



BIOGUIADO: UNA NUEVA HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA PARA OBTENER INGREDIENTES ACTIVOS NATURALES ORIGINALES

Utilizados como materias primas naturales, estos microorganismos ofrecen un inmenso potencial derivado de su diversidad y metabolismo, que permite acceder a moléculas únicas para aplicaciones cosméticas.

L. VERZEAUX, S. MAZALREY, C. GRIMALDI, C. SOULIÉ, E. AYMARD, H. MUCHICO, B. CLOSS, de SILAB para Tecal Química .

La biotecnología ofrece una alternativa sostenible y segura ante la escasez de recursos naturales para preservar la biodiversidad. Fuente inagotable de moléculas de alto valor añadido, estas fábricas celulares microscópicas combinadas con técnicas de bioguiado abren un nuevo campo de posibilidades para el cuidado de la piel.

En el estudio llevado a cabo por SILAB, que se muestra a continuación, se detallan tres ejemplos sobre el bioguiado de bacterias o levaduras para producir ingredientes activos originales dedicados al cuidado de pieles deshidratadas, con carencias o con defectos de pigmentación.

Para el mismo, un cultivo de *L. arizonensis*, una bacteria procedente de la jojoba, ha sido bioguiado para producir polioles cíclicos que refuerzan la integridad de la barrera cutánea y activan la renovación epidérmica, preservando al mismo tiempo la microbiota de la piel seca. Otra bacteria, *Sphingomonas panaciterrae*, ha sido selectivamente aislada de las raíces del ginseng y bioguiada para producir exopolisacáridos que proporcionan un "capital de vitalidad" increíble para las pieles con carencias. Para las pieles con

defectos de pigmentación, el bioguiado de *Ogataea siamensis* ha permitido un enriquecimiento en moléculas de azufre, que consiguen atenuar la aparición de manchas, mejorar la uniformidad de la tez y reavivar la luminosidad del cutis para un efecto despigmentante global.

1. Bioguiado de *Lactobacillus (L.) arizonensis* para producir polioles cíclicos hidratantes

Con el fin de mejorar las condiciones de la piel seca, una tipología de piel muy presente en la población actual, se optó por trabajar con *L. arizonensis*, una cepa probiótica procedente de la jojoba, conocida por su capacidad de adaptarse a condiciones de sequedad extrema.

Para su estudio, se reprodujo el entorno natural de esta bacteria añadiendo jojoba al medio de cultivo para mimetizar la asociación existente entre esta bacteria y su sustrato e incitarla a producir los metabolitos necesarios para su supervivencia y adaptación. En comparación con un cultivo

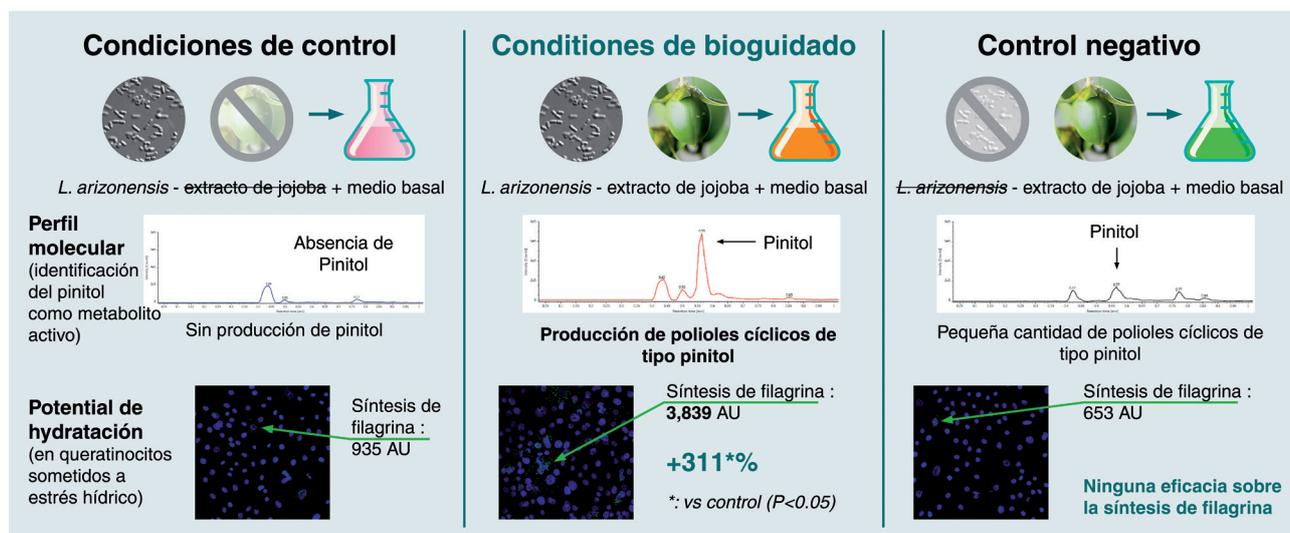


Figura 1. Importancia del sustrato natural para producir la molécula de interés.

