

03067



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL
Y DE POSGRADO

PROYECTO ACADÉMICO DE ESPECIALIZACIÓN, MAESTRÍA Y
DOCTORADO EN CIENCIAS DEL MAR

4
2ej.

ESTUDIO QUÍMICO-BIOLÓGICO DE LA ESPONJA MARINA
Xestospongia subtriangularis (Duchassaing 1850)

265381

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR
(Oceanografía Biológica y Pesquera)

P R E S E N T A
LAURA ELENA VÁZQUEZ MALDONADO



UNAM-CCH

MÉXICO, D.F.
SEPTIEMBRE, 1998



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LA PRESENTE TESIS

“ ESTUDIO QUÍMICO-BIOLÓGICO DE LA ESPONJA MARINA
Xestospongia subtriangularis”

SE REALIZÓ EN EL INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM,
BAJO LA DIRECCIÓN CONJUNTA DE:

DR. FRANCISCO CRUZ SOSA
(UAM-IZTAPALAPA)

y

DR. LEOVIGILDO QUIJANO
(INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM)

JUNTO CON EL APOYO DE LAS SIGUIENTES INSTITUCIONES:

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM
UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA Y PROTOTIPOS, UNAM Campus-Iztacala
LABORATORIO DE ZOOLOGÍA, UNAM campus-Iztacala
LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA, UADY
LABORATORIO DE FITOQUÍMICA, UAM-Iztapalapa

Y LA ASESORÍA DEL COMITÉ TUTORAL:

Dr. Francisco Cruz Sosa
Dr. Tirso Rios Castillo
Dr. Francisco Peña

FINANCIADA PARCIALMENTE CON DIVERSAS BECAS:
CONACyT, SNI, IQ-UNAM y la ACADEMIA
LATINOAMERICANA DE FITOQUÍMICA

Y CON LOS PERMISOS DE RECOLECTA DE MATERIAL PORÍFERO
No. 2260 Y 1797 OTORGADOS POR EL INSTITUTO NACIONAL DE
ECOLOGÍA (1995) Y SEMARNAP (1996) RESPECTIVAMENTE

DEDICATORIAS

A Alberto, mi compañero, porque me impulsas a ser siempre mejor, porque me das tu apoyo y porque llenas de amor y alegría mi nueva vida...

GRACIAS

A mis padres, Laura y Arturo, por estar siempre a mi lado en todas mis decisiones, por enseñarme a ser crítica y a valorar todo esfuerzo y persona por lo que es...y por forjar en mí el carácter necesario para alcanzar mis metas...

Los quiero !!!

A mis hermanos, Morelos y Emiliano, y a sus esposas, Perla Margarita y Bertha, así como a mis sobrinos Perla Andrea y Omar Ariely, por su cariño y por hacer que esta nuestra familia sea maravillosa

A mis padrinos, Hilda y Abraham, a mis tíos Lucrecia y Gabriel, a la Familia Delgado Estrella, a mis amigos y a todos aquellas personas que en algún momento de mi vida me han ayudado y apoyado tanto en las buenas como en las malas.

AGRADECIMIENTOS

Siempre que una persona obtiene el grado académico al que aspira, viene una serie de felicitaciones (de las personas más allegadas a uno), las cuales aunque son muy merecidas, es importante reconocer que el trabajo en su conjunto no se hizo por sí sólo. Así...es indudable que la realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda y asesoría de cada una de las personas que se mencionan a continuación, cada una especialista en su campo y que de alguna y otra manera invirtieron parte de su tiempo para enriquecer esta tesis.

Al tener este espacio fuera de todo contexto académico y profesional, quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Leovigildo Quijano por permitirme ser una más de sus alumnas en esta odisea del conocimiento, así como, el otorgarme su amistad incondicional, claro está...incluyendo la serie de aventones al metro y a la casa, durante el desarrollo de este trabajo esperando que esta relación sea para siempre.

De igual modo, agradezco al Dr. Tirso Rios por sus enseñanzas y su confianza en todos los sentidos, que permiten a uno como persona desarrollarse plenamente, por lo que suscita que día a día uno se proponga metas en la vida. Este agradecimiento incluye también, todos esos momentos fuera del laboratorio que quedan incluidos en la materia de "educación Integral", la cual lamentablemente.....(pensándolo bien...) afortunadamente NO LOGRÉ pasar, durante todo este tiempo desde que ingresé al posgrado.

Ahora sí, pasando a cuestiones más serias....

Agradezco a los miembros del Comité Tutorial, así como a los miembros del Jurado de Examen, Dres. Francisco Cruz Sosa, Leovigildo Quijano, Tirso Rios Castillo, Francisco Peña y a la Dra. Elva Escobar; quienes dedicaron su tiempo "afortunadamente" en la asesoría de este trabajo, así como en la revisión y/o revisiones del escrito tanto parcial como final.

A las autoridades y personal del Instituto de Química, UNAM, donde se desarrolló casi en su totalidad, este trabajo; en particular al Director del instituto el Dr. Francisco Lara Ochoa; al personal de los laboratorios de espectroscopia y espectrometría: Q.F.B. Rocío Patiño, Pas. De M. en C. Wilber Matus, M. en C. Ma. Isabel Chávez, M. en C. Fco. Javier Pérez y al Ing. Luis Velasco Ibarra y al personal de la Biblioteca: Srita. Catalina Vélez y a la Lic. Cecilia Aguilar.

A las autoridades y al personal del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, en especial al Director del instituto, Dr. Antonio Peña; a la Biól. Patricia Gómez, por su asesoría en la identificación de la especie así como, de las facilidades en la utilización de la colección de poríferos a su cargo, además de su amistad y consejos tanto para la recolecta como para la presentación de los ejemplares y a la M. en C. Yolanda Hornelas por la toma de fotografías al MEB.

Agradezco también a los M. en C. Alberto Delgado y Joel Ortega, por su desinteresada ayuda en la recolección de esponjas y de información de campo. Así como, al M. en C. Guillermo Horta y al Biól. José Luis Tello del Laboratorio de

Zoología, UNAM Campus-Iztacala por su apoyo logístico y taxonómico de la flora y fauna asociada a la esponja durante la primera salida de campo.

Al M.V.Z. Andrés Martínez Cortés y al M. en C. Guillermo Ávila del Laboratorio de Fitoquímica, UBIPRO, UNAM Campus-Iztacala, por su asesoría y realización de los bioensayos de actividad antimicrobiana de los extractos y/o fracciones obtenidas de la esponja.

A la Biól. Bernice Guerrero y al Dr. Guillermo Delgado del Instituto de Química, UNAM; así como al Dr. Toshio Honda del Inst. de Química Medicinal de la Univ. de Hoshi, Japón, quienes proporcionaron gentilmente, muestras del β -sitosterol y petrosterol sintetizado, respectivamente.

Agradezco también al Q.F.B. José M. Marrufo del Laboratorio de Química Orgánica, UADY, por la realización de los espectros de CG/EM de manera comparativa.

Al Dr. Alain Milon del Lab. Fundamental de Farmacología y Toxicología del Centro de Neurociencias, Francia, por sus comentarios sobre la estereoquímica de los esteroides. Al Dr. Alfredo Ortega y Roberto Arreguín, al M. en C. Guillermo Ávila y Alberto Delgado, al Lic. Arturo Vásquez y a la Sra. Laura Maldonado por sus comentarios y sugerencias al escrito correspondiente.

A las instituciones que financiaron mis estudios de posgrado y la realización de este trabajo: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Sistema Nacional de Investigadores, Instituto de Química, Academia Latinoamericana de Fitoquímica y al Proyecto Académico Especialización, Maestría y Doctorado en Ciencias del Mar.

Deseo finalmente agradecer, a todos los compañeros y amigos que hicieron más gratos tanto los estudios como las labores de ésta tesis: Rosa Elena Escatel, Carmen Bazúa, Alberto Delgado, Joel Ortega, Carmen Espinoza, Iván Hernández, Lucía Cruz, Leticia García, Mauricio Chávez, Luis Cortés, Ricardo Pérez, Miriam Piña, Minarda de la O, Eda Bastón, Virginia Pérez y Claudia Cueto.

Y... por supuesto... NO PODRÍA FALTAR !

A la esponja *Xestospongia subtriangularis* por ser la protagonista de este trabajo.....

RESUMEN

Son muy pocos los estudios del Phylum Porifera en México, en cualquier área de investigación. *Xestospongia subtriangularis* es una esponja endémica del Atlántico Tropical Oeste, y éste es el primer registro de la especie en el arrecife Isla Verde, Veracruz, México. La redescrición de la especie permitió confirmar inequívocamente la identidad de la misma. Este trabajo representa el primer estudio químico de la especie; los resultados obtenidos permiten establecer la existencia de diferencias en la composición química tanto de carácter cualitativo como cuantitativo, entre el material recolectado en junio de 1995 (primera recolecta) y en junio de 1996 (segunda recolecta); además estas diferencias son acentuadas dependiendo del método de extracción (húmedo vs. seco) y la eficiencia del mismo.

De la esponja procesada húmeda (extracción con MeOH) se aislaron hidrocarburos, ésteres metílicos de ácidos grasos, ácidos grasos y esteroides (clionasterol, 7-oxoclonasterol, 7a y 7b-hidroxiclonasterol); en tanto, que de la esponja seca, se aislaron hidrocarburos, ésteres de esteroides con ácidos grasos, ácidos grasos y esteroides (1a. recolecta: petrosterol, 7-oxopetrosterol, 7a- y 7b-hidroxipetrosterol; 2a. recolecta: clionasterol y 7-oxoclonasterol). Las estructuras de los compuestos aislados, así como de algunos derivados, se estableció de acuerdo al análisis de sus espectros en el IR, RMN ^1H y ^{13}C , EM-IE, CG/EM, entre otras. Las estructuras que presentaron mayor dificultad fueron las del clionasterol (vs. β -sitosterol) y la del petrosterol (posición del ciclopropano en la cadena lateral). Tanto los 7-oxoesteroides como los 7-hidroxiesteroides resultaron ser "artefactos" provenientes de la oxidación de los esteroides mayoritarios (clionasterol y petrosterol); de los cuales, los derivados del petrosterol son nuevos compuestos dentro de la química orgánica.

Se registra por primera vez la asignación completa de RMN ^1H y ^{13}C para el petrosterol, 7-oxopetrosterol, 7a- y 7b-hidroxipetrosterol y el acetato del 7-oxoclonasterol y de RMN ^1H para el clionasterol, 7a- y 7b-hidroxiclonasterol. Siendo también, este el primer registro del clionasterol y del petrosterol como componentes mayoritarios en el Género *Xestospongia*.

Se desarrolló una serie de bioensayos de actividad antimicrobiana, los cuales resultaron negativos para todos los extractos y/o fracciones obtenidas, así como, para el clionasterol. Sin embargo, esto no quiere decir que no existan compuestos en éstos que posean alguna actividad biológica y/o farmacológica de interés.

ABSTRACT

In Mexico there are few information about Phylum Porifera. The marine sponge, *Xestospongia subtriangularis* is an endemic species of the Tropical Western Atlantic. This is the first record of the species in Isla Verde Reef, Veracruz, Mexico and this is the first research about its chemical composition. Redescription of the collected material confirm the identify of the species.

Qualitative and quantitative differences in the chemical composition were found between samples collected on June, 1995 (first collect) and one year latter on June, 1996 (second collect); these differences also depending on the extraction method of the samples (fresh vs. dry samples).

Hydrocarbons, fatty acids methyl esters, fatty acids and sterols (clionasterol, 7-oxoclionasterol, 7a- y 7b-hydroxycionasterol) were isolated from the fresh sponge. Hydrocarbons, fatty acids sterols esters, fatty acids and sterols (petrosterol, 7-oxopetrosterol, 7a- y 7b-hydroxypetrosterol - 1st collect; clionasterol and 7-oxoclionasterol - 2nd collect) were isolated from the dry sponge. The structure of the isolated compounds (including some derivatives) were established based on spectroscopic methods (IR, NMR ¹H and ¹³C, EI, GC/MS and others). The major difficulties were on the elucidation of clionasterol (vs. β -sitosterol) and petrosterol (cyclopropane in the side chain) structures. Both of 7-oxosterols and 7-hydroxysterols were "artefacts" due to the auto-oxidation of the mayor sterols (clionasterol and petrosterol). Petrosterol's derivatives are new compounds into the organic chemistry. This is the first record of clionasterol and petrosterol as mayor compounds in the *Xestospongia* genera.

All extracts, fractions and pure clionasterol were submitted to antimicrobial bioassays, however all were inactive. Although we should not discard the possibility that these could have some biological and pharmacological activity.

ESTUDIO QUÍMICO-BIOLÓGICO DE LA ESPONJA MARINA
Xestospongia subtriangularis (Duchassaing 1850)

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	a
ÍNDICE DE FIGURAS	c
LISTA DE ABREVIATURAS	d
INTRODUCCIÓN	1
GENERALIDADES	3
Phylum Porifera	3
ANTECEDENTES	8
OBJETIVOS	10
Objetivos Generales	10
Objetivos Particulares	10
ÁREA DE MUESTREO	11
MATERIAL Y MÉTODO	14
Recolecta	14
Abundancia Relativa	16
Identificación Taxonómica e Incorporación dentro de la Colección	19
Material y Equipo: determinación de propiedades físicas, cromatográficas, espectroscopia y espectrometría	19
Obtección de Extractos:	21
A. Primera recolecta	21
B. Segunda recolecta	23
Separación de los componentes químicos de la esponja y preparación de derivados:	23
A. Primera recolecta	23
B. Segunda recolecta	38
C. Actividades complementarias	45
Actividad Biológica (actividad antimicrobiana)	46

RESULTADOS	48
Sistemática	48
Identificación y Redescrición de la especie	49
Abundancia Relativa	58
Compuestos Aislados, Datos Espectroscópicos y Espectrométricos:	59
I. Hidrocarburos	59
II. Ésteres grasos de esterole	63
III. Ésteres metílicos de ácidos grasos	64
IV. Ácidos grasos	65
V. Esterole	73
Valoración Biológica (actividad antimicrobiana)	91
DISCUSIÓN	93
Grupos Químicos y Elucidación de Estructuras:	93
I. Hidrocarburos	93
II. Ésteres grasos de esterole	96
III. Ácidos grasos y sus ésteres metílicos	99
IV. Esterole	106
Actividades complementarias	123
Valoración Biológica (actividad antimicrobiana)	123
CONCLUSIONES	128
BIBLIOGRAFÍA	130
ANEXO A	i
ANEXO B	xxiii
ANEXO C	xxxvi
ANEXO D	xlviii

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. Separación por cromatografía en columna de la fracción neutra (XsN = 1.0961 g).	25
TABLA 2. Separación por cromatografía en columna de la fracción de éter de petróleo de la esponja fresca (XsFEP = 997.5 mg).	28
TABLA 3. Separación por cromatografía en columna de la fracción de éter de petróleo de la esponja fresca (XsFEP' = 10.2 g).	30
TABLA 4. Separación por cromatografía en columna de la fracción de éter de petróleo XsFEP'-J (2.058 g) obtenida de la columna primaria de la esponja fresca.	32
TABLA 5. Separación por cromatografía en columna del extracto de éter de petróleo obtenido por percolación de la esponja seca (XsSEP=1.7 g).	34
TABLA 6. Separación por recromatografía en columna de la fracción de éter de petróleo obtenida de la columna primaria de la esponja seca XsSEP-F (570.6 mg).	37
TABLA 7. Separación por cromatografía en columna de la fracción obtenida por partición de la esponja fresca (Xs2FEP = 3.454 g).	38
TABLA 8. Separación por cromatografía en columna de la fracción obtenida por percolación de la esponja seca (Xs2SEP= 7.0248 g).	41
TABLA 9. Diferentes descripciones de la especie <i>Xestospongia subtriangularis</i> (Duchassaing 1850).	55
TABLA 10. Hidrocarburos saturados e insaturados obtenidos de la fracción de éter de petróleo y extracto de éster de petróleo de la esponja <i>Xestospongia subtriangularis</i>	60
TABLA 11. Ácidos grasos y ésteres metílicos obtenidos de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> (analizados como ésteres metílicos por CG/EM).	66
TABLA 12. Estructuras de los ácidos grasos tanto saturados como insaturados obtenidos de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> .	71
TABLA 13. Resultados de los análisis por CG/EM de las mezclas de esteroides obtenidas de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> .	74
TABLA 14. Estructuras de los esteroides obtenidos de la esponja fresca y seca (<i>Xestospongia subtriangularis</i>) y sus derivados.	78
TABLA 15. Datos comparativos espectroscópicos de RMN ¹ H del clionasterol (LXXI) y β-sitosterol (LXIX).	80

TABLA 16. Datos comparativos espectroscópicos de RMN ^{13}C del clionasterol (LXXI) y β -sitosterol (LXIX).	82
TABLA 17. Datos comparativos espectroscópicos de RMN ^1H y RMN ^{13}C del petrosterol (LXXIII).	84
TABLA 18. Datos comparativos espectroscópicos de RMN ^1H del 7-oxo-clionasterol (LXXV), 7-oxositosterol y 7-oxopetrosterol (LXXVII).	85
TABLA 19. Datos comparativos espectroscópicos de RMN ^{13}C del 7-oxo-clionasterol (LXXV), 7-oxositosterol y 7-oxopetrosterol (LXXVII).	86
TABLA 20. Datos comparativos espectroscópicos de RMN ^1H del 7α - y 7β -clionasterol (LXXVIII y LXXX), 7α - y 7β -hidroxisitosterol y 7α - y 7β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII).	87
TABLA 21. Datos comparativos espectroscópicos de RMN ^{13}C del 7α - y 7β -clionasterol (LXXVIII y LXXX), 7α - y 7β -hidroxisitosterol y 7α - y 7β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII).	89
TABLA 22. Resultados de la valoración biológica (antimicrobiana) de los diferentes extractos y fracciones así como del compuesto aislado, clionasterol, obtenidos de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> .	91
TABLA 23. Contenido de ácidos grasos totales en diferentes especies del Género <i>Xestospongia</i> .	104
TABLA 24. Valores de la media y desviación estándar correspondientes a los tiempos de retención de cada uno de los componentes de las mezclas de esteroides analizados por CG/EM.	111

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. Diferentes tipos de organización del sistema acuífero en esponjas.	4
FIGURA 2. Ejemplos de estructuras reticulares.	5
FIGURA 3. Tipos de fibras.	5
FIGURA 4. Tipos de espículas: Megascleras y microscleras.	6
FIGURA 5. Algunas formas comunes en esponjas.	7
FIGURA 6. Localización geográfica del área de muestreo.	12
FIGURA 7. Localización de las zonas de recolecta de material porífero en el área de muestreo, en junio de 1995 y Junio de 1996.	15
FIGURA 8. Localización de los transectos en el área de estudio (Arrecife Isla Verde)	17
FIGURA 9. Localización de los cuadrantes en el área de estudio (Arrecife Isla Verde)	18
FIGURA 10. Análisis químico de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> primera recolecta (Junio, 1995).	22
FIGURA 11. Análisis químico de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> segunda recolecta (Junio, 1996).	24
FIGURA 12. Análisis preliminar por separación de ácidos y neutros de la fracción de éter de petróleo de la esponja fresca (XsFEP).	26
FIGURA 13. Análisis preliminar por cromatografía en columna sobre Sílica Gel de la fracción de éter de petróleo (XsFEP).	29
FIGURA 14. Análisis por cromatografía en columna sobre Sílica Gel de la fracción de éter de petróleo (XsFEP').	31
FIGURA 15. Análisis del extracto de éter de petróleo obtenido de la esponja seca de la primera recolecta.	36
FIGURA 16. Análisis del extracto de éter de petróleo obtenido de la esponja fresca de la segunda recolecta (Xs2FEP).	40
FIGURA 17. Análisis del extracto de éter de petróleo obtenido de la esponja seca de la segunda recolecta (Xs2SEP).	43
FIGURA 18. Foto subacuática de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> .	51
FIGURA 19. Espículas de la esponja marina <i>Xestospongia subtriangularis</i> : Óxeas I, Óxeas II y Strongile, tomada en el MEB.	51

LISTA DE ABREVIATURAS

- A - Acetona
A % - Área bajo la curva, dado en porcentaje
AcO - Grupo acetoxi
Ac₂O - Anhídrido acético
AcOH - Ácido acético
AcOET - Acetato de etilo
ADN - Ácido desoxirribonucleico
AgCl - Cloruro de plata
AgNO₃ - Nitrato de plata
APT - Experimento de transferencia de polarización
BuOH - Butanol o alcohol butílico
c - Señal cuadruple o cuarteto
C - Carbono
°C - Grados centígrados o Celsius
CC - Cromatografía en columna
CCF - Cromatografía en capa fina
CCl₄ - Tetracloruro de carbono
CCP - Cromatografía en placa preparativa
CCRev - Cromatografía en fase reversa C₁₈
CDCl₃ - Cloroformo deuterado
cf. - conespecífica (semejante a)
CG - Cromatografía de gases
CG/EM - Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas
-CH= - Metino o metinos
-CH₂- - Metileno o metilenos
CH₃- - Metilo o metilos
CH₃-φ - Tolueno
CHCl₃ - Cloroformo
Chl - Clorofila
CH₂N₂ - Diazometano
CL - Cadena lateral
Cl - aniones cloruro
cm - Centímetro o centímetros
cm⁻¹ - Centímetro o centímetros a la menos uno (absorción)
COOH₂ - Ácido fórmico
COSY - Experimento de correlación homonuclear ¹H-¹H bidimensional
d - Señal doble o doblete
DCM - Diclorometano
dd - Señal doble de dobles
ddc - Señal doble de doble de cuarteto
ddd - Señal doble de doble de doble
dddd - Señal doble de doble de doble de doble
DE - Desviación Estándar
DE₅₀ - Dosis efectiva media 50
DEPT - Experimento de transferencia de polarización
DPN - Diccionario de productos naturales (CD rom)
dt - Señal doble de triple
EM-IE - Espectrometría de masas por impacto electrónico
EP - Éter de petróleo
Et₂NH - Dietilamina
Et₂O - Éter etílico
EtOH - Etanol o alcohol etílico
eV - Electrovolts
F - Filtrado
FAB⁺ - Bombardeo rápido de átomos
F.M. - Fórmula molecular
g - Gramo o gramos
h - hora u horas
HCl - Ácido clorhídrico
Hept. - Heptano
Hex. - Hexano
HL-60 - Leucemia
HMBC - Experimento de correlación heteronuclear ¹H-¹³C a un enlace
HMQC - Experimento de correlación heteronuclear ¹H-¹³C a larga distancia
H₂O - Agua (destilada)
HPLC - High performance liquid chromatography
HTC - Células tumorales del hígado
Hz - Hertz
IC₅₀ - Concentración inhibitoria media 50.
ICMyL - Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
iPr₂NH - Di-isopropil amina
IQ - Instituto de Química
IR - Infrarrojo
J - Constante de acoplamiento

KB - Carcinoma nasofaríngeo

KCl - Cloruro de potasio

Kg - Kilogramo o kilogramos

km - Kilómetros

KOH - Hidróxido de sodio

kV - Kilovolts

L₁₂₁₀ - Leucemia murina

m - Metro o metros

m - Señal múltiple o multiplete

m² - Metro o metros cuadrados

M - Molaridad

[M]⁺ - Ion molecular

Me - Metilo

MEB - Microscopio Electrónico de Barrido

MeCN -Cianuro de metilo

Me₂CO - Acetona

MeOH - Metanol o alcohol metílico

mg - Miligramos

MHz - Megahertz

MIC - Concentración mínima inhibitoria

min. - Minuto o minutos

mL - Mililitros

μL - Microlitros

mm - Milímetros

μm - Micras o micrómetros

μM - Micromolar

m/z - masa/carga

n - Tamaño de la muestra (núm. de mezclas consideradas en el análisis). Tabla 24

N - Normalidad (concentración)

N₂ - Nitrógeno

NaOH - Hidróxido de sodio

Na₂SO₄ - Sulfato de sodio (anhidro)

ng - Nanogramos

NH₄OH - Hidróxido de amonio

nm - Nanómetros

-OH - Grupo hidroxilo u oxhidrilo

pf. - Punto de fusión

Ph - Peso húmedo

pH - Potencial de hidrógeno

P.M. - Peso molecular

Pm - Peso muestra

Pp - Precipitado

ppm - partes por millón

Prof. - Profundidad

Ps - Peso seco

PS - Leucemia linfocítica

RMN - Resonancia Magnética Nuclear

RMN ¹H- Resonancia Magnética Nuclear protónica

RMN ¹³C - Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13.

s - Señal simple o singulete

SAV - Sistema Arrecifal Veracruzano

SiO₂ - Dióxido de sílice

Sol. - Solución

t - Señal triple o triplete

TMS - Tetrametil-silano

TR - Tiempo de retención

TRx - Valor medio de los tiempos de retención

tt- Señal triple de triple

UADY - Universidad Autónoma de Yucatán

UAM - Universidad Autónoma Metropolitana

UBIPRO - Unidad de Biotecnología y Prototipos

UNAM - Universidad Nacional Autónoma de México

uv - Ultravioleta

VIH - Virus de inmuno-deficiencia

Xe - Xenón

δ - Frecuencia de incidencia (Abundancia relativa)

δ - Desplazamientos químicos

δ_C- Desplazamientos químicos en ¹³C

> - Mayor que

< - Menor que

[α]_D - Índice de rotación óptica

V_{max} - Frecuencia máxima (IR)

Δ - Insaturación (enlace doble)

ESTUDIO QUÍMICO-BIOLÓGICO DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis* (Duchassaing 1850)

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el océano ha adquirido mayor relevancia por constituir un componente importante en el desarrollo socioeconómico de diversos países, tales como Japón, Estados Unidos, Francia, Alemania, Canadá y Australia, cuya economía está basada en gran parte en recursos de origen marino y han adoptado una actitud prioritaria en su estudio.

México, a pesar de contar con una gran extensión de litorales, ha desarrollado el conocimiento y estudio de sus recursos bióticos mucho más lentamente, comparado con los países anteriormente citados; esta situación genera un reto verdadero para el investigador mexicano que quiera trabajar sobre este campo.

Entre los recursos de relevancia económica y ecológica de los ambientes tropicales encontramos al Phylum Porifera (más comúnmente llamado "esponjas") (Bakus *et al.*, 1986). En lo que respecta a este phylum existen en México muy pocos estudios publicados, enfocados más a estudios sobre taxonomía y sistemática (Green, 1977; Green y Gómez, 1984; 1986; Green *et al.*, 1986 y Gómez y Bakus, 1992), estudios sobre valoración y utilización como recurso explotable y potencial (Green, 1977), estudios sobre ecología química (Green, 1977 y Green *et al.* 1985) y sobre bioquímica (Arreguín *et al.*, 1993 y 1995); sin embargo, no se han llevado a cabo otros estudios sobre genética, reproducción, fisiología, ecología, zoogeografía, entre otros, por lo que es urgente realizar en México este tipo de estudios.

Como recurso explotable, las esponjas sólo han entrado en esta categoría por la presencia de especies conocidas como "esponjas de baño" que pertenecen a los géneros *Spongia*, *Hippiospongia*, *Fusiospongia* y *Halichondria* (Osorio, 1945 y Kinne, 1977). Estas esponjas pueden ser utilizadas e industrializadas de diferente manera de acuerdo con sus diferentes características:

◦Por su consistencia fibrosa, las esponjas pueden esterilizarse y ser utilizadas como fibra de limpieza de uso doméstico, así como para limpiar maquinaria de precisión y cristales.

◦Por su dureza, se han llegado a utilizar como cubiertas de las calles.

◦Debido a que su fibra no es combustible, estas esponjas pueden utilizarse en la construcción del esqueleto de armas, cohetes y barcos de guerra (Gómez; *com.pers.*).

Las esponjas también se han considerado como un recurso potencial por la presencia de diversos compuestos con actividad biológica y/o farmacológica que han sido aislados, purificados y caracterizados en estos organismos y que constituyen un rubro importante dentro de las llamadas "drogas marinas" (Faulkner, 1984; 1986; 1987; 1990; 1991 y Youngken y Shimizu, 1974).

En México se han realizado algunos estudios, en un esfuerzo regional desde 1977, sobre la actividad antibiótica e ictiotoxicidad de las esponjas del Golfo de México (Green, 1977 y Green *et al.*, 1985), Caribe (Arreguín-Espinoza, 1998), en el Océano Pacífico (Cruz, 1984 y 1988 respectivamente) y Golfo de California (Betancourt, 1992 y Encarnación y Kerr, 1992); sin embargo, no ha existido un trabajo continuo ni con una planeación sistemática sobre el tema, lo que ha provocado que la participación del país a nivel mundial sea lamentablemente muy reducida y dispersa. Todos estos factores han impedido entender por qué estos animales tienen la capacidad de producir este tipo de compuestos de los cuales podemos obtener un beneficio no sólo para México sino para la humanidad entera.

El estudio de algunos compuestos químicos dentro de las esponjas marinas es importante por varias razones:

- Enriquece a la química orgánica, al aportar compuestos con estructuras poco comunes y novedosas (Cruz, 1988).
- Contribuye al conocimiento de la biosíntesis de constituyentes químicos, basándose en aspectos fisiológicos y bioquímicos celulares propios de la esponja.
- Influye sobre la información biosintética de los compuestos químicos, que puede ser aplicable dentro de la biotecnología marina.
- Revela la existencia de una estrecha relación entre los organismos y su posición taxonómica (quimiotaxonomía o sistemática bioquímica) (Bergquist y Hogg, 1969; Bergquist *et al.*, 1984 y Faulkner, 1986).
- Aporta bases químicas de la llamada ecología química marina, para explicar las diversas relaciones biológicas entre los organismos asociados a las esponjas (competencia intra- e interespecífica, depredación, comensalismo, mutualismo, entre otras) con respecto a la producción de sustancias anti-incrustantes (antifouling), antimicrobianas e ictiotóxicas, entre otras (Faulkner, 1986 y Cruz, 1988).

En lo que se refiere a la química de los organismos marinos, numerosos autores han realizado compendios de los trabajos publicados que incluyen al Phylum Porifera como: Halstead (1965), Premuzic (1971), Scheuer (1973), Golberg (1974), Minale (1976), Faulkner (1977, 1984, 1986-1988, 1990, 1991, 1994, 1996 y 1997), entre otros. En estos trabajos se puede apreciar la abundancia de compuestos químicos que han sido aislados, purificados y caracterizados de las esponjas marinas; muchos de ellos muestran actividad biológica de interés para el hombre como antivirales, antibacterianos, fungicidas, antihelmínticos, insecticidas, cardiotónicos, citotóxicos, anticancerígenos, antitumorales, ictiotóxicos, anticoagulantes, hipoténsicos, etc., y han venido a formar parte del desarrollo de la farmacognosia y la farmacología marina.

De este modo, se considera importante que en este campo, México realice un mayor esfuerzo por continuar el estudio de sus recursos bióticos marinos, en especial del Phylum Porifera, ya que así no sólo se fortalecerá a ésta sino a varias disciplinas, involucradas de manera multi- e inter-disciplinaria.

GENERALIDADES

PHYLUM PORIFERA

El Phylum Porifera más conocido como "esponjas" representa a los primeros metazoarios dentro de la escala filogenética y es el único phylum que se ubica en el grado Parazoa; es decir, las esponjas son animales que carecen de verdaderas capas embrionarias (Barnes, 1987 y Brusca y Brusca, 1990) y cuyos cuerpos contienen numerosas aberturas por las cuales fluye y se bombea el agua (Latín: *Porus* = Poro , *Ferre* = Poseer) (Green y Bakus, 1994) (Figura 1).

Las esponjas son organismos sésiles; comprenden aproximadamente 9,000 especies descritas que incluyen a las 150 especies correspondientes al medio dulceacuícola (Brusca y Brusca, 1990), la mayoría son especies marinas. Estos organismos presentan una distribución mundial; es decir, se encuentran desde la zona intermareal hasta el mar profundo, desde los polos hasta el ecuador (Green y Bakus, 1994).

Estos organismos dependen enteramente de la circulación del agua a través de los ostios - canales inhalantes o aferentes - cámaras coanocíticas - canales exhalantes o eferentes - ósculo ("sistema acuífero"), para abastecerse de los requerimientos nutricionales, para el intercambio gaseoso y para remover materia orgánica y metabolitos de desecho; por lo que existen diferentes tipos de organización, siendo el más sencillo la organización ascon, seguido del sicon (simple y complejo) y por último el leucon (Bayer y Owre, 1968)(Figura 1).

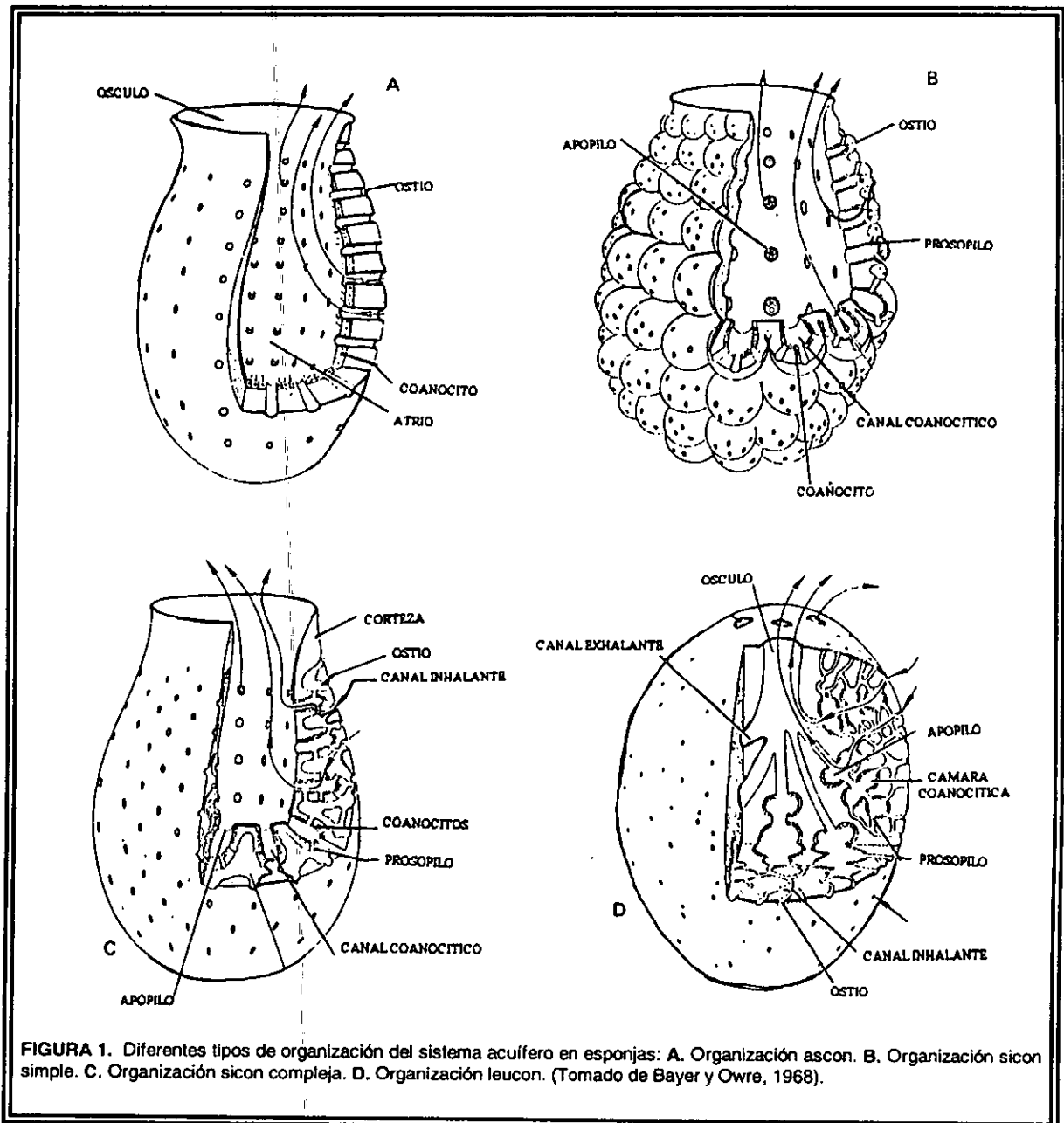
Se pueden distinguir otros sistemas: el sistema epitelial y el sistema esquelético. El cuerpo puede dividirse en tres regiones: el ectosoma, que corresponde a la región más externa de la esponja (corteza-dermis); el coanosoma, donde se localizan las cámaras coanocíticas y el endosoma, que corresponde a la región interior de la esponja.

Aunque se cree que las esponjas son organismos filtradores no selectivos, existe una selección de acuerdo con el tamaño de partícula ingerido, este tamaño oscila alrededor de 50 μ m en donde se puede considerar la presencia de bacterias, hongos, diatomeas, dinoflagelados y detritos (Bergquist, 1978).

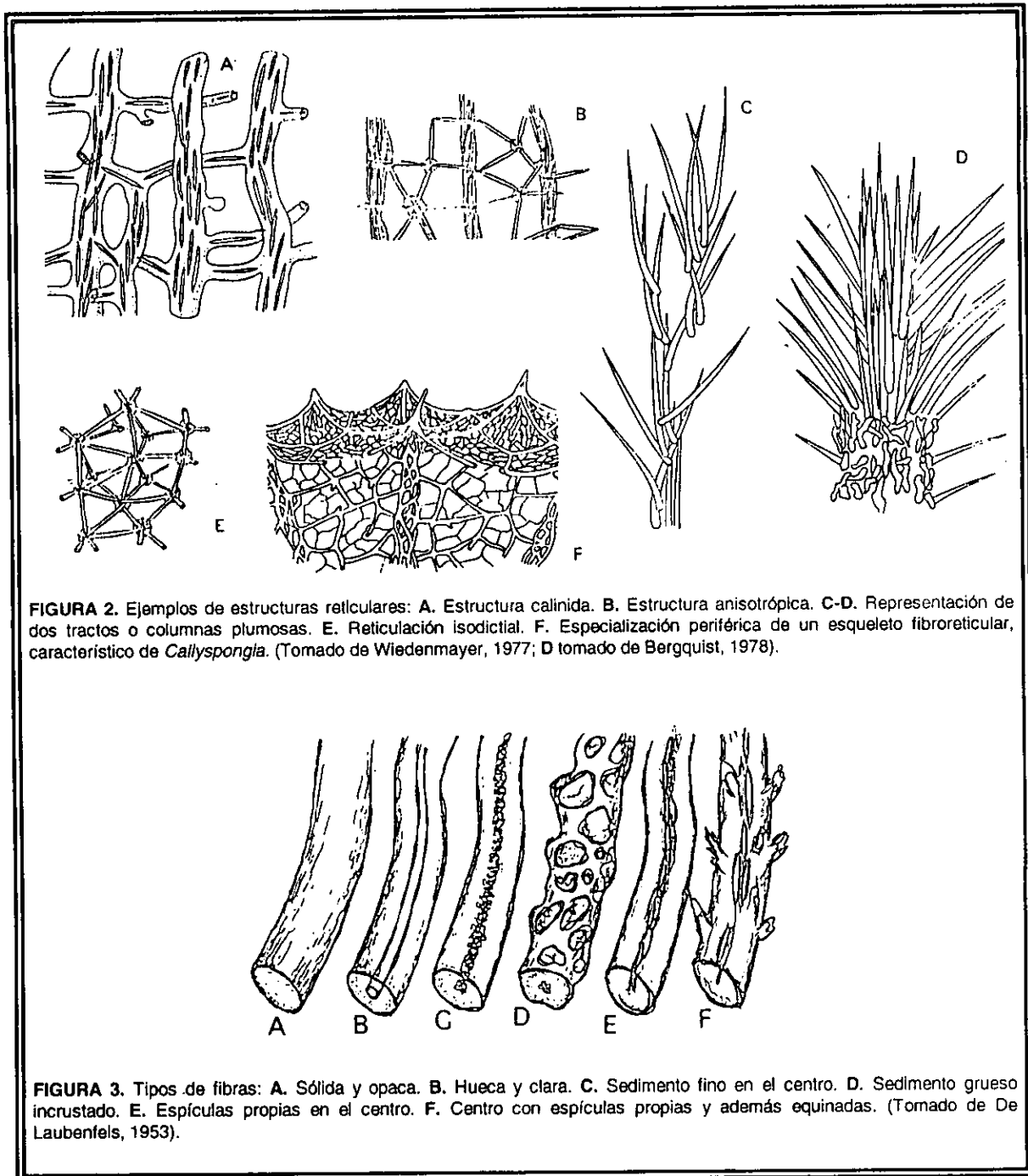
En el Phylum Porifera hay tanto reproducción sexual como asexual (Bergquist, 1978 y Barnes, 1987). Dentro de la reproducción sexual existen especies dioicas y monoicas, tanto sincrónicas como asincrónicas; mientras que en la reproducción asexual ocurren varios procesos tales como la fragmentación, regeneración, gemación y la presencia de cuerpos reproductores asexuales llamados gémulas; estas últimas son más comunes en las especies de agua dulce.

El sistema esquelético da el soporte físico-mecánico al organismo y es utilizado como una de las características primarias dentro de la identificación de las esponjas; puede estar constituido de materia orgánica y en muchos casos está reforzado por componentes inorgánicos (sílice y carbonato de calcio). El componente orgánico está

constituido por una proteína estructural caracterizada por un arreglo fibrilar llamada espongina, la cual suele arreglarse en fibras (Figuras 2 y 3). El material inorgánico que compone al esqueleto de la esponja recibe el nombre de espículas, que pueden estar formadas de carbonato de calcio o de sílice y su tamaño y forma pueden ser muy variado (Bergquist, 1978; Barnes 1987 y Green y Bakus, 1994)(Figura 4).

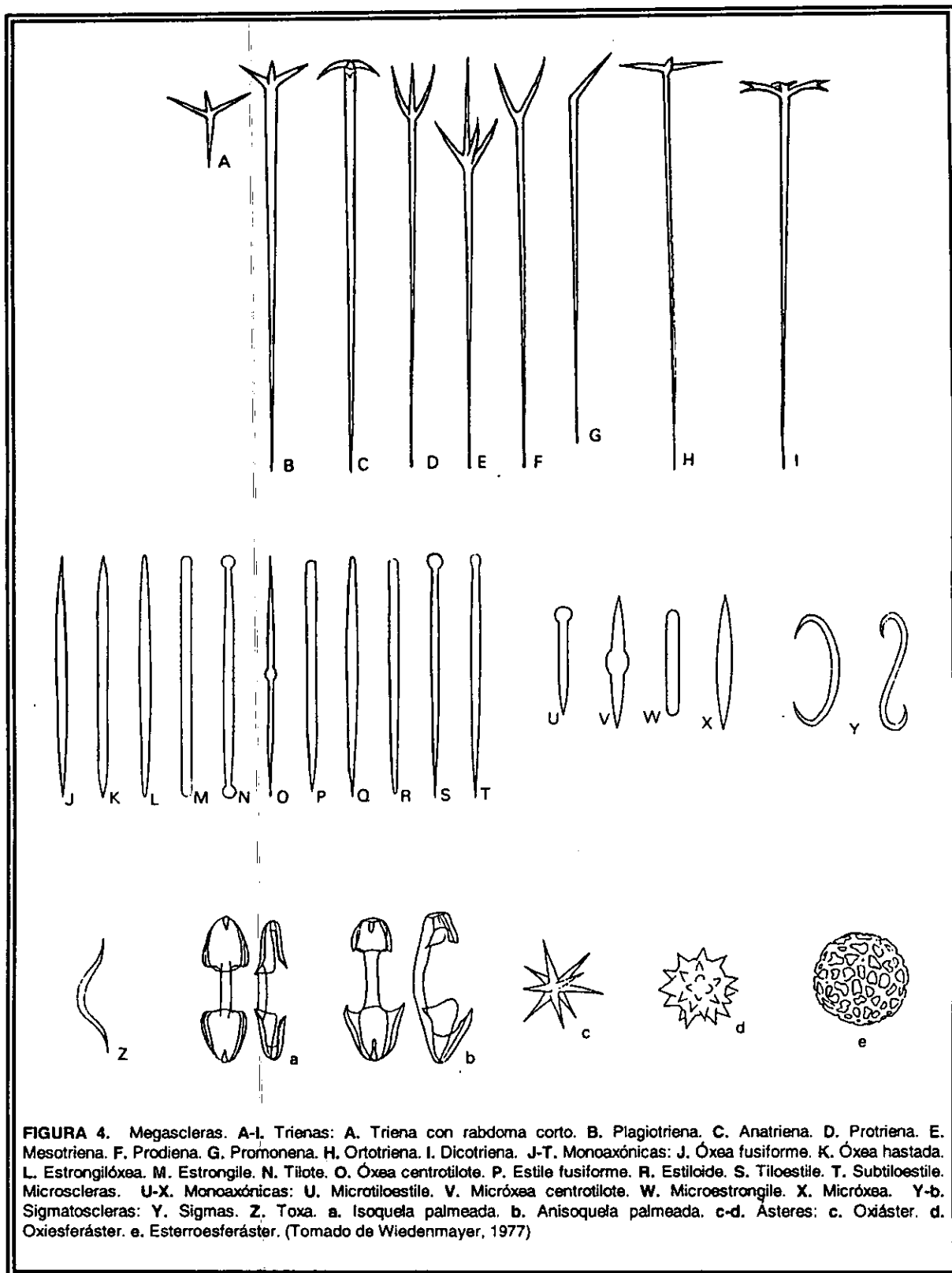


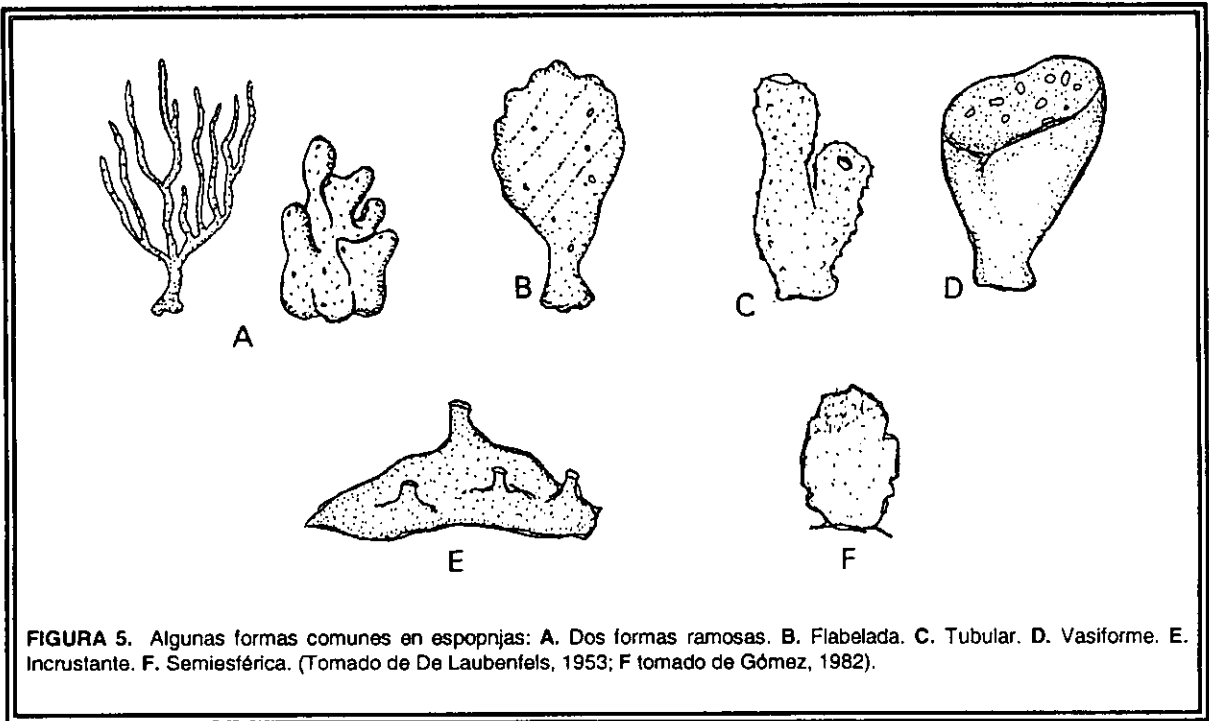
Aunque hay otros datos importantes para la identificación de las esponjas: el tamaño, color, la forma (Figura 5), la consistencia y la textura; la mayoría de la sistemática porifera se basa en la composición química y estructural del esqueleto.



Se reconocen actualmente cuatro clases dentro del phylum: 1) Clase Calcárea o Calcispongiae, 2) Clase Hexactinellida o Hyalospongiae, 3) Clase Demospongiae y 4) Clase Sclerospongiae (Bergquist, 1978 y Green y Bakus, 1994). Sin embargo, Vacelet (1985 *En* Brusca y Brusca, 1990) no reconoce a esta última clase, relegando a sus miembros a las clases Calcárea y Demospongiae; por otro lado se ha sugerido también que la Clase Hexactinellida debe ser removida del Phylum Porifera y colocada en el Phylum Symplasma (Bergquist, 1985). Actualmente, estas modificaciones no han sido

ampliamente aceptadas y se prefiere seguir trabajando con la clasificación ya antes mencionada.





En los últimos treinta años las técnicas modernas de la Biología, Microscopía Electrónica, Histoquímica, Biología Molecular, Ecología Química, Buceo, entre otras, han proporcionado mayor información sobre este phylum que, por ende, ha conducido a que se le preste mayor atención (Bergquist, 1985). Sin embargo, técnicas como la electroforesis del ADN no han tenido gran aportación para el establecimiento de categorías sistemáticas, ya que éstas han provocado mayor ambigüedad a la sistemática existente; pero estudios genéticos de otra naturaleza junto con la quimiotaxonomía han dado un nuevo enfoque al estudio de las esponjas, por lo que han sido consideradas como una puerta abierta para la resolución de la problemática sistémica del Phylum Porifera.

ANTECEDENTES

La esponja marina *Xestospongia subtriangularis* (Duchassaing 1850) es una especie endémica del Atlántico Tropical Oeste; registrada desde la costa oeste de Florida hasta Panamá, que se encuentra en Bahamas, Cuba, Colombia, Jamaica, Puerto Rico, Islas Vírgenes, Barbados, Brasil y Venezuela (De Laubenfels, 1936; 1953; Wiedenmayer, 1977; van Soest, 1980; Alcolado, 1981 y Zea, 1987). En México se distribuye a lo largo del Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV) y Caribe mexicano (Green, 1977; Green y Gómez, 1984 y Green *et al.*, 1986).

El primer trabajo encontrado sobre los componentes químicos de la especie es el realizado por Bergman y Feeney en 1949, la esponja recolectada en Biscayne Bay, Miami (1945 y 1948) e identificada como *Haliclona longleyi*, fue procesada para un estudio químico. La esponja se secó a temperatura ambiente y se extrajo la fracción lipídica con acetona en un aparato de Soxhlet, la cual fue fraccionada con benceno y posteriormente saponificada. Se separaron los esteroides por medio de precipitación y una vez acetilados se purificaron por recristalizaciones sucesivas, obteniendo un compuesto mayoritario (80%) cuya fórmula fue determinada por espectrometría de masas ayudado por el análisis de diferentes derivados, finalmente quedó establecida como $C_{28}H_{48}O$. Sin embargo, debido a la carencia de tecnología en la época no se logró más detalle.

Después de este trabajo siguieron otros sobre la especie, pero ninguno de tipo químico, solamente sobre la actividad biológica de diferentes extractos obtenidos:

En 1973, Stempien *et al.*, investigando los extractos alcohólicos de las esponjas recolectadas en Jamaica y en British Virgin Island encontraron que la esponja *Xestospongia subtriangularis* identificada como *Neopetrosia longleyi* produce la aglutinación de los huevos de erizo de mar.

En 1977, Green realizó un trabajo sobre ecología tóxica en esponjas marinas; el estudio fue realizado tanto en el campo (Arrecife La Blanquilla, Veracruz) como en el laboratorio, utilizando para las pruebas a los peces *Carassius auratus* y *Halichoeres bivittatus*. En este trabajo la esponja *X. subtriangularis* identificada como *Neopetrosia longleyi* presentó actividad tóxica, causando la muerte de los peces a las 12-16 h de haber sido colocado el extracto disuelto en agua destilada, con lo cual fue catalogada como una esponja de toxicidad menor a la media.

En este mismo estudio se llevó a cabo el análisis del contenido estomacal de 23 especies de peces recolectados en el arrecife La Blanquilla, Veracruz; en donde se encontraron tanto esponjas tóxicas como no tóxicas y entre ellas se registró a la esponja *X. subtriangularis*. Un dato importante es el del pez *Pomacanthus paru* cuyo contenido estomacal lo constituyó en un 75 % de material porífero.

En ese mismo año, Craft y Keller llevaron a cabo algunos estudios preliminares en cuanto a la actividad antibiótica de diferentes esponjas caribeñas sobre la anémona de manglar *Aiptasia tagetes*. *X. subtriangularis* identificada como *X. longleyi* resultó ser una de las nueve esponjas catalogadas como fuertemente antibióticas, ya que causan la muerte de la anémona en menos de 15 min. en este caso la extracción se realizó

con etanol (EtOH)(5 mL de EtOH/g de peso húmedo), 8 mL de extracto crudo etanólico fue evaporado y colocado en 25 mL de agua de mar y se adicionó al medio en donde se localizaban las anémonas. Estos mismos autores indican que la mayoría de las esponjas estudiadas también ejercen actividad antimicrobiana y en algunos casos actividad ictiotóxica; sin embargo, no especifican de que especies de esponjas se trata.

En 1985, Green *et al.* realizaron un estudio sobre la actividad antimicrobiana e ictiotóxica de las esponjas marinas de las aguas mexicanas. Para las pruebas microbiológicas se usó la técnica de sensidisco, utilizando 1 mL del sobrenadante del extracto metanólico aplicado en el sensidisco de 5 mm de diámetro. *X. subtriangularis* fue inactiva contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *S. dysenteriae*. Para la prueba de ictiotoxicidad se usaron 25 mL del sobrenadante del extracto metanólico (una vez evaporado y resuspendido en 200 mL de agua de acuario); el pez utilizado para la prueba fue *Lebistes sp.* (guppy); *X. subtriangularis* resultó ser no tóxica para el pez de prueba.

Haciendo una revisión del género *Xestospongia* se han identificado aproximadamente 35 especies (Anexo D), de las cuales el 37.1 % (13 especies) se estudiaron desde el punto de vista químico. Hay varios estudios sobre el Género *Xestospongia sp.*; pero ninguno de éstos involucra a la especie *X. subtriangularis*. Así, se han obtenido aproximadamente 200 compuestos reunidos en los siguientes grupos (Anexo A y B): I. Hidrocarburos (9 compuestos), II. Ácidos orgánicos y ésteres de ácidos (22 compuestos), III. Alcoholes (4 compuestos), IV. Aminas (8 compuestos), V. Terpenoides (13 compuestos), VI. Heterocíclicos (47 compuestos), VII. Quinonas (27 compuestos) y VIII. Esteroles (73 compuestos).

De éstos, el 46 % (92 compuestos) poseen actividad biológica (Anexo C):

- ◊ Actividad antiviral
- ◊ Actividad antimicrobiana
- ◊ Fungicida
- ◊ Actividad antitumoral
- ◊ Actividad citotóxica
- ◊ Inhibidor de la actividad enzimática y/u hormonal
- ◊ Actividad anticancerígena
- ◊ Actividad antihelmíntica
- ◊ Insecticida
- ◊ Actividad vasodilatadora
- ◊ Actividad ictiotóxica
- ◊ Actividad cardiotónica
- ◊ Actividad antialérgica

Es evidente que el género *Xestospongia* es de gran interés para los científicos desde el punto de vista farmacológico y, por todo lo mencionado anteriormente; cabe resaltar entonces, la importancia de estudiar a la especie *X. subtriangularis* de la cual hasta la fecha no han sido estudiados los componentes químicos que la caracterizan (con técnicas e instrumentación moderna), solamente se han realizado estudios preliminares de su actividad y que además, es una especie distribuida en aguas mexicanas.

OBJETIVOS

Los objetivos generales del presente trabajo son:

- I. Contribuir al conocimiento de los recursos naturales marinos de las costas mexicanas, en especial del Phylum Porifera y,
- II. Contribuir al conocimiento de los componentes químicos del Phylum Porifera, mediante el estudio de la esponja marina *Xestospongia subtriangularis* (Duchassaing 1850), recolectada en aguas tropicales mexicanas (Golfo de México).
- III. Enriquecer el conocimiento de la actividad antimicrobiana de algunos de los compuestos químicos obtenidos de la esponja *Xestospongia subtriangularis*.

Los objetivos particulares del trabajo son:

- Obtener material biológico de la esponja marina *X. subtriangularis* (Duchassaing 1850) en cantidad suficiente para llevar a cabo un estudio de los componentes químicos del mismo.
- Identificar y redescubrir a la esponja marina *X. subtriangularis* (Duchassaing 1850).
- Aislar y purificar los componentes de cada uno de los diferentes extractos que se obtengan de la esponja mediante el uso de técnicas cromatográficas convencionales.
- Caracterizar y determinar la estructura molecular de los constituyentes químicos de la esponja marina *X. subtriangularis* que se hayan podido aislar y purificar en cantidades suficientes.
- Realizar una evaluación biológica preliminar de los extractos crudos y de los metabolitos aislados mediante bioensayos sencillos y reproducibles de actividad antimicrobiana.
- Divulgar los resultados en los foros apropiados que se dispongan (conferencias, congresos, entre otros), así como, en publicaciones en revistas de prestigio científico.

AREA DE MUESTREO

◦ Clima.

Las costas de Veracruz tienen un clima tropical a subtropical con una temperatura media anual entre 26 y 28 °C y una precipitación anual de 1,100 a 2,000 mm (Ferre D'Amare, 1985). La mayor parte del año los vientos dominantes son del noreste y el este, aunque pueden ser del sureste durante el verano; de octubre a marzo se presentan de 15 a 20 invasiones de aire polar conocidas como "nortes", con una duración de 2 a 6 días cada una y a velocidades de 12 a 45 Km/h, con rachas hasta de 110 a 120 Km/h (Carricart-Ganivet y Horta-Puga, 1993). De agosto a octubre la zona sufre de la presencia de huracanes, que producen la mayoría de las lluvias durante ese periodo (Ferre D'Amare, 1985).

◦ Hidrología.

Las temperaturas medias diarias del agua son más bajas en enero (19.8 °C) y más altas en agosto (31.0 °C); por otro lado, las salinidades varían de 20.6 a 35.4 ppm (Grivel-Piña, 1979). Las masas de agua que rodean al arrecife se clasifican de tres tipos según Villalobos (1971) : a) aguas oceánicas, b) aguas costeras y c) aguas de mezcla, las cuales hacen fluctuar tanto la temperatura como la salinidad del agua de manera diaria, estacional y anual. La zona presenta un tipo de marea diurna (Secretaría de Marina, 1980).

◦ Ubicación.

El arrecife Isla Verde se encuentra localizado dentro del Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV) correspondiente a la zona sur de Veracruz. Este sistema se encuentra dividido en dos grupos por la desembocadura del Río Jamapa-Atoyac; el arrecife Isla Verde se localiza en el grupo del norte junto con los arrecifes de Punta Gorda y Punta Majagua, Galleguilla, Anegada de adentro, La Blanquilla, La Gallega, Pájaros, Hornos, Isla Sacrificios y Punta Mocambo (Figura 6).

◦ Batimetría y tipo de fondo.

En general, las plataformas arrecifales del SAV presentan una profundidad entre 0.5 a 2.0 m; están formadas de arena de origen coralino y restos de moluscos, principalmente conchas de bivalvos y gasterópodos, están presentes pequeños parches de *Thalassia testudinum* (pasto marino), zonas de coral y zonas de restos esqueléticos de coral. Las especies coralinas más abundantes son *Diploria clivosa*, *D. strigosa*, *Siderastrea radians*, *Porites astreoides* y *P. porites* (Carricart-Ganivet y Horta-Puga, 1993).

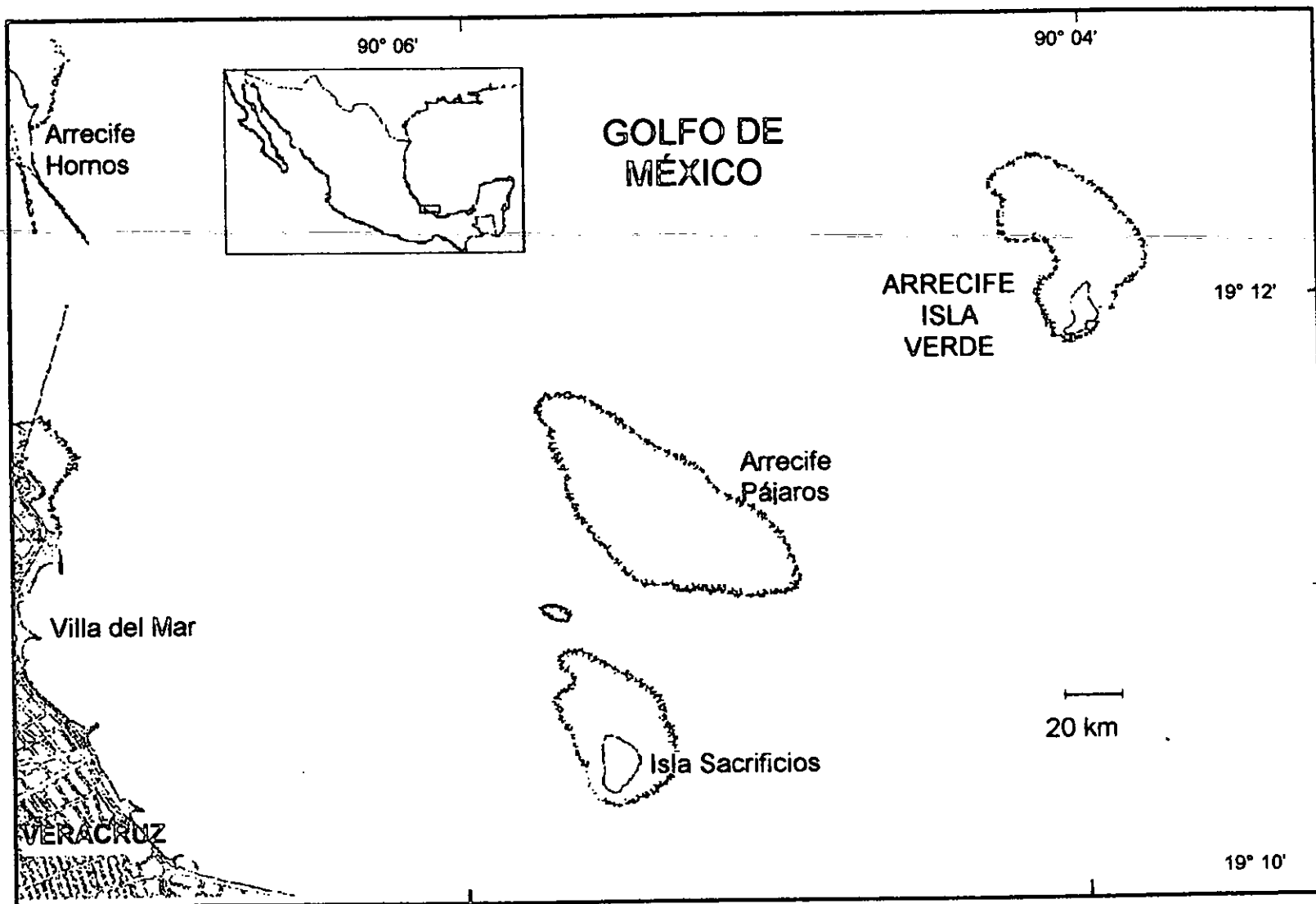


FIGURA 6. LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL ÁREA DE MUESTREO.

En cuanto a los taludes arrecifales, no existen zonas marcadas; las mayores profundidades van desde los 12 hasta los 46 m en barlovento y de 9 a 20 m en sotavento; las pendientes son variables, desde suaves hasta abruptas paredes a 18-26 m en barlovento (Carricart-Ganivet y Horta-Puga, 1993).

- Arrecife Isla Verde.

El arrecife Isla Verde es de tipo plataforma y se localiza a los 19° 11' 50" latitud norte y 96° 04' 06" longitud oeste, a 5.37 Km de la costa más cercana. Su eje más largo es en dirección noroeste-sureste con 1.12 Km y su parte más ancha mide 750 m. En su extremo sur presenta un pequeño cayo de 225 m de longitud por 125 m de anchura, conocido como Isla Verde (Carricart-Ganivet y Horta-Puga, 1993)(Figura 6).

MATERIAL Y MÉTODO

RECOLECTA

Para el desarrollo de este trabajo se llevaron a cabo dos recolectas de material porífero (*Xestospongia subtriangularis*) en las cercanías del arrecife Isla Verde, Veracruz (Figura 7):

FECHA	PESO HÚMEDO TOTAL	TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL AGUA
7 - 8 de junio de 1995	5.960 Kg	29.8 °C
23 de junio de 1996	2.8038 Kg	27.6 °C

La recolecta se realizó mediante buceo scuba o autónomo, con la colaboración de los M. en C. Joel Ortega Ortiz y Alberto Delgado Estrella. Cada buzo llevó una red de colecta y una tabla de acrílico para anotar los datos correspondientes y características de cada organismo recolectado, tales como, la profundidad, tipo de sustrato, tamaño relativo (chico, mediano y grande, asociaciones con otros organismos, entre otros. Todos estos datos son de importancia para la identificación de los ejemplares (Gómez *com.pers.*; van Soest, 1980 y Vázquez, 1994).

Cabe mencionar que los ejemplares de talla mediana (> 20 cm) y grande (> 50 cm) no fueron recolectados totalmente, sino que más bien fueron "podados"; es decir, se cortaron pedazos o fragmentos del ejemplar sin extraerlo totalmente. Los ejemplares de talla chica (< 20 cm) fueron menos numerosos dentro de la recolección.

Una vez en la isla, el material se limpió con agua de mar *in situ* de manera manual para eliminar organismos y material sedimentario que la esponja pudiera presentar adherido; para posteriormente colocarla en bolsas de plástico previamente etiquetadas con una clave de recolecta. Cada bolsa fue pesada en una balanza romana y colocada dentro de una hielera para su congelación por medio de hielo seco y para su traslado al Laboratorio 021 del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMyL), (primera recolecta) y al Laboratorio 2-6 del Instituto de Química (IQ), UNAM (segunda recolecta) ambos en la Ciudad de México.

La recolecta de material se realizó en forma aleatoria en los alrededores de Isla Verde (dentro y fuera de la laguna arrecifal) sin hacer excepción en cuanto al tamaño y color de los ejemplares (características muy visibles) ya que el objetivo fue tomar una muestra representativa de la especie.

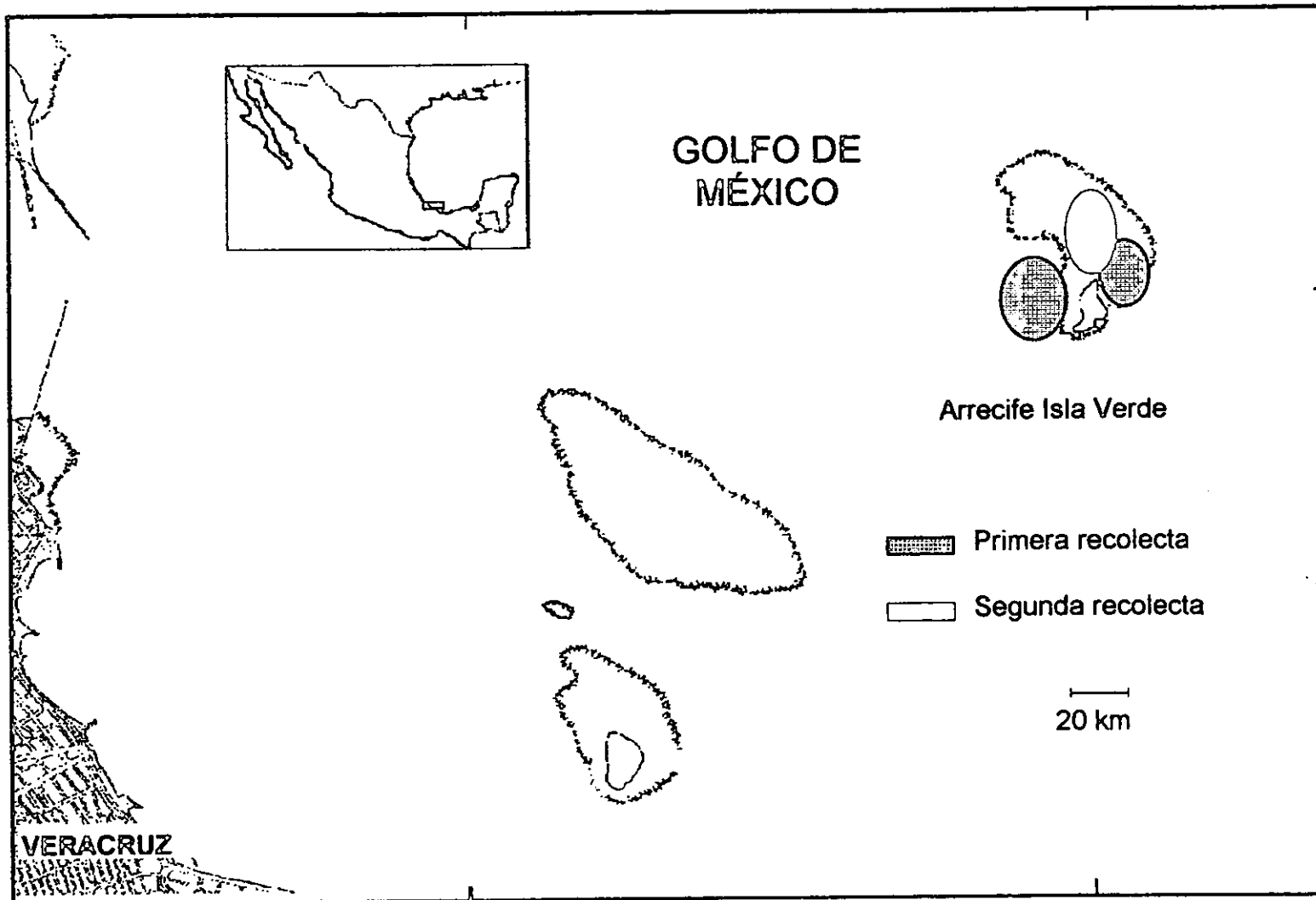


FIGURA 7. LOCALIZACIÓN DE LAS ZONAS DE RECOLECTA DE MATERIAL PORÍFERO EN EL ÁREA DE MUESTREO EN JUNIO DE 1995 Y JUNIO DE 1996.

En la tabla de acrílico se transcribieron a una libreta de campo los siguientes datos:

- Clave de recolecta
- Lugar y fecha de recolecta
- Profundidad a la cual se recolectó
- Color
- Consistencia
- Tamaño
- Tipo de sustrato
- Observaciones generales (asociaciones)

Esta información, además de contribuir a la identificación de la especie, también fue de apoyo para la elaboración de la discusión de este trabajo.

También se tomaron diapositivas por medio de una cámara subacuática, las cuales servirán para la exposición del examen de grado y/o difusión de resultados en conferencias o congresos.

ABUNDANCIA RELATIVA

Para conocer de manera aproximada el número de esponjas de esta especie en el arrecife Isla Verde se procedió a realizar transectos de 50 m lineales a lo largo de los cuales se realizaron cuadrantes de 25 m² (Figuras 8 y 9).

Estos transectos-cuadrantes se realizaron de manera radial a partir de la región central de la laguna arrecifal iniciando con un transecto A con dirección hacia el norte, seguido de un transecto B a 45° al este y así sucesivamente hasta completar un total de ocho transectos durante los días 22-24 de junio de 1996.

De este modo se realizaron dos tipos de conteo, uno por transecto, considerando únicamente las esponjas *X. subtriangularis* que quedaron sobre la línea de transecto y segundo, el conteo por cuadrante (cada cuadrante de 25 m² de área separados entre sí cada 5 m en la misma línea de transecto y girado 45° al este con respecto a cada línea de transecto).

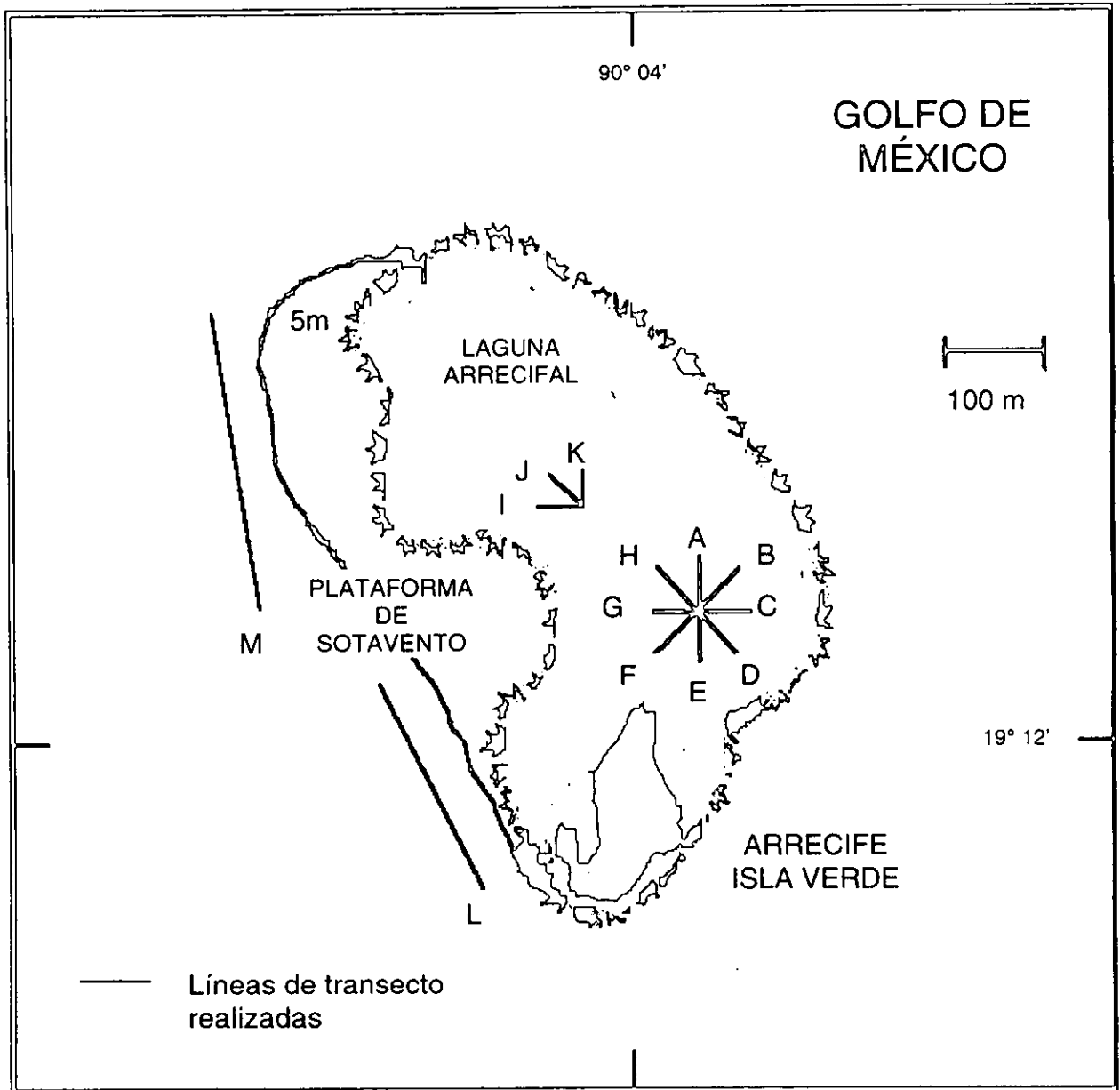


FIGURA 8. LOCALIZACIÓN DE LOS TRANSECTOS EN EL ÁREA DE ESTUDIO (Arrecife Isla Verde).

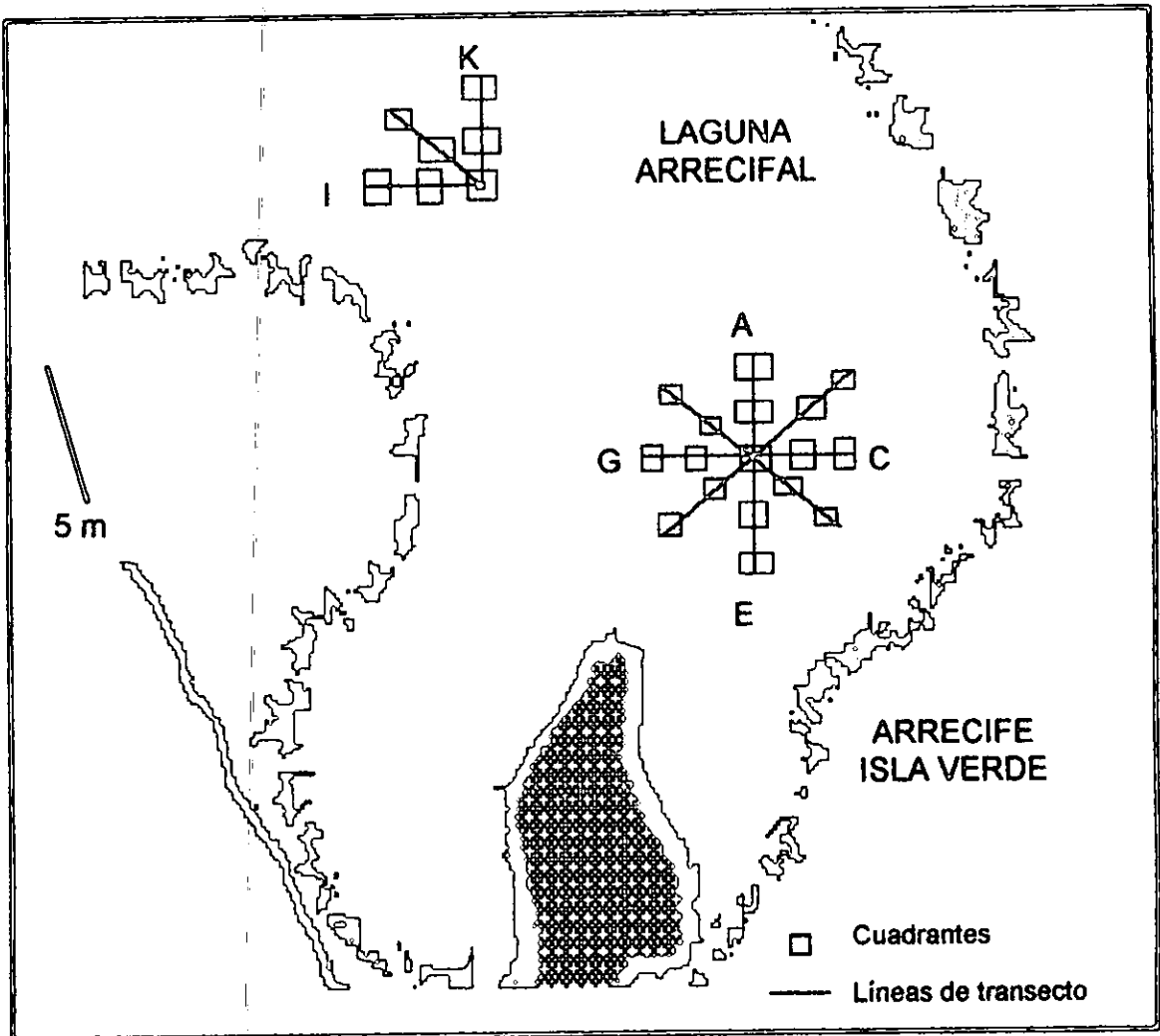


FIGURA 9. LOCALIZACIÓN DE LOS CUADRANTES EN EL
 ÁREA DE ESTUDIO (Arrecife Isla Verde).

Es importante señalar que la abundancia de una especie es indicador del papel ecológico que desempeña en una comunidad; una especie muy abundante puede también ser una especie dominante en esa comunidad y por tanto, es interesante conocer si en el arrecife Isla Verde *X. subtriangularis* es o no una especie de este tipo.

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA E INCORPORACIÓN DENTRO DE LA COLECCIÓN

Tanto en la primera como en la segunda recolecta se separó un total de siete ejemplares (5 y 2 respectivamente) destinados para la confirmación taxonómica de la especie. Estos ejemplares fueron colocados en un frasco de vidrio el cual se etiquetó de acuerdo con las especificaciones de Gómez (*com.pers.*) y fijados en etanol (EtOH) al 70 % para su depósito formal en el Lab. 021 del ICMYL, UNAM.

La identificación de la especie se realizó siguiendo el método utilizado en el laboratorio para la identificación de esponja (Green y Gómez, 1984 y Vázquez, 1994) y fue confirmada por la Biól. Patricia Gómez, encargada de estas actividades en el laboratorio, así como de la colección del Phylum Porifera. Esta colección se localiza en el mismo laboratorio y contiene ejemplares del Océano Pacífico, Golfo de California, Golfo de México y del Mar Caribe. Los ejemplares recolectados y separados para dicho fin se anexaron a dicha colección.

De uno de los ejemplares se realizaron dos preparaciones para ser analizadas en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) localizado en el mismo instituto bajo la dirección de la Biól. Yolanda Hornelas; estas fotografías son de gran utilidad para confirmar la morfometría de las espículas. La técnica seguida en este punto fue la modificada del método de Green y Gómez (1984) y utilizada por Vázquez (1994).

MATERIAL Y EQUIPO: DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS, CROMATOGRÁFÍAS, ESPECTROSCOPIA Y ESPECTROMETRÍA

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns en grados Celsius (°C) y no están corregidos.

Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Jaco Dip-360 con lámpara de sodio, en cloroformo (CHCl₃). Índice de rotación: $[\alpha]_D = \alpha / C \times l$ (α - rotación observada en el polarímetro a 589 nm, C - concentración en g / mL, l - longitud de la celda, 1 dm).

Para las cromatografías en capa fina (CCF) se usaron cromatofolios DC. Aufolien Kieselgel 60 F 254 Merck, láminas de 20 cm X 20 cm X 0.2 mm; como reveladores lámpara UV Spectroline Modelo CX-20 a λ 254 y 365 nm y solución de sulfato cérico amónico al 1 % en ácido sulfúrico 2 N.

Para las cromatografías en columna (CC) se utilizó Sílica Gel Kieselgel 60 GF 254 como fase estacionaria, utilizando los mismos tipos de reveladores que la CCF.

Para las cromatografías en fase reversa C_{18} (CCRev) se utilizaron columnas LOT HO7557, Bakerbond Octadecilsilano articulada a Sílica-Gel 40 μ m APD 60 °A. J. T. Baker.

Para las cromatografías en placa preparativa (CCP), se utilizaron placas de 20 X 20 cm y de 2, 1, 0.5 y/o 0.25 mm de espesor Merck Kieselgel 60 F-254 con indicador de fluorescencia y placas Macherey-Nagel SIL G-50 UV 254.

Los espectros en el infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrofotómetro Nicolet Magna 750 FT-IRSX, en disolución de $CHCl_3$. Las absorciones se dan en cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se determinaron a 200, 300 y 500 MHz en el caso de 1H , y a 50, 75 y 125 MHz para RMN ^{13}C ; para lo cual se utilizaron espectrómetros analíticos Varian-Gemini 200, Varian-UNITY 200, Varian VXR-300 y Varian-UNITY PLUS 500, utilizando como disolvente deuterio-cloroformo ($CDCl_3$). Los desplazamientos químicos (δ) están dados en partes por millón (ppm) y referidos al tetrametil-silano (TMS) como referencia interna. Se utilizaron secuencias de pulsos para experimentos de desacoplamiento y por transferencia de polarización en 1H y ^{13}C : DEPT y APT (diferencia entre metilos, CH_3 ; metilenos, $-CH_2-$ y metinos, $=CH-$) y espectros bidimensionales de correlación homonuclear $^1H-^1H$, (COSY), de correlación heteronuclear $^{13}C-^1H$ a un enlace (HMQC), y a través de 2 y 3 enlaces (HMBC); así como también experimentos de doble resonancia (irradiaciones).

Los análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) se realizaron en un cromatógrafo Hewlett Packard 5985-B, usando una columna HP Mod. PAS 1701, de 25 m de largo por 0.32 mm de diámetro y grosor de la película de 0.25 μ m. Los espectros de masas por impacto electrónico (IE) se determinaron a 70 eV en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA. Los espectros de alta resolución por bombardeo rápido de átomos (FAB^+) se determinaron a 6 kV utilizando como matriz alcohol *meta*-nitrobencílico y como gas ionizante xenón en un espectrómetro JEOL-SX102A.

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

A. Primera recolecta.

A.a. Esponja procesada en húmedo (esponja fresca).

En el Laboratorio 021, las esponjas recolectadas fueron descongeladas para pesarlas en una balanza gravimétrica; se tomaron 5.478 Kg de esponja; se cortaron en pedazos pequeños y se homogenizaron por medio de una licuadora con metanol (MeOH) al 99 %, el cual de acuerdo con Crews y Naylor (1985) es el disolvente más adecuado para la extracción de compuestos orgánicos. El material homogenizado se colocó en frascos de vidrio previamente lavados y etiquetados para ser transportados al Lab. 2-6 del IQ.

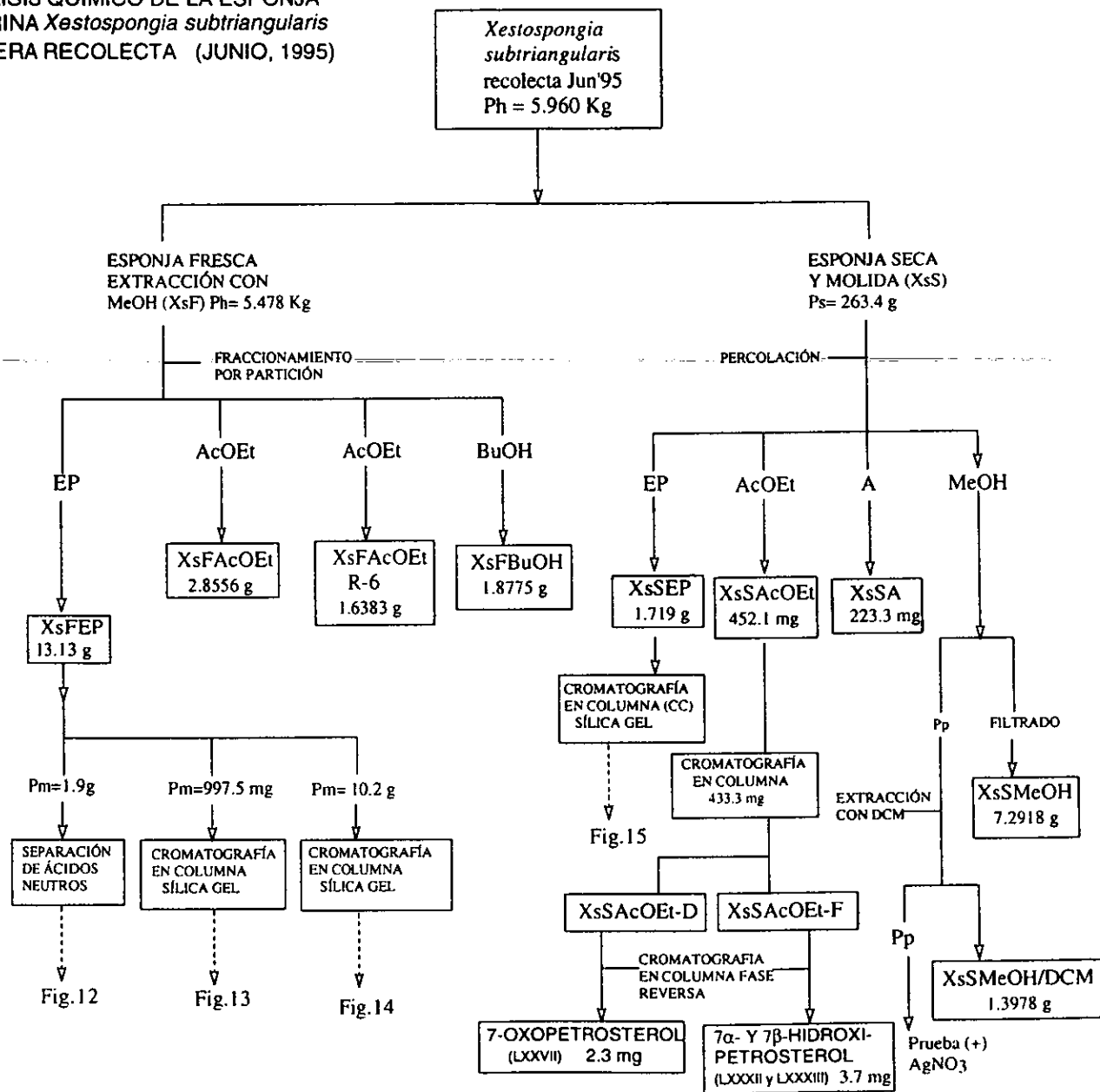
En dicho laboratorio, el homogeneizado se filtró en un embudo Büchner y papel filtro Whatman No. 2 a presión reducida; el residuo respectivo se volvió a colocar en MeOH y este proceso se repitió seis veces. El material residual fue colocado en la campana de extracción para secarse completamente a temperatura ambiente; posteriormente se colocó en bolsas de plástico para obtener el peso seco total de la esponja procesada (983.9 g peso seco después de la extracción).

El extracto metanólico-acuoso se concentró por destilación a presión reducida en un rotavapor Büchi 011 hasta obtener un volumen aproximado de 300 mL. Este extracto obtenido de la esponja fresca (XsF) se fraccionó por partición en un embudo de separación de dos litros con diferentes disolventes de polaridad creciente: éter de petróleo (EP), acetato de etilo (AcOEt) y butanol (BuOH). El fraccionamiento y los pesos correspondientes a cada fracción una vez que se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida se pueden observar en la figura 10.

A.b. Esponja procesada en seco (esponja seca).

El resto de la esponja (482 g peso húmedo) se procedió a secar en una charola de papel aluminio en la campana de extracción a temperatura ambiente. La esponja una vez seca (XsS = 263.4 g peso seco) se molió en un molino de mano y se obtuvieron los extractos por percolación usando diferentes disolventes de polaridad creciente: EP, AcOEt, acetona (A) y MeOH. Los pesos correspondientes a cada fracción, una vez que se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida, se pueden observar también en la figura 10. En este caso, al concentrar el extracto metanólico se obtuvo un precipitado el cual se filtró y se lavó con dicloro-metano (DCM). Posteriormente se eliminó el DCM obteniéndose un residuo XsSMeOH/DCM; al filtrado también se le eliminó el disolvente por destilación obteniéndose el residuo XsSMeOH.

FIGURA 10. ANÁLISIS QUÍMICO DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis* PRIMERA RECOLECTA (JUNIO, 1995)



Ph= Peso húmedo
Ps= Peso seco
Pm= Peso muestra
Pp= Precipitado

El precipitado una vez lavado con DCM dio prueba positiva para la presencia de cloruros (Cl^-) con una solución de nitrato de plata (AgNO_3) (formación de un precipitado blanco de AgCl) (Figura 10).

B. Segunda recolecta.

B.a. Esponja procesada en húmedo (esponja fresca).

El material de la segunda recolecta se trabajó del mismo modo; en este caso se tomaron 802.9 g y se maceraron con MeOH al 80 % y el resto (2.0 Kg) se secó a temperatura ambiente (inciso B.b.).

El extracto metanólico-acuoso de la esponja fresca (X_{s2F}) (160.6 g peso seco después de la extracción) se fraccionó por partición en un embudo de separación de 500 mL con diferentes disolventes de polaridad creciente: EP, DCM, AcOEt y MeOH. Los pesos correspondientes a cada fracción una vez que se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida se pueden observar en la figura 11. En este caso, nuevamente la fracción metanólica formó un precipitado que dio prueba positiva para la presencia de cloruros (Cl^-) (Figura 11).

B.b. Esponja procesada en seco (esponja seca).

Por otro lado, la esponja una vez seca ($X_{s2S} = 432.5$ g peso seco) se molió y se obtuvieron los extractos por percolación, usando diferentes disolventes de polaridad creciente: EP, DCM, AcOEt, acetona y MeOH. Los pesos correspondientes a cada fracción se pueden observar en la figura 11. El extracto acetónico y metanólico formaron un precipitado que también dio prueba positiva para la presencia de cloruros.

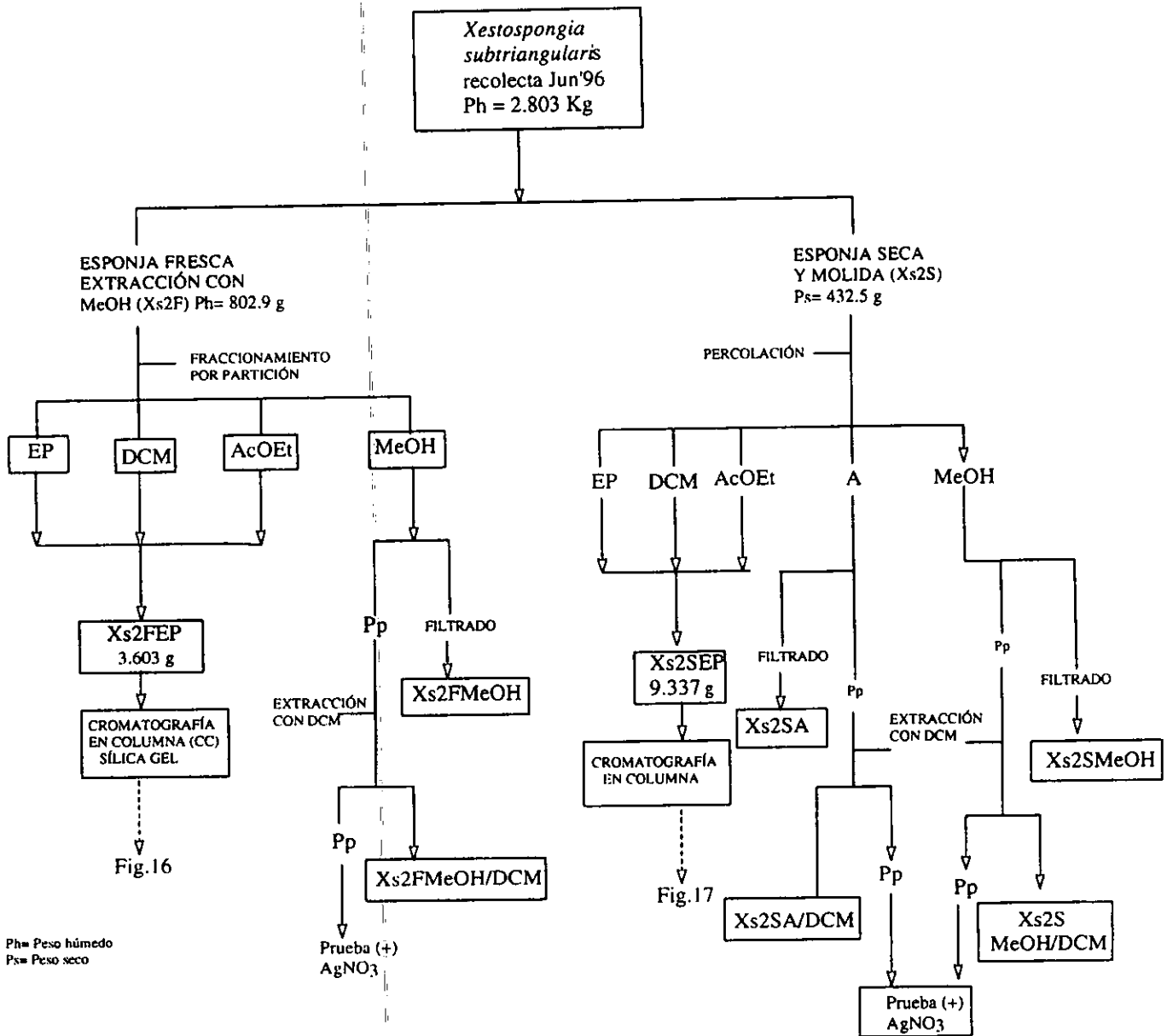
SEPARACIÓN DE LOS COMPONENTES QUÍMICOS DE LA ESPONJA Y PREPARACIÓN DE DERIVADOS.

A. Primera recolecta.

A.a. Esponja fresca:

De las fracciones obtenidas anteriormente, la fracción de EP con un peso de 13.1 g (X_{sFEP}), se dividió en tres porciones. La primera porción (1.9 g) se analizó por separación de ácidos y neutros (Figura 10); la segunda porción (997.5 mg) se sometió a un análisis preliminar por cromatografía en columna (CC) sobre Sílica-Gel (Figura 10) y la tercera porción que corresponde al resto de la fracción de éter de petróleo (10.2 g) ($X_{sFEP'}$) también se separó por cromatografía en columna (CC) sobre Sílica-Gel.

FIGURA 11. ANÁLISIS QUÍMICO DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis*
SEGUNDA RECOLECTA (JUNIO, 1996)



I. ANÁLISIS PRELIMINAR POR SEPARACIÓN DE ÁCIDOS Y NEUTROS DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO DE LA ESPONJA FRESCA (XsFEP).

- Separación de compuestos ácidos y neutros.

Una muestra de 1.911 g de la fracción de éter de petróleo (XsFEP) se disolvió en acetato de etilo (AcOEt) y se extrajo en un embudo de separación con una solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) al 5 % (tres extracciones con un volumen de 50 mL cada una). Posteriormente la fase orgánica se lavó con agua hasta tener un pH neutro de las aguas de lavado; se secó con sulfato de sodio (Na₂SO₄), se filtró y se eliminó el disolvente por destilación al vacío, obteniéndose 1.269 g de compuestos neutros (XsN, 66.4 %) (el espectro en el IR de esta fracción indicó la presencia de compuestos ácidos residuales) (Figura 12).

La fase acuosa alcalina se aciduló con una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 25 % y se extrajo en AcOEt (tres veces con volúmenes de 50 mL cada una). La fase orgánica como en el caso anterior, se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄ y se eliminó el disolvente por destilación al vacío. Se obtuvieron 575.1 mg de compuestos ácidos (XsA, 30.1 %) (Figura 12).

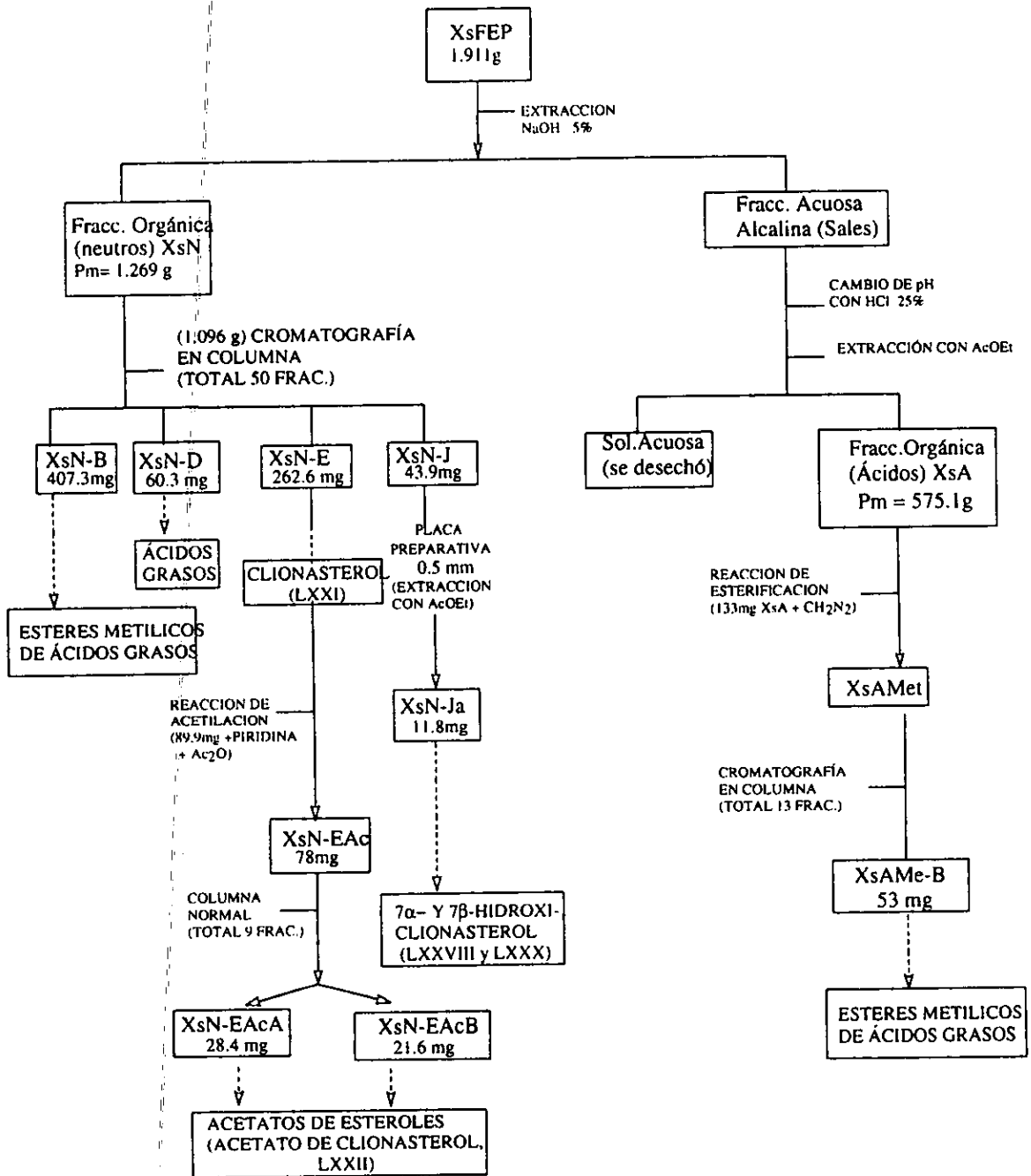
- Separación por cromatografía de la fracción neutra (XsN).

De la fracción neutra se tomaron 1.096 g y se sometió a cromatografía en columna de Sílica-Gel 60 Merck F-254 (13.7 g de sílica, muestra preadsorbida, 14.5 cm X 1.5 cm de diámetro) como eluyentes se usaron EP y mezclas de éste con AcOEt en orden creciente de polaridad, obteniéndose 50 fracciones de 20 mL cada una (Tabla 1).

Tabla 1. SEPARACIÓN POR CROMATOGRFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN NEUTRA (XsN = 1.0961 g).

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO (mg)	ELUYENTE
1-7	XsN-A	10.3	EP, EP-AcOEt 95:5
8	XsN-B	407.3	EP-AcOEt 95:5
9	XsN-C	17.4	EP-AcOEt 95:5
10-16	XsN-D	60.3	EP-AcOEt 9:1
17-23	XsN-E	262.6	EP-AcOEt 9:1, EP-AcOEt 8:2
24-27	XsN-F	18.0	EP-AcOEt 8:2
28-32	XsN-G	24.0	EP-AcOEt 8:2, EP-AcOEt 6:4
33-37	XsN-H	60.9	EP-AcOEt 6:4
38-40	XsN-I	15.7	EP-AcOEt 6:4, EP-AcOEt 4:6
41-46	XsN-J	43.9	EP-AcOEt 4:6, AcOEt
47-49	XsN-K	31.0	AcOEt
50	XsN-L	47.6	AcOEt-MeOH 8:2

FIGURA 12. ANÁLISIS PRELIMINAR POR SEPARACIÓN DE COMPUESTOS ÁCIDOS Y NEUTROS DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO DE LA ESPONJA FRESCA (XsFEP).



Pm = Peso muestra

La fracción XsN-B (407.3 mg, 37.2 %) resultó ser por medio del análisis de su espectro en el infrarrojo (IR) y resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ^1H) a 200 Mhz, una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos los cuales se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) (Figura 12).

La fracción XsN-D (60.3 mg, 5.5 %) se caracterizó por medio de su espectro en el IR y RMN ^1H a 200 MHz como una mezcla de ácidos grasos residuales.

La fracción XsN-E (262.6 mg, 24 %) resultó ser por medio de su espectro de RMN ^1H a 200 MHz y por su espectro de masas por impacto electrónico (EM-IE), una mezcla de esteroides en la cual el componente mayoritario se identificó como el clionasterol (LXXI) (Figura 12).

La fracción XsN-J (43.9 mg) se purificó por cromatografía en capa preparativa (CCP) de Sílica-Gel de 20 por 10 cm y 0.5 mm de espesor. Como sistema de elución se usó DCM-Acetona 9:1 y la placa se desarrolló dos veces (2x). Se obtuvo una banda que reveló de color azul con una solución ácida de sulfato cérico, la cual se extrajo con AcOEt. Posteriormente se eliminó el disolvente obteniéndose 11.8 mg (XsN-Ja) de un producto que por RMN ^1H a 200 MHz resultó ser una mezcla del 7α - y 7β -hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX) (Figura 12).

◦ Esterificación de la fracción ácida.

A 133 mg de los ácidos (XsA) obtenidos de la separación de ácidos y neutros, se disolvieron en 5 mL de éter etílico (Et_2O) y se les agregó una solución etérea de diazometano (CH_2N_2), obtenida a partir de 165 mg de *N*-nitroso-*N*-metilurea. Se dejó reposar durante 6 h, después de las cuales se eliminó el disolvente.

El resultado de la reacción (XsAMet) se purificó por cromatografía en columna (CC) sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (3.5 g de sílica, muestra preadsorbida, 7 cm X 1 cm de diámetro) usando EP y mezclas de éste con DCM como eluyentes en orden creciente de polaridad. La fracción eluída con EP-DCM 1:1, XsAMet-B (53 mg), se caracterizó por medio de su espectro de RMN ^1H a 200 MHz como una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos, los cuales se analizaron por CG/EM (Figura 12).

◦ Acetilación de la fracción XsN-E

De la fracción XsN-E se tomó una muestra de 89.9 mg, se disolvió en 0.5 mL de DCM y se le agregó piridina y de anhídrido acético (Ac_2O) (3 y 6 gotas respectivamente); se dejó reposar a temperatura ambiente y se siguió el curso de la reacción por cromatografía en capa fina (CCF). Cuando la reacción llegó a su término, se eliminó el exceso de reactivos por evaporación, mediante una corriente de nitrógeno (N_2).

El resultado de la reacción (XsN-EAc) se sometió a purificación por CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (3.5 g de sílica, aplicación directa, 6.1 cm X 1 cm de diámetro) eluyendo con EP, EP-DCM 1:1 y DCM, obteniendo un total de 9 fracciones

de 10 mL. En las fracciones eluidas con EP/DCM 1:1 se obtuvieron los acetatos correspondientes: XsN-EAcA (28.4 mg) y XsN-EAcB (21.6 mg), la primer fracción fue analizada también por CG/EM (Figura 12).

II. ANÁLISIS PRELIMINAR POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO DE LA ESPONJA FRESCA (XsFEP).

Una pequeña muestra (997.5 mg) de la fracción de éter de petróleo (XsFEP) se separó por CC de Sílica-Gel 60 Merck F-254 (13.4 g de Sílica, muestra preadsorbida, columna de 14 cm de alto por 1.5 cm de diámetro) eluyéndose con EP y mezclas de polaridad creciente de EP y AcOEt. Se obtuvieron 59 fracciones de 10 mL, las cuales se reunieron de acuerdo con la similitud de sus componentes analizados por cromatografía en capa fina (CCF) (Tabla 2, Figura 13).

Tabla 2. SEPARACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO DE LA ESPONJA FRESCA (XsFEP = 997.5 mg).

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO (mg)	ELUYENTE
8-9	XsFEP-A	301.2	EP-AcOEt 95:5
10-17	XsFEP-B	113.8	EP-AcOEt 95:5, EP-AcOEt 9:1
18-25	XsFEP-C	178.9	EP-AcOEt 9:1, EP-AcOEt 8:2
26-41	XsFEP-D	60.6	EP-AcOEt 8:2, EP-AcOEt 6:4
42-52	XsFEP-E	17.2	EP-AcOEt 6:4, EP-AcOEt 4:6, AcOEt
53-59	XsFEP-F	56.0	AcOEt, AcOEt-MeOH 8:2

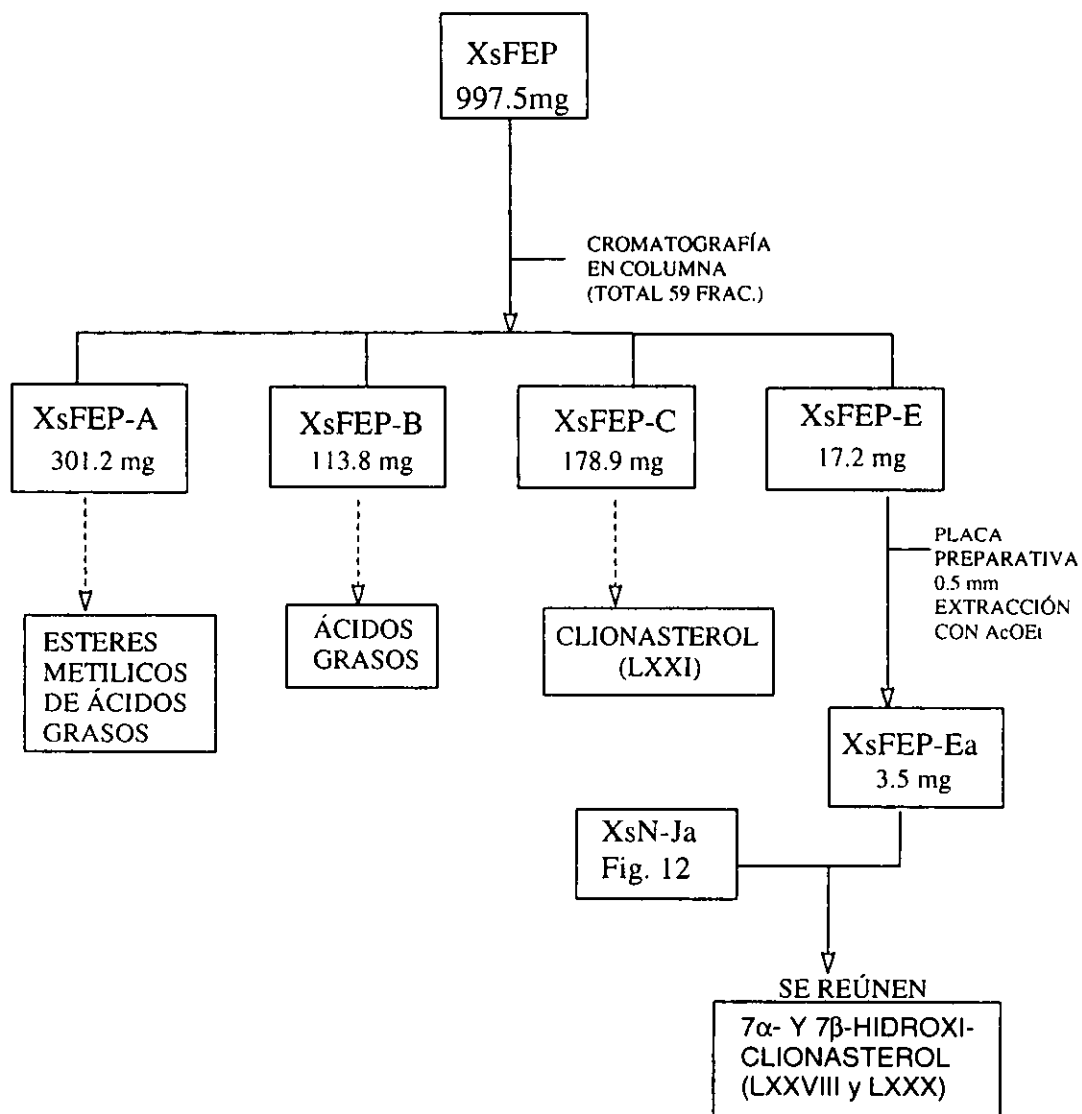
La fracción XsFEP-A (301.2 mg, 30.2 %) por medio del análisis de su espectro en el IR y RMN ¹H a 200 MHz, se caracterizó como una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos los cuales se analizaron por CG/EM.

La fracción XsFEP-B (113.8 mg, 11.4 %) resultó ser por medio de sus espectros en el IR y de RMN ¹H a 200 MHz una mezcla de ácidos grasos (Figura 13).

La fracción XsFEP-C (178.9 mg, 17.9 %), analizada espectroscópicamente resultó ser una mezcla de esteroides siendo el componente mayoritario el clionasterol (LXXI) (Figura 13).

La fracción XsFEP-E (17.2 mg, 1.72 %) se purificó por CCP (20 X 10 cm X 0.5 mm de espesor, sistema de elución DCM-A 7:3, 1x). La fracción de interés XsFEP-Ea (3.5 mg) resultó ser la mezcla del 7 α - y 7 β -hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX) (mancha azul), la cual se reunió con la obtenida en la fracción XsN-J (Figura 13).

FIGURA 13. ANÁLISIS PRELIMINAR POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNASOBRE SÍLICA GEL DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO (XsFEP).



III. SEPARACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DEL RESTO DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO DE LA ESPONJA FRESCA (XsFEP').

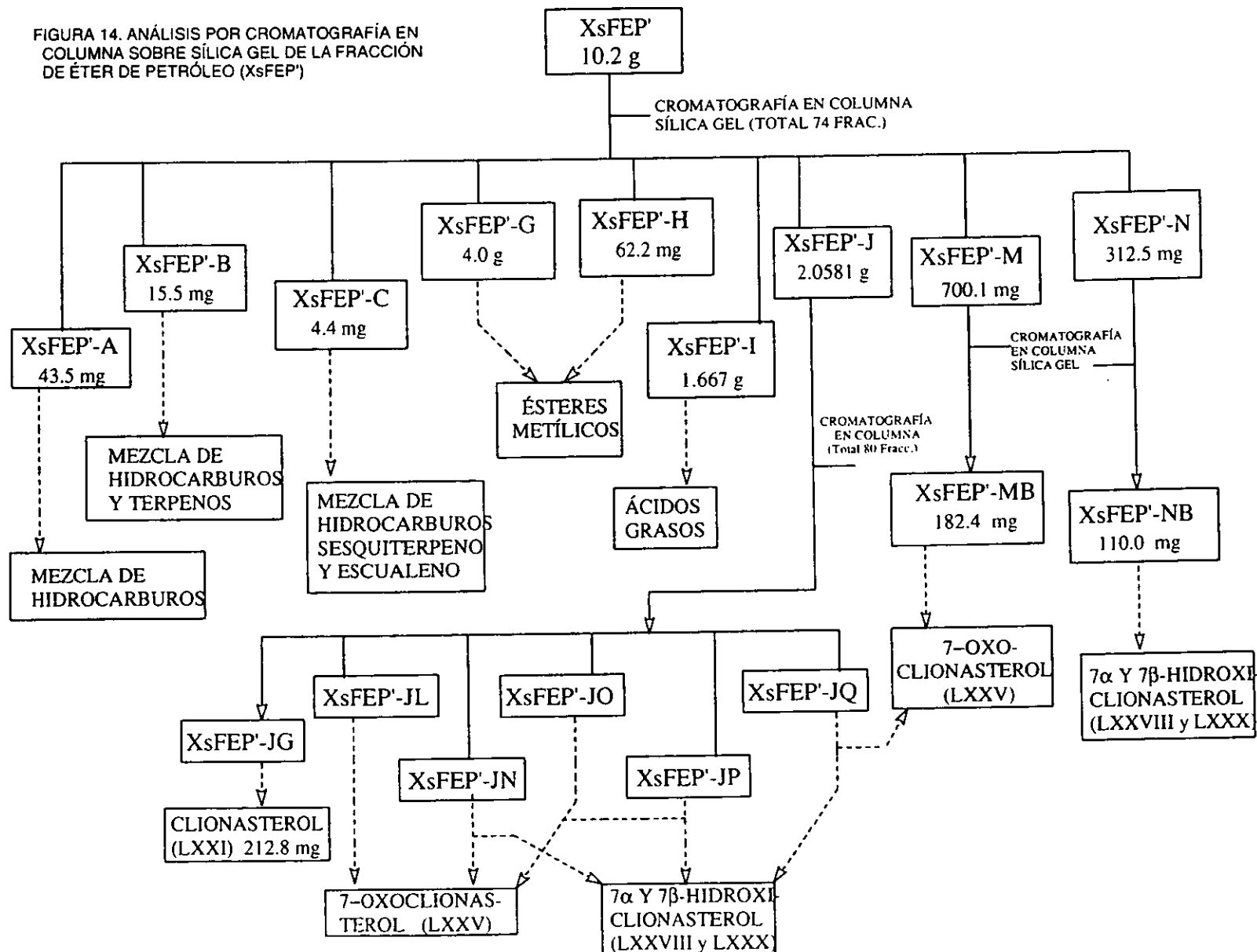
El resto de la fracción de éter de petróleo con un peso de 10.2 g (XsFEP') también se separó por CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (405 g de Sílica, muestra preadsorbida, 21 cm de alto por 5 cm de diámetro), se utilizaron como eluyentes EP y mezclas de polaridad creciente de EP-AcOEt (95:5, 9:1, 8:2, 6:4, y 4:6) y mezcla de AcOEt-MeOH 8:2 y por último acetona (A). Se obtuvieron 74 fracciones de 150 mL, las cuales se reunieron de acuerdo con la similitud de sus componentes analizados por CCF como se muestra en la tabla 3 (Figura 14).

Tabla 3. SEPARACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO DE LA ESPONJA FRESCA (XsFEP' = 10.2 g).

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO	ELUYENTE
1-2	XsFEP'-A	43.5 mg	EP
3	XsFEP'-B	15.5 mg	EP
4	XsFEP'-C	4.4 mg	EP-AcOEt 95:5
5	XsFEP'-D	0.9 mg	EP-AcOEt 95:5
6	XsFEP'-E	1.7 mg	EP-AcOEt 95:5
7	XsFEP'-F	2.1 mg	EP-AcOEt 95:5
8-9	XsFEP'-G	4.0038 g	EP-AcOEt 95:5
10	XsFEP'-H	62.2 mg	EP-AcOEt 95:5
11-21	XsFEP'-I	1.667g	EP-AcOEt 95:5, EP-AcOEt 9:1
22-28	XsFEP'-J	2.3842 g	EP-AcOEt 9:1, EP-AcOEt 8:2
29-31	XsFEP'-K	289.3 mg	EP-AcOEt 8:2
32-34	XsFEP'-L	104.1 mg	EP-AcOEt 8:2
35-48	XsFEP'-M	700.1 mg	EP-AcOEt 8:2, EP-AcOEt 6:4
49-61	XsFEP'-N	312.5 mg	EP-AcOEt 6:4, EP-AcOEt 4:6, AcOEt
62-64	XsFEP'-O	224.2 mg	AcOEt
65-66	XsFEP'-P	46.7 mg	AcOEt
67-69	XsFEP'-Q	45.8 mg	AcOEt, AcOEt-MeOH 8:2
70-71	XsFEP'-R	177.6 mg	AcOEt, AcOEt-MeOH 8:2
72-74	XsFEP'-S	86.1 mg	AcOEt, AcOEt-MeOH 8:2, A

Las fracciones XsFEP'-A (43.5 mg, 0.43 %), XsFEP'-B (15.5 mg, 0.15 %) y XsFEP'-C (4.4 mg, 0.04 %) una vez analizadas por medio de sus espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ¹H) a 200 MHz se catalogaron como mezclas de hidrocarburos las cuáles se analizaron individualmente por CG/EM. En las dos últimas fracciones se detectó la presencia de posibles compuestos terpenoides (Figura 14).

FIGURA 14. ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA SOBRE SÍLICA GEL DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO (XsFEP')



Las fracciones XsFEP'-G (4.004 g, 39.25 %) y XsFEP'-H (62.2 mg, 0.61 %) resultaron ser, de acuerdo con sus datos espectroscópicos en el IR y de RMN ¹H a 200 MHz, ésteres metílicos de ácidos grasos, los cuales posteriormente se analizaron por separado por CG/EM.

La fracción XsFEP'-I fue analizada de manera similar y se caracterizó como una mezcla de ácidos grasos (16.28 %).

La fracción XsFEP'-J (2.384 g, 23.37 %) por medio de su espectro de RMN ¹H a 200 MHz resultó ser una mezcla de esteroides; de esta fracción se tomaron 2.058 g y se sometieron a recromatografía en columna (ver más adelante).

La fracción XsFEP'-M (700.1 mg, 6.86%) se sometió a recromatografía en columna sobre Silica-Gel 60 Merck F-254 (12.2 g de sílica, muestra preadsorbida, 8.7 cm X 2 cm de diámetro) eluyéndose con DCM y mezclas de DCM-A de polaridad creciente. La fracción eluída con DCM-A 98:2, XsFEP'-MB (182.4 mg) se identificó por CCF como el 7-oxoclonasterol (LXXV) (mancha de color amarillo).

La fracción XsFEP'-N (312.5 mg, 3.06 %) se purificó de manera similar obteniéndose 110 mg del 7 α - y 7 β -hidroxiclonasterol (LXXVIII y LXXX) (mancha azul en CCF).

◦ Separación por recromatografía en columna de la fracción XsFEP'-J.

De la fracción XsFEP'-J se tomaron 2.058 g los cuales se sometieron a recromatografía en una columna de Silica-Gel 60 Merck F-254 (20.5 g de sílica, la muestra preadsorbida, 10.2 cm X 1.5 cm de diámetro), utilizándose como eluyentes EP y mezclas de EP-DCM 1:1, DCM y DCM-A 99:1, 98:2, 96:4, 9:1, 8:2, 6:4, 2:8 y A. Se obtuvieron 80 fracciones de 50 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo con la similitud de su composición analizadas por CCF (Tabla 4, Figura 14).

Tabla 4. SEPARACIÓN POR RECROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO XsFEP'-J (2.058 g) OBTENIDA DE LA COLUMNA PRIMARIA DE LA ESPONJA FRESCA.

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO (mg)	ELUYENTE
1-3	XsFEP'-JA	2.5	EP
4-5	XsFEP'-JB	2.6	EP, EP-DCM 1:1
6	XsFEP'-JC	10.2	EP-DCM 1:1
7-8	XsFEP'-JD	43.5	EP-DCM 1:1
9	XsFEP'-JE	38.9	EP-DCM 1:1
10-11	XsFEP'-JF	217.6	EP-DCM 1:1, DCM
12	XsFEP'-JG	371.5	DCM
13	XsFEP'-JH	48.6	DCM
14-15	XsFEP'-JI	26.4	DCM

CONTINUACIÓN

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO	ELUYENTE
16-18	XsFEP'-JJ	40.7	DCM, DCM-A 99:1
19-20	XsFEP'-JK	72.5	DCM-A 99:1
21-28	XsFEP'-JL	160.3	DCM-A 99:1, DCM-A 98:2
29	XsFEP'-JM	35.3	DCM-A 98:2
30-32	XsFEP'-JN	110.3	DCM-A 98:2
33-35	XsFEP'-JO	70.8	DCM-A 98:2, DCM-A 96:4
36-37	XsFEP'-JP	43.2	DCM-A 96:4
38-46	XsFEP'-JQ	53.3	DCM-A 96:4
47	XsFEP'-JR	4.8	DCM-A 9:1
48-53	XsFEP'-JS	112.6	DCM-A 9:1, DCM-A 8:2
54-56	XsFEP'-JT	70.8	DCM-A 8:2
57-60	XsFEP'-JU	32.7	DCM-A 8:2
61-62	XsFEP'-JV	26.4	DCM-A 8:2, DCM-A 6:4
63-64	XsFEP'-JW	78.8	DCM-A 6:4
65-68	XsFEP'-JX	36.7	DCM-A 6:4
69-73	XsFEP'-JY	34.3	DCM-A 6:4, DCM-A 2:8
74-80	XsFEP'-JZ	15.6	DCM-A 2:8, A

La fracción XsFEP'-JG (371.5 mg) de la anterior recromatografía, se cristalizó de DCM-MeOH obteniéndose el cionasterol (LXXI) como un sólido (212.8 mg) de punto de fusión (pf.) 134-136° y un índice de rotación óptica $[\alpha]_D -31.7^\circ$, determinado en cloroformo (CHCl₃). Se obtuvo una segunda cosecha del compuesto por recristalización de las aguas madres que pesó 70.1 mg.

La fracción XsFEP'-JL (160.3 mg) fue lo suficientemente homogénea para ser analizada en RMN ¹H (200 y 500 MHz) y RMN ¹³C (50 ó 125 MHz); así como en el IR y en espectrometría de masas por IE. Los resultados permitieron la identificación del 7-oxocionasterol (LXXV) (Figura 14), dicho compuesto se observó como una mancha de color amarillo en CCF al revelarse con una solución ácida de sulfato cérico y el cual presentó pf. 100-105° y $[\alpha]_D -46^\circ$.

La fracción XsFEP'-JN (110.3 mg) se sometió a recromatografía en columna de Silica-Gel 60 Merck F-254 (18.4 g de sílica, aplicación directa, 12.5 cm X 2.5 cm de diámetro), utilizándose como eluyentes DCM y mezclas de DCM-A de polaridad creciente. Posteriormente las fracciones eluidas con DCM-A 99:1 y 98:2 (XsFEP'-JNC = 30.7 mg) se separaron por CCP (10 X 20 X 0.5 mm, DCM-A 9:1, 4x) se logró obtener dos fracciones de interés las cuales se extrajeron con DCM-A 3:1. La fracción menos polar (XsFEP'-JNCa, 12.7 mg) fue identificada por CCF como el 7-oxocionasterol (LXXV) (mancha de color amarillo); en tanto que la fracción más polar (XsFEP'-JNCc, 0.9 mg) se identificó por CCF como el 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) (mancha de color azul). Este último (2 mg) también se obtuvo por CCP (10 X 20 X 0.25 mm, DCM-A 9:1, 5x) de la fracción XsFEP'-JND (12.7 mg, eluida con DCM-A 96:4 y 9:1).

La fracción XsFEP'-JO (70.8 mg) se purificó de manera similar a la anterior, proporcionando pequeñas cantidades adicionales de 7-oxoclicionasterol (LXXV) (14.3 mg) (Figura 14).

Las fracciones XsFEP'-JP (37.7 mg, 1.83%) y XsFEP'-JQ (63.4 mg, 3.07%) se purificaron por CCP (10 X 20 X 0.5 mm, DCM-A 9:1, 3x y 4x respectivamente), y también se logró obtener pequeñas cantidades tanto del 7-oxoclicionasterol (LXXV) (XsFEP'-JPb=0.5 mg y XsFEP'-JQb=7.0 mg) como del 7 α - y 7 β -hidroxiclicionasterol (LXXVIII y LXXX) (XsFEP'-JPf =4.7 mg y XsFEP'-JQe=19.6 mg) (Figura 14).

Las fracciones XsFEP'-JPb y XsFEP'-JQb se reunieron con la fracción XsFEP'-JNCa y se marcaron con la clave Xs7OC (7-oxoclicionasterol LXXV) para realizar estudios de RMN.

En tanto que las fracciones XsFEP'-JPf y XsFEP'-JQe se reunieron con las fracciones XsFEP'-JNCc y XsFEP'-JNDc y se nombraron como Xs7HC (7 α - y 7 β -hidroxiclicionasterol, LXXVIII y LXXX); una vez reunidas (27 mg) se sometieron a purificación por CCP (10 X 20 X 0.5 mm, DCM-A 9:1, 3x) obteniéndose dos fracciones de interés Xs7HC-a (10.7 mg) y Xs7HC-b (19.7 mg). El 7 α - y 7 β -hidroxiclicionasterol se obtuvo en la fracción Xs7HC-b como un sólido de pf. 136-137° y $[\alpha]_D$ -46°. La fracción menos polar se caracterizó como un producto de descomposición por oxidación del anterior el cual no se pudo identificar.

A.b. Esponja seca :

A.b.1. Extracto de éter de petróleo (XsSEP).

El extracto de EP obtenido por percolación de la esponja seca (XsS = 263.4 g peso seco; XsSEP = 1.719 g) se separó por CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (50 g de sílica, muestra preadsorbida, columna de 12.5 cm de alto por 4 cm de diámetro) eluyéndose con EP y mezclas de polaridad creciente de EP-AcOEt y AcOEt-MeOH. Se obtuvieron 72 fracciones de 100 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo con la similitud de sus componentes analizados por CCF (Tabla 5, Figura 15).

Tabla 5. SEPARACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DEL EXTRACTO DE ÉTER DE PETRÓLEO OBTENIDO POR PERCOLACIÓN DE LA ESPONJA SECA (XsSEP = 1.7 g).

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO (mg)	ELUYENTE
1-3	XsSEP-A	12.8	EP
4-6	XsSEP-B	***	EP, EP-AcOEt 95:5
7-9	XsSEP-C	114.7	EP-AcOEt 95:5
10-13	XsSEP-D	187.1	EP-AcOEt 95:5
14-16	XsSEP-E	65.3	EP-AcOEt 95:5

CONTINUACIÓN

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO	ELUYENTE
17-23	XsSEP-F	570.6	EP-AcOEt 95:5
24-29	XsSEP-G	77.1	EP-AcOEt 95:5, EP-AcOEt 8:2
30-31	XsSEP-H	38.6	EP-AcOEt 8:2
32-35	XsSEP-I	58.0	EP-AcOEt 8:2
36-37	XsSEP-J	18.8	EP-AcOEt 8:2
38-39	XsSEP-K	38.9	EP-AcOEt 8:2
40-43	XsSEP-L	64.4	EP-AcOEt 8:2, EP-AcOEt 4:6
44	XsSEP-M	47.2	EP-AcOEt 4:6
45-48	XsSEP-N	49.7	EP-AcOEt 4:6
49-53	XsSEP-O	52.5	EP-AcOEt 4:6, AcOEt
54-56	XsSEP-P	11.2	AcOEt
57-63	XsSEP-Q	14.4	AcOEt
64-72	XsSEP-R	78.3	AcOEt-MeOH 8:2, AcOEt-MeOH 6:4

***Peso no determinado.

La fracción XsSEP-C (114.7 mg, 6.7 %) resultó ser por medio de su espectro de RMN ¹H a 200 MHz como mezcla de ésteres grasos de esteroides. Esta fracción se sometió a recromatografía en columna de Sílica-Gel 60 Merck F-254 (6 g de sílica, preadsorción, 7 cm X 2 cm de diámetro) utilizándose como eluyente EP y mezclas de EP-AcOEt de polaridad creciente.

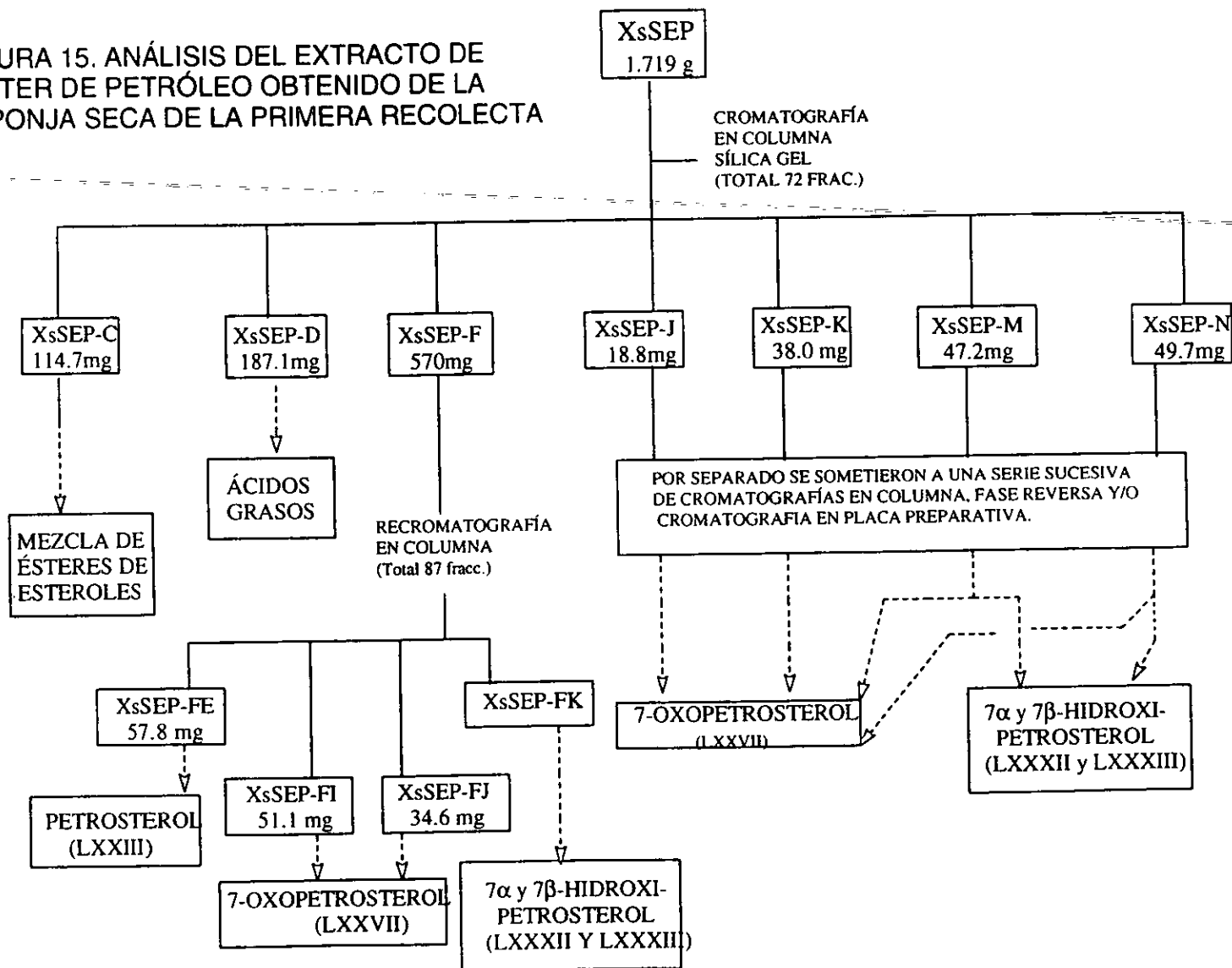
La fracción XsSEP-D (187.1 mg, 11 %) por medio de sus espectros en el IR y de RMN ¹H a 200 Mhz, resultó ser una mezcla de ácidos grasos.

La fracción XsSEP-F (570.6 mg, 33.56 %) se analizó espectroscópicamente y se caracterizó como una mezcla de esteroides que se purificó por recromatografía en columna (ver más adelante).

Las fracciones XsSEP-J (18.8 mg), XsSEP-K (38.9 mg), XsSEP-M (47.2 mg) y XsSEP-N (49.7 mg) se sometieron cada una por separado para su purificación a una serie de cromatografías tanto en columna fase reversa C₁₈ (CCRev) (aplicación directa, capacidad de 3 mL) como de fase normal sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 y cromatografía en capa fina preparativa. Finalmente se obtuvieron 4.7 mg del 7-oxopetrosterol (LXXVII).

Las fracciones XsSEP-M y XsSEP-N proporcionaron además 6.2 mg y 15.1 mg respectivamente del 7 α - y 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII).

FIGURA 15. ANÁLISIS DEL EXTRACTO DE ÉTER DE PETRÓLEO OBTENIDO DE LA ESPONJA SECA DE LA PRIMERA RECOLECTA



◦Separación por recromatografía en columna de la fracción XsSEP-F.

La fracción XsSEP-F (570.6 mg) se sometió a recromatografía en columna de Sílica-Gel 60 Merck F-254 (22.8 g de sílica, muestra preadsorbida, 7.5 cm X 3 cm de diámetro) utilizándose como eluyente EP y mezclas de EP-DCM (1:1), DCM, mezclas de DCM-A (99:1, 98:2, 96:4, 9:1, 8:2, 6:4 y 4:6), acetona y mezclas de acetona-MeOH (8:2). Se obtuvieron 87 fracciones de 100 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo con la similitud de sus componentes analizados por CCF (Tabla 6, Figura 15).

De la fracción XsSEP-FE (57.8 mg) después de purificarse por CCP (10 X 20 cm X 1 mm, DCM-A 98:2, 3x) y cristalizarse de DCM-MeOH, se logró obtener 50.9 mg de un sólido de pf. 115-117° y $[\alpha]_D -27.11^\circ$, el cual fue identificado espectroscópicamente como petrosterol (LXXIII).

Tabla 6. SEPARACIÓN POR RECROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO OBTENIDA DE LA COLUMNA PRIMARIA DE LA ESPONJA SECA XsSEP-F (570.6 mg).

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO (mg)	ELUYENTE
1-5	XsSEP-FA	2.1	EP
6	XsSEP-FB	2.2	EP-DCM 1:1
7-8	XsSEP-FC	3.5	EP-DCM 1:1
9-10	XsSEP-FD	1.4	EP-DCM 1:1
11-12	XsSEP-FE	57.8	DCM
13-14	XsSEP-FF	2.5	DCM
15-19	XsSEP-FG	10.1	DCM, DCM-A 99:1
20-24	XsSEP-FH	10.5	DCM-A 99:1, DCM-A 98:2
25-26	XsSEP-FI	51.1	DCM-A 98:2
27-32	XsSEP-FJ	34.6	DCM-A 98:2
33-35	XsSEP-FK	35.7	DCM-A 96:4
36-44	XsSEP-FL	22.7	DCM-A 96:4, DCM-A 9:1
45-48	XsSEP-FM	18.9	DCM-A 9:1
49-52	XsSEP-FN	29.4	DCM-A 8:2
53-60	XsSEP-FO	17.7	DCM-A 8:2
61-74	XsSEP-FP	24.1	DCM-A 6:4, DCM-A 4:6
75-87	XsSEP-FQ	19.5	DCM-A 4:6, A, A-MeOH 8:2

Las fracciones XsSEP-FI (51.1 mg) y XsSEP-FJ (34.6 mg) se separaron por CCP (10 X 20 X 0.5 mm, eluyendo con DCM-A 9:1, 2x y EP-A 7:3, 3x respectivamente) proporcionando 43.7 mg y 9.8 mg de un producto que revela como una mancha de color amarillo con una solución ácida de sulfato cérico. Este producto presentó pf. 116-117° y $[\alpha]_D -77.56^\circ$ y se identificó espectroscópicamente como el 7-oxopetrosterol (LXXVII).

De la fracción XsSEP-FK (35.7 mg) se obtuvo por CCP (10 X 20 X 1 mm, DCM-MeOH 95:5, 4x) 32.5 mg de un producto de pf. 122-124° y $[\alpha]_D -7.54^\circ$, éste se observó como una mancha de color azul al ser revelada con una solución ácida de sulfato cérico y fue identificado espectroscópicamente como el 7 α - y 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII).

A.b.2. Extracto de acetato de etilo (XsSAcOEt).

Del extracto de acetato de etilo obtenido de la percolación de la esponja seca (XsSAcOEt = 452.1 mg) se tomaron 433.3 mg y se separaron por CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (20 g de sílica, muestra preadsorbida, 8 cm X 2.5 cm de diámetro) utilizándose como eluyentes EP, DCM, mezclas de DCM-A (95:5, 9:1, 8:2, 6:4, 4:6), mezclas de A-MeOH 8:2 y MeOH.

Las fracciones XsSAcOEt-D (19.6 mg) y XsSAcOEt-F (22.1 mg) eluidas con DCM-A 95:5 y 9:1 y con DCM-A 9:1 respectivamente, después de purificarse por cromatografía en columna fase reversa (CCRev) (aplicación directa, 3 mL) y posteriormente por CC de Sílica-Gel 60 Merck F-254 se obtuvieron 2.3 mg del 7-oxopetrosterol (LXXVII). Así mismo, se obtuvo de la fracción XsSAcOEt-F, 3.7 mg del 7 α - y 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII).

B. Segunda recolecta.

B.a. Esponja fresca:

Las fracciones de EP, DCM y AcOEt obtenidas por partición del extracto metanólico de la esponja fresca de la segunda recolecta se reunieron (Xs2FEP = 3.603 g) (Figura 11). De esta fracción total se tomaron 3.454 g, los cuales se separaron por medio de CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (74 g de sílica, muestra preadsorbida, 8 cm X 3.5 cm de diámetro) utilizándose como eluyente EP, mezclas de éste con AcOEt (95:5, 9:1, 8:2, 6:4 y 4:6), AcOEt, mezclas de AcOEt-MeOH 8:2 y finalmente MeOH. Se obtuvieron un total de 90 fracciones de 150 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo con la similitud de sus componentes por CCF (Tabla 7, Figura 16).

Tabla 7. SEPARACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN OBTENIDA POR PARTICIÓN DE LA ESPONJA FRESCA (Xs2FEP = 3.454 g).

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO	ELUYENTE
1-3	Xs2FEP-A	11.7 mg	EP
4-8	Xs2FEP-A	1.6 mg	EP
9	Xs2FEP-C	0.4 mg	EP-AcOEt 95:5
10	Xs2FEP-D	885.9 mg	EP-AcOEt 95:5

CONTINUACIÓN

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO	ELUYENTE
11-12	Xs2FEP-E	31.9 mg	EP-AcOEt 95:5
13-20	Xs2FEP-F	89.8 mg	EP-AcOEt 95:5
21-24	Xs2FEP-G	1.0264 g	EP-AcOEt 9:1
25-36	Xs2FEP-H	211.7 mg	EP-AcOEt 9:1, EP-AcOEt 8:2
37-50	Xs2FEP-I	215.7 mg	EP-AcOEt 8:2
51-56	Xs2FEP-J	109.1 mg	EP-AcOEt 8:2, EP-AcOEt 6:4
57-62	Xs2FEP-K	67.1 mg	EP-AcOEt 6:4
63-71	Xs2FEP-L	128.2 mg	EP-AcOEt 6:4, EP-AcOEt 4:6
72-76	Xs2FEP-M	61 mg	EP-AcOEt 4:6, AcOEt
77-79	Xs2FEP-N	39 mg	AcOEt
80-84	Xs2FEP-O	159.5 mg	AcOEt, AcOEt-MeOH 8:2
85-88	Xs2FEP-P	***	AcOEt-MeOH 8:2
89-90	Xs2FEP-Q	380.6 mg	MeOH

***Peso no determinado.

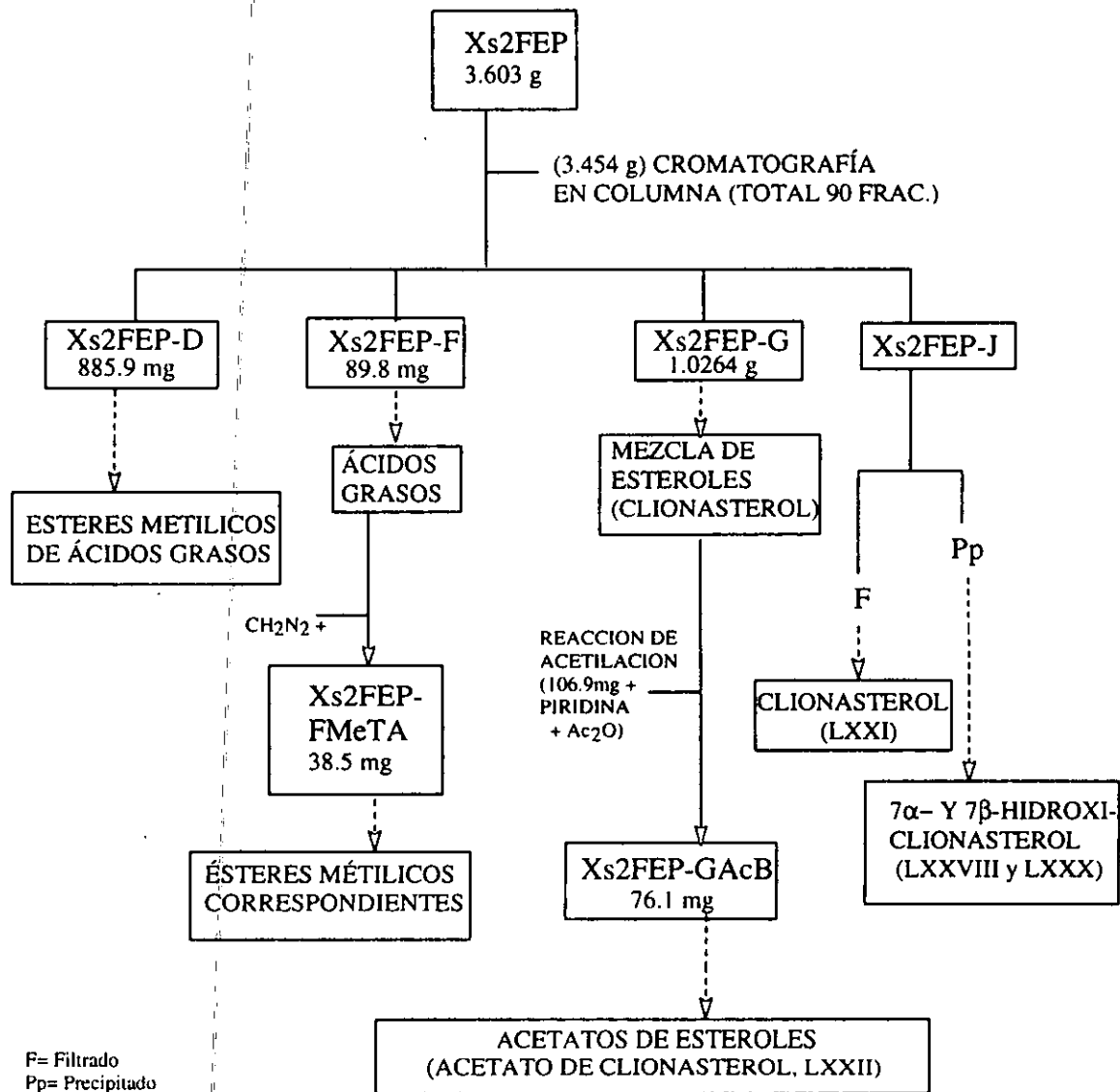
La fracción Xs2FEP-D (885.9 mg, 25.65 %) resultó ser por su espectro de RMN ¹H a 200 Mhz, una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos que se sometió a análisis por CG/EM (Figura 16).

La fracción Xs2FEP-F (89.8 mg, 2.60 %) se comparó por CCF con la fracción XsA y, se caracterizó como una mezcla de ácidos grasos, los cuales se sometieron a una reacción de esterificación utilizando una solución etérea de diazometano (CH₂N₂) durante 24 h a temperatura ambiente; posteriormente se purificó por medio de una percolación en columna (1 g de sílica, aplicación directa de la muestra, de 3 cm de alto X 9.9 cm de diámetro) eluyendo con EP obteniéndose la mezcla de los ésteres metílicos correspondientes (Xs2FEP-FMetA = 38.5 mg), la cual se sometió a análisis por CG/EM (Figura 16).

La fracción Xs2FEP-G (1.0264 g, 29.72 %) se caracterizó por CCF como una mezcla de esteroides de la cual se tomaron 106.9 mg para realizar una reacción de acetilación (10 gotas de Ac₂O + 5 gotas de piridina). El resultado de la reacción Xs2FEP-GAc se sometió a percolación para purificarse eluyendo con EP y mezclas de EP-DCM de polaridad creciente; así la fracción Xs2FEP-GAcB (76.1 mg) eluída con EP-DCM 1:1, correspondió a la mezcla de los acetatos correspondientes que se analizó posteriormente por CG/EM. Además se realizó un estudio comparativo entre las fracciones Xs2FEP-G y XsFEP'-JG de RMN ¹H a 500 MHz.

La fracción Xs2FEP-J (109.1 mg, 3.16 %) formó un precipitado que se filtró (103.9 mg) y se identificó por RMN ¹H a 200 MHz y CCF como el 7α- y 7β-hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) ya antes encontrado en otras fracciones.

FIGURA 16. ANÁLISIS DEL EXTRACTO DE ÉTER DE PETRÓLEO OBTENIDO DE LA ESPONJA FRESCA DE LA SEGUNDA RECOLECTA (Xs2FEP).



B.b. Esponja seca:

Los extractos de EP, DCM y AcOEt obtenidos por percolación de la esponja seca y molida de la segunda recolecta (Xs2S = 432.5 g peso seco) (figura 11) se reunieron (Xs2SEP = 9.337), de esta fracción total se tomaron 7.025 g y se sometieron a CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (140.5 g de sílica, muestra preadsorbida, 14.5 cm X 5.5 cm de diámetro) eluyéndose con EP, mezclas de polaridad creciente de EP-AcOEt (9:1, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8), AcOEt, mezclas de AcOEt-MeOH (8:2 y 6:4) y MeOH.

Se obtuvieron un total de 125 fracciones de 200 mL cada una, las cuales se reunieron de acuerdo con la similitud de sus componentes por CCF (Tabla 8, Figura 17).

Tabla 8. SEPARACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN OBTENIDA POR PERCOLACIÓN DE LA ESPONJA SECA (Xs2SEP = 7.0248 g).

ELUATOS	CLAVE DE LA FRACCIÓN	PESO	ELUYENTE
1	Xs2SEP-A	7.9 mg	EP
2-3	Xs2SEP-B	19.3 mg	EP
4-8	Xs2SEP-C	5.4 mg	EP
9-12	Xs2SEP-D	840 mg	EP
13-14	Xs2SEP-E	34 mg	EP
15-19	Xs2SEP-F	746.9 mg	EP
20-29	Xs2SEP-G	3.0761 g	EP
30-38	Xs2SEP-H	32.3 mg	EP, EP-AcOEt 9:1
39-61	Xs2SEP-I	215.3 mg	EP-AcOEt 9:1, EP-AcOEt 8:2
62-85	Xs2SEP-J	303.6 mg	EP-AcOEt 8:2, EP-AcOEt 6:4, EP-AcOEt 4:6
86-90	Xs2SEP-K	70.1 mg	EP-AcOEt 4:6
91-98	Xs2SEP-L	308.9 mg	EP-AcOEt 2:8, AcOEt
99-106	Xs2SEP-M	63.8 mg	AcOEt
107-113	Xs2SEP-N	588.5 mg	AcOEt-MeOH 8:2
114-125	Xs2SEP-O	449.9 mg	AcOEt-MeOH 6:4, AcOEt-MeOH 4:6, MeOH

Las fracciones Xs2SEP-A (7.9 mg, 0.11 %) y Xs2SEP-B (19.3 mg, 0.27 %) se analizaron por RMN ¹H y/o CG/EM permitiendo determinar la presencia de hidrocarburos y de posibles compuestos terpenoides (Figura 17).

La fracción Xs2SEP-D (840 mg, 11.96%) eluida también con EP, resultó ser por medio de su espectro de RMN ¹H a 200 Mhz, una mezcla de ésteres grasos de esteroides que se purificó por medio de CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (25.7 g de sílica, muestra preadsorbida, 8 cm X 3 cm de diámetro) eluyéndose con EP y mezclas

de polaridad creciente de EP y DCM. Seguido de CCP (20 cm X 20 cm X 2 mm de espesor, DCM-EP 55:45; 10 cm X 20 cm X 2 mm, CHCl₃-EP 1:1 y 10 X 20 X 2 mm, CHCl₃-EP 1:1 respectivamente, 1x); obteniéndose 289.8 mg de la mezcla de esteroides esterificados con ácidos grasos (Figura 17).

La fracción Xs2SEP-F (746.9 mg, 10.63 %) eluída con EP se caracterizó por medio de sus espectros en el IR y de RMN ¹H a 200 MHz como una mezcla de ácidos grasos.

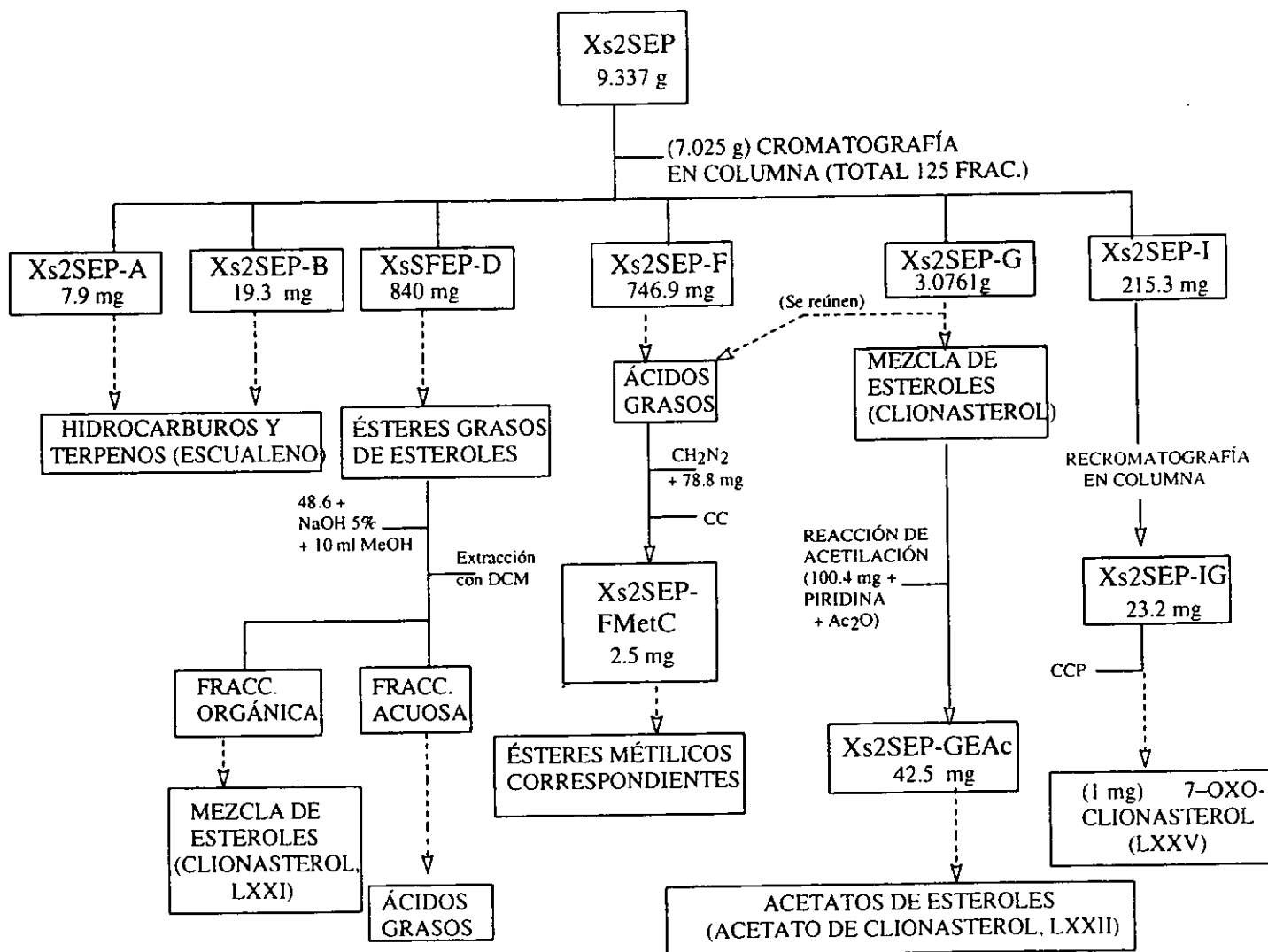
La fracción Xs2SEP-G (3.0761 g, 43.8 %) se sometió a recromatografía en columna sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (61.5 g de sílica, muestra preadsorbida, 15 cm X 3.5 cm de diámetro) utilizando como eluyente EP y mezclas de EP y DCM de polaridad creciente.

La fracción Xs2SEP-GD (615.5 mg) eluída con EP-DCM 1:1, resultó ser una mezcla de ácidos grasos por lo que esta fracción se reunió con la fracción primaria Xs2SEP-F (746.9 mg) (Figura 17). De esta fracción total se tomaron 78.8 mg que se esterificaron con CH₂N₂, posteriormente la mezcla de ésteres metílicos obtenidos se purificó por CC Sílica-Gel 60 Merck F-254 (5 g de sílica, muestra preadsorbida, 1.6 cm X 6 cm de diámetro) eluyendo con EP y mezclas de EP-DCM de polaridad creciente, en donde la fracción Xs2SEP-FMetC (2.5 mg) eluída con EP-DCM 95:5 y 9:1 correspondió a la mezcla de ésteres metílicos que fue analizada también por CG/EM.

En la fracción Xs2SEP-GE (1.072 g) eluída con EP-DCM 1:3 se observó por CCF la presencia de esteroides, por lo que se tomaron 100.4 mg de esta fracción y se acetilaron (10 gotas de Ac₂O + 5 gotas de piridina). El resultado de la reacción se purificó por percolación eluyendo con EP y mezclas de éste con DCM de polaridad creciente; la fracción Xs2SEP-GEAc (42.5 mg) correspondió a los acetatos de los esteroides respectivos los cuales se analizaron por CG/EM y por RMN ¹H a 500 MHz (Figura 17). La fracción Xs2SEP-GE también se analizó de manera comparativa por RMN ¹H a 500 MHz con la fracción XsFEP'-JG.

La fracción Xs2SEP-I (215.3 mg, 3.06 %) (Tabla 8) se sometió a recromatografía en columna sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (15 g de sílica, muestra preadsorbida, 7.5 cm X 3 cm de diámetro) utilizando como eluyentes EP, DCM y acetona y mezclas de éstos de polaridad creciente. La fracción Xs2SEP-IG (23.2 mg) se sometió a CCP (10 X 20 X 0.25 mm, DCM-A 9:1, 2x) obteniéndose 1 mg de 7-oxoclonasterol (LXXV) (Figura 16), el cual se identificó por comparación con el compuesto ya antes identificado en el material de la primera recolecta Xs7OC (XsFEP'-J, XsFEP'-M y XsFEP'-N).

FIGURA 17. ANALISIS DEL EXTRACTO DE ÉTER DE PETRÓLEO OBTENIDO DE LA ESPONJA SECA DE LA SEGUNDA RECOLECTA (Xs2SEP).



IV. REACCIONES Y DERIVADOS.

◦ Acetilación del clionasterol (LXXI).

Se tomó una muestra de clionasterol (26.8 mg) y se le añadió anhídrido acético (Ac_2O) y piridina (5 y 2 gotas respectivamente), la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente y se siguió el curso de la reacción por CCF. Una vez finalizada la reacción se eliminó el exceso de reactivos mediante una corriente de nitrógeno (N_2). El residuo obtenido se cristalizó en DCM-MeOH obteniéndose el acetato correspondiente (LXXII) como un sólido (XsFEP'-JGAc) de pf. 140-141° (pf. registrado 140-141°; DPN, 1996). Este acetato se analizó por CG/EM y por espectroscopia de RMN ^1H a 300 MHz, ^{13}C a 75 MHz, COSY, