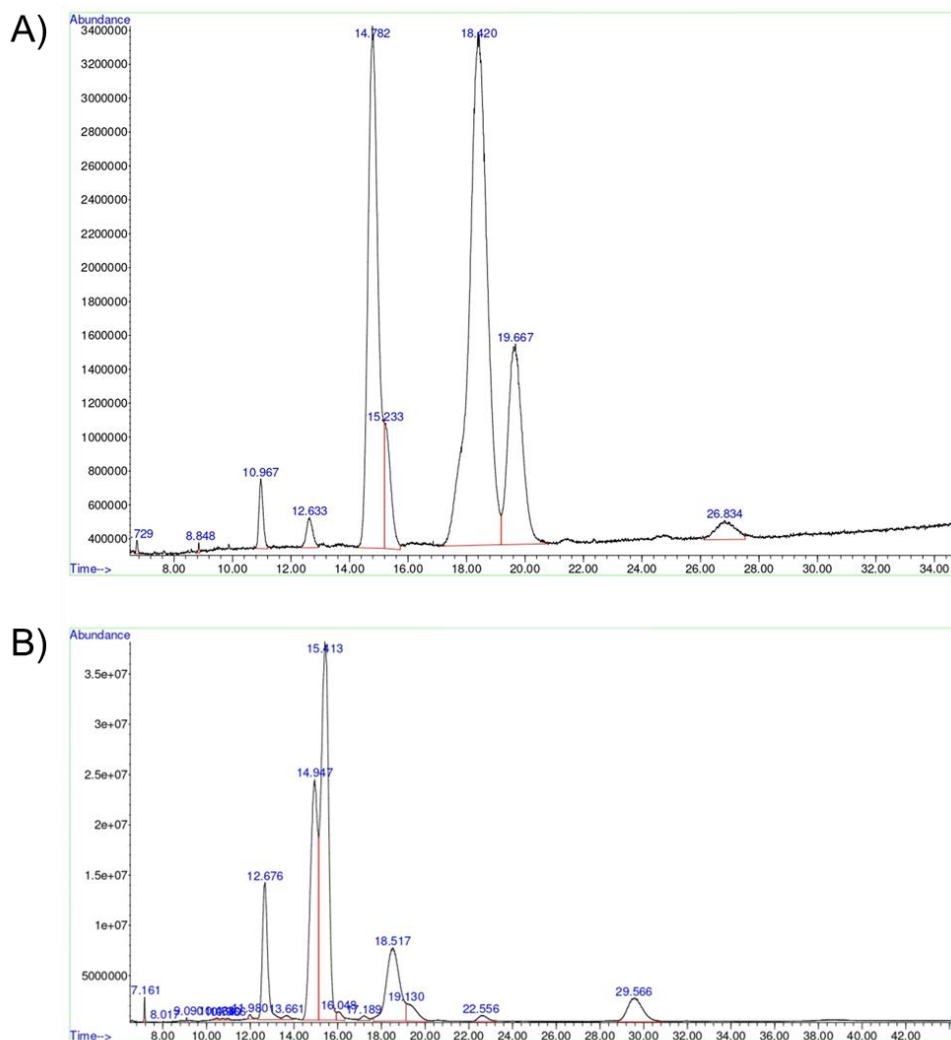


Figura 2. Cromatogramas del perfil lipídico de *P. tricornutum*. A) cultivo autotrófico, B) cultivo mixotrófico.

Se realizó un análisis de acoplamiento molecular (Figura 3) utilizando como proteína blanco el receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR α). Se evaluó la interacción entre dos compuestos derivados de *P. tricornutum*: EPA y fucoxantíol. En ambos casos, los ligandos se localizaron en el sitio de unión al receptor, lo

que sugiere una afinidad potencial por el receptor PPAR α . Cabe destacar que no se incluyó un agonista de referencia como control positivo, ya que el estudio no tuvo como finalidad validar el protocolo de docking, sino estimar comparativamente la afinidad de unión y la ocupación teórica del receptor.

En comparación con el EPA, el fucoxantínol interactúa con un conjunto más diverso de aminoácidos, lo que sugiere una unión más específica y potencialmente más estable en el sitio activo de PPAR α , lo cual se refleja en un Kd de 6.3 μ M para el EPA y de 1.6 μ M para el fucoxantínol. El Kd representa la afinidad del ligando por la proteína, donde valores más bajos indican una mayor estabilidad del complejo proteína-ligando. A pesar de la diferencia entre ambos compuestos, ambos muestran afinidad en el rango micromolar.

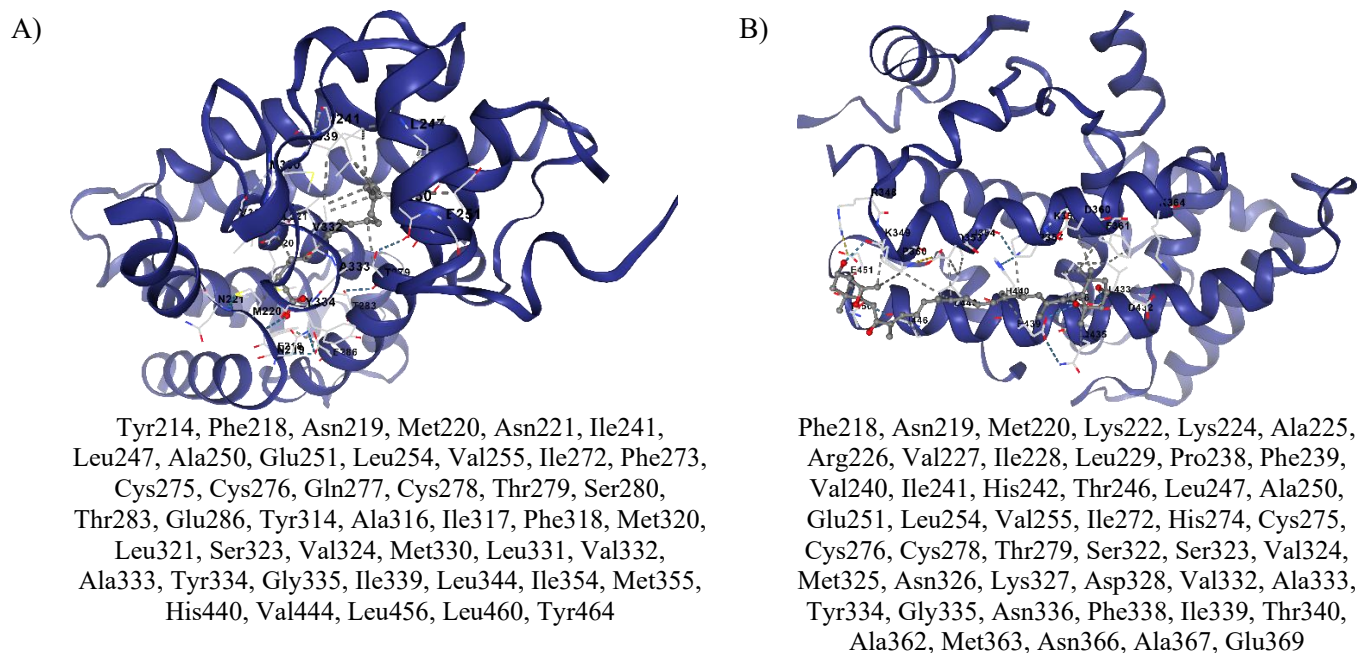


Figura 3. Interacción molecular entre el receptor PPAR α y los ligandos A) EPA y B) fucoxantínol (derecha) obtenida mediante docking molecular. Los residuos aminoácidos con los que interactúan se muestran en la parte inferior de la figura.

Se realizó un diseño experimental de dos factores utilizando Minitab®, considerando como variables independientes la dosis diaria de EPA (100-2000 mg/día) y la dosis diaria de fucoxantínol (2-40 mg/día). Se incluyeron múltiples niveles intermedios de ambas variables para evaluar su efecto combinado sobre la interacción con el receptor PPAR α mediante un modelo de superficie de respuesta. A partir de las constantes de disociación (Kd) obtenidas mediante docking molecular, se estimó la fracción de ocupación del receptor PPAR α considerando la contribución conjunta de EPA y fucoxantínol en función de sus concentraciones y sus respectivos valores de Kd (Figura 4). Cabe destacar que el presente estudio evaluó únicamente la afinidad de unión y la ocupación teórica del sitio de unión de PPAR α mediante acoplamiento molecular. En consecuencia, los resultados no permiten determinar si EPA y fucoxantínol actúan como agonistas completos, parciales o moduladores del receptor, ni establecer los cambios conformacionales en el dominio de PPAR α . Para determinar dichos mecanismos, se requieren estudios adicionales que quedan fuera del alcance de este trabajo.

Se obtuvo el siguiente modelo matemático

$$f_{total} = 1.0 + 1.6 \times 10^{-5}(A) + 6.9 \times 10^{-5}(B) - 4 \times 10^{-8}(A \times B) - 5.2 \times 10^{-9}(A)^2 - 1.7 \times 10^{-7}(B)^2$$

Donde A corresponde a EPA y B a fucoxantanol. Se obtuvo una R^2 de 82%

Es importante aclarar que, el modelo matemático describe el comportamiento únicamente dentro de los intervalos de dosis evaluados y constituye la base para la construcción de la superficie de respuesta mostrada en la Figura 4. En consecuencia, la ecuación no debe extrapolarse fuera de dichos rangos.

Tomando en cuenta la aclaración anterior y considerando únicamente los rangos evaluados, el punto máximo se obtuvo con 1385 mg/día de EPA y 32 mg/día de fucoxantanol, que maximiza la ocupación teórica del receptor $PPAR\alpha$. Sin embargo, se observa un comportamiento de saturación, en el que incrementos adicionales de la concentración de los compuestos producen cambios cada vez menores en la respuesta.

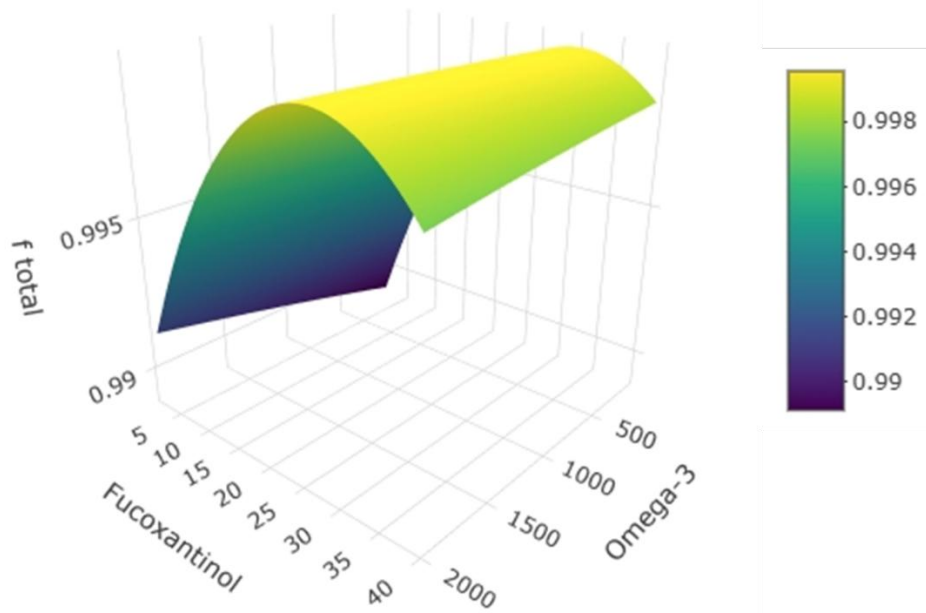


Figura 4. Superficie de respuesta (RSM) que muestra el efecto combinado de EPA y fucoxantanol sobre la función de ocupación del receptor $PPAR\alpha$ (f total).

Es importante señalar que el modelo propuesto se fundamenta en parámetros obtenidos mediante acoplamiento molecular y en una estimación basada en la ocupación teórica del receptor. En consecuencia, no considera procesos farmacocinéticos como la absorción, la distribución, el metabolismo, la excreción o la biodisponibilidad diferencial de EPA y fucoxantanol, ni la conversión intestinal de la fucoxantina a fucoxantanol. Por ello, la combinación óptima predicha corresponde a una estimación basada en un modelo matemático dentro de las condiciones evaluadas y requiere validación mediante estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* antes de considerarse una recomendación biológica o clínica.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que *Phaeodactylum tricornutum* es una fuente relevante de compuestos bioactivos, como el EPA y los carotenoides, cuya producción depende de las condiciones de cultivo. Asimismo, el análisis *in silico* mostró que tanto el EPA como el fucoxantanol presentan afinidad de unión a $PPAR\alpha$, destacando este último por su mayor capacidad de interacción. La integración de estos datos mediante un modelo de superficie

de respuesta permitió identificar una combinación que maximiza la ocupación teórica del receptor dentro del rango evaluado y constituye una predicción matemática derivada del modelo computacional, con comportamiento no lineal y efecto de saturación. En este sentido, futuros estudios podrían enfocarse en evaluar experimentalmente la activación de PPAR α mediante ensayos *in vivo* e *in vitro*, aplicando técnicas como RT-qPCR y Western blot, con el fin de determinar si la interacción predicha se traduce en cambios en vías relacionadas con el metabolismo lipídico y la homeostasis energética.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdoul-Latif, F. M., Ainane, A., Houmed Aboubaker, I., Merito Ali, A., Mohamed, H., Jutur, P. P., & Ainane, T. (2024). Unlocking the green gold: Exploring the cancer treatment and the other therapeutic potential of fucoxanthin derivatives from microalgae. *Pharmaceuticals*, 17(7), 960. <https://doi.org/10.3390/ph17070960>
- Abreu, A. P., Morais, R. C., Teixeira, J. A., & Nunes, J. (2022). A comparison between microalgal autotrophic growth and metabolite accumulation with heterotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic cultivation modes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 159, 112247. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112247>
- Ahmadi, A. R., Shirani, F., Abiri, B., Siavash, M., Haghighi, S., & Akbari, M. (2023). Impact of omega-3 fatty acids supplementation on the gene expression of peroxisome proliferator activated receptors- γ , α and fibroblast growth factor-21 serum levels in patients with various presentation of metabolic conditions: A GRADE assessed systematic review and dose–response meta-analysis of clinical trials. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1202688>
- Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., El-Sabrou, K., Alqaisi, O., Dawood, M. A. O., Soomro, H., & Abdelnour, S. A. (2022). Nutritional significance and health benefits of omega-3, -6 and -9 fatty acids in animals. *Animal Biotechnology*, 33(7), 1678–1690. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1869562>
- Breil, C., Abert Vian, M., Zemb, T., Kunz, W., & Chemat, F. (2017). “Bligh and Dyer” and Folch methods for solid–liquid–liquid extraction of lipids from microorganisms. Comprehension of solvation mechanisms and towards substitution with alternative solvents. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 708. <https://doi.org/10.3390/ijms18040708>
- Cerón García, M. C., Sánchez Mirón, A., Fernández Sevilla, J. M., Molina Grima, E., & García Camacho, F. (2005). Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Process Biochemistry*, 40(1), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.016>
- Cerón-García, M. C., Fernández-Sevilla, J. M., Sánchez-Mirón, A., García-Camacho, F., Contreras-Gómez, A., & Molina-Grima, E. (2013). Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on fructose and glycerol in fed-batch and semi-continuous modes. *Bioresource Technology*, 147, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.092>
- Farsi, P. F., Djazayery, A., Eshraghian, M. R., Koohdani, F., Saboor-Yaraghi, A. A., Derakhshanian, H., Zarei, M., Javanbakht, M. H., & Djalali, M. (2014). Effects of supplementation with omega-3 on insulin sensitivity and non-esterified free fatty acid (NEFA) in type 2 diabetic patients. *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia*, 58(4), 335–340. <https://doi.org/10.1590/0004-2730000002861>
- Guan, B., Chen, K., Tong, Z., Chen, L., Chen, Q., & Su, J. (2022). Advances in Fucoxanthin Research for the Prevention and Treatment of Inflammation-Related Diseases. *Nutrients*, 14(22), 4768. <https://doi.org/10.3390/nul4224768>

- Guillard, R. R. L. (1975). Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. In W. L. Smith & M. H. Chanley (Eds), *Culture of Marine Invertebrate Animals: Proceedings—1st Conference on Culture of Marine Invertebrate Animals Greenport* (pp. 29–60). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3
- Guillard, R. R. L., & Ryther, J. H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms: I. *cyclotella nana* hustedt, and *detonula confervacea* (cleve) gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2), 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
- Kapoor, B., Kapoor, D., Gautam, S., Singh, R., & Bhardwaj, S. (2021). Dietary polyunsaturated fatty Acids (PUFAs): Uses and potential health benefits. *Current Nutrition Reports*, 10(3), 232–242. <https://doi.org/10.1007/s13668-021-00363-3>
- Kim, J., Fabris, M., Baart, G., Kim, M. K., Goossens, A., Vyverman, W., Falkowski, P. G., & Lun, D. S. (2016). Flux balance analysis of primary metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *The Plant Journal*, 85(1), 161–176. <https://doi.org/10.1111/tpj.13081>
- Patted, P. G., Masareddy, R. S., Patil, A. S., Kanabargi, R. R., & Bhat, C. T. (2024). Omega-3 fatty acids: A comprehensive scientific review of their sources, functions and health benefits. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 94. <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00667-5>
- Rehmanji, M., Nesamma, A. A., Khan, N. J., Fatma, T., & Jutur, P. P. (2022). Media engineering in marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* employing cost-effective substrates for sustainable production of high-value renewables. *Biotechnology Journal*, 17(10), e2100684. <https://doi.org/10.1002/biot.202100684>
- Ritchie, R. J., Sma-Air, S., & Dumme, V. (2022). DMSO formula for chlorophyll determination in dinoflagellates (Chl a + c2). *Journal of Applied Phycology*, 34(1), 335–341. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02615-9>
- Sayuti, N. H., Muhammad Nawawi, K. N., Goon, J. A., Mokhtar, N. M., Makpol, S., & Tan, J. K. (2023). A Review of the Effects of Fucoxanthin on NAFLD. *Nutrients*, 15(8), 1954. <https://doi.org/10.3390/nu15081954>
- Soares, A. T., Da Costa, D. C., Vieira, A. A. H., & Antoniosi Filho, N. R. (2019). Analysis of major carotenoids and fatty acid composition of freshwater microalgae. *Heliyon*, 5(4), e01529. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01529>
- Songaila, E., Augulis, R., Gelzinis, A., Butkus, V., Gall, A., Büchel, C., Robert, B., Zigmantas, D., Abramavicius, D., & Valkunas, L. (2013). Ultrafast Energy Transfer from Chlorophyll c2 to Chlorophyll a in Fucoxanthin–Chlorophyll Protein Complex. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 4(21), 3590–3595. <https://doi.org/10.1021/jz401919k>
- Sprecher, B. N., Buck, J. M., Ropella, L. L., Ramsperger, A., Kroth, P. G., & Yamada, N. (2023). Genetic transformation methods for diatom *Nitzschia captiva*: New tools to better understand dinotom endosymbiosis. *Algal Research*, 72, 103136. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103136>
- Zakaria, M. F., Mat Zaidi, F. N. A., Ahmad Kamal, A. H., Aleng, N. A., Abd Wahid, M. E., Katayama, T., & Jusoh, M. (2025). PUFA from microalgae: Challenges, factors affecting high production and industrial application. *Aquaculture and Fisheries*, 11. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2025.01.004>