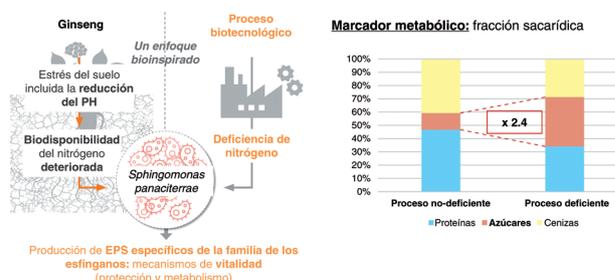
de *L. arizonensis* sin jojoba añadida o con el extracto de jojoba por sí solo, el bioguidado de *L. arizonensis* indujo la bioconversión de la jojoba en un postbiótico rico en polioles cíclicas (Figura 1).

A continuación, se aplicó un proceso patentado al sobrenadante, producido a escala industrial, para purificar las moléculas activas de interés. Este postbiótico, que tiene una eficacia sobre la calidad de la piel seca, reforzó la integridad de la barrera cutánea (filagrina: +98**%, claudina-4: +97**%, desmogleína-1: +163**% y pérdida de agua: -71**%, con **: P<0,01) mientras preservaba el equilibrio de la microbiota cutánea.

2. Bioguidado de *Sphingomonas panaciterrae* para producir esfinganos

Para restaurar la vitalidad de las pieles con carencias nutricionales y fisiológicas, en primer lugar, se diseñó un estudio para establecer su mapa genético. La "firma de vitalidad" de las pieles con carencias se manifiesta en una degradación del metabolismo (metabolismo celular y crecimiento; metabolismo del ADN y las proteínas; transportadores de glucosa y osmolitos) y de los mecanismos de protección (transportadores y canales; daño y reparación del ADN; supervivencia celular; proteínas chaperonas; estrés oxidativo y osmótico).

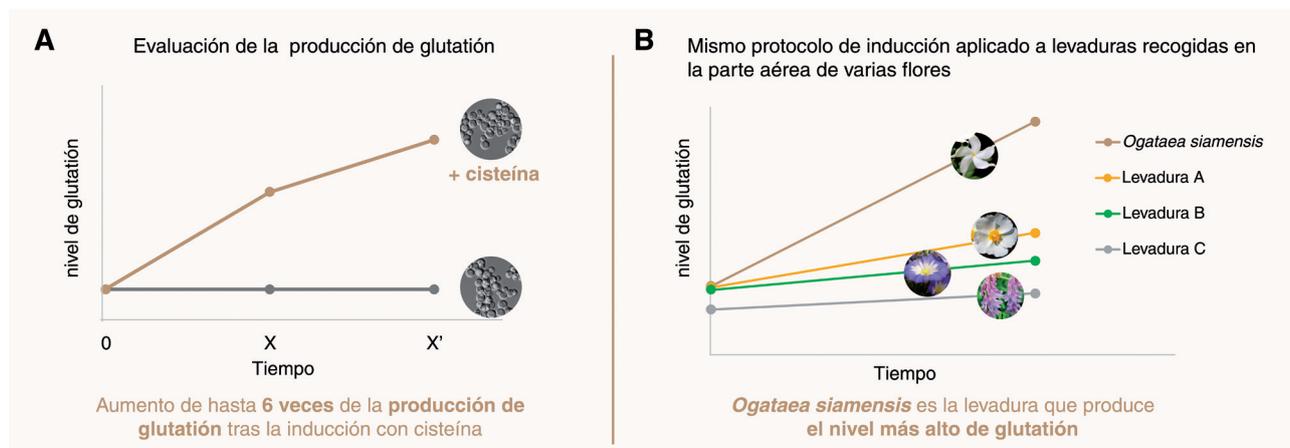
Se seleccionó *Sphingomonas panaciterrae*, una bacteria presente en la rizosfera del ginseng, por sus propiedades bioprotectoras y bioestimulantes hacia su huésped. De hecho, se sabe que el ginseng es responsable de crear una gran cantidad de modificaciones y deficiencias



Materia prima	<i>Sphingomonas panaciterrae</i>	<i>Sphingomonas kyeonggiensis</i>	<i>Sphingomonas pruni</i>
Proceso biotecnológico bioinspirado	← Cultivo deficiente en nitrógeno →		
Fracción de polisacáridos	34%	8%	10%
Proceso de ingeniería enzimática desarrollado para REVILIENCE®	Hidrólisis de proteínas (proteasa) Hidrólisis de esfinganos (carbohidrasa) Separación molecular		
Fracción de oligosacáridos	Oligosfinganos 2.7 - 4.5 kDa	Oligosfinganos < 2.7 kDa	Oligosfinganos < 2.7 kDa
Eficacia (gen de vitalidad cutánea)	✓	✗	✗

Figura 2. A. Proceso de bioguidado desarrollado para la obtención de esfinganos. B. Exclusividad de la cepa que mejora la vitalidad cutánea.

en su entorno, afectando negativamente a la disponibilidad de nutrientes. Para sobrevivir en este entorno hostil, *Sphingomonas panaciterrae* pone en marcha mecanismos de protección, en particular la producción de EPS de la familia de los esfinganos, una propiedad que se decidió utilizar de manera beneficiosa. Para reproducir la deficiencia nutricional causada por el ginseng en esta bacteria, se desarrolló un proceso innovador bioinspirado, mimetizando una escasez de nitrógeno mediante la reducción de glutamato en el medio (Figura 2A). La modificación del metabolismo bacteriano hacia la producción de EPS



se determinó monitorizando los niveles de azúcares en el medio de cultivo. Este proceso de escasez bioguiado condujo a un aumento de 2,4 veces la producción de estos compuestos.

Después de esto, se desarrolló un proceso de extracción enzimática para enriquecer en oligoesfinganos el ingrediente activo. Tras la utilización de una proteasa para hacer accesibles las estructuras azucaradas de interés, la acción de una carbohidrasa permitió obtener una fracción de oligoesfinganos con pesos moleculares comprendidos entre 2,7 y 4,5 kDa.

La exclusividad de este procedimiento también se validó mediante el estudio de otras dos bacterias del género *Sphingomonas*, obtenidas de las raíces del ginseng (*S. kyeonggiensis*) o del melocotonero (*S. pruni*). Cuando se aplicó el mismo proceso a estas dos cepas, no se pudo obtener la fracción de azúcares responsable de la eficacia del principio activo natural (Figura 2B). Este estudio comparativo validó, por tanto, la elección de *Sphingomonas panaciterrae* como productor de oligoesfinganos de interés para la vitalidad cutánea.

Al reactivar las vías biológicas de las pieles con carencias, el principio activo natural obtenido, restablece la "firma de vitalidad" de la piel. De este modo, se estimula el metabolismo celular y se refuerza la calidad de la barrera cutánea. Testado en voluntarios caucásicos jóvenes y de edad más avanzada, el ingrediente activo mejora la luminosidad de la tez (+13.2**% con **: P<0.01, en voluntarios de edad más avanzada) y mejora la hidratación (+26% con **: P<0,01, en voluntarios de edad más avanzada) a partir de los 7 días de aplicación.

3. Bioguiado de *Ogataea siamensis* para producir péptidos que contienen azufre

Persiguiendo el objetivo de estimular la producción de moléculas azufradas con potencial despigmentante, se

Figura 3. A. Importancia de la inducción con cisteína. B. Importancia del microorganismo.

identificó *Ogataea siamensis*. Esta levadura es capaz de metabolizar los escasos nutrientes presentes en las partes aéreas de su planta huésped gracias a la producción de moléculas que contienen azufre.

Para potenciar esta propiedad intrínseca, la empresa desarrolló un proceso de bioguiado mediante la adición de cisteína, un aminoácido con un átomo de azufre, precursor indispensable para producir moléculas azufradas. Este procedimiento de ingeniería metabólica requirió definir varios parámetros, entre ellos la dosis de inductor y el momento y la duración de la inducción. La producción de péptidos de interés que contienen azufre se controló a través de la cuantificación del glutatión, un metabolito marcador.

El proceso de bioguiado aplicado a *Ogataea siamensis* aumenta 6 veces la producción de glutatión en comparación con el proceso original. Además, *Ogataea siamensis* es la levadura que produce el mayor nivel de glutatión en comparación con otras levaduras recogidas en la parte aérea de distintas flores sometidas al mismo protocolo de inducción (Figura 3).

Este proceso selectivo se complementó con una extracción enzimática, hidrolizando la pared celular de la levadura para liberar los péptidos de interés que contienen azufre. El ingrediente activo natural resultante, compuesto por péptidos azufrados, tiene la capacidad de limitar la producción de melanina de los melanocitos caucásicos (actividad de la tirosinasa: -88**%; síntesis de melanina: -90**%, con **: P<0.01) y los melanocitos asiáticos (actividad de la tirosinasa: -21%; síntesis de melanina: -24**%, con **: P<0,01). La aparición de manchas se atenuó, la uniformidad de la tez mejoró y se reactivó la luminosidad del cutis para un efecto despigmentante global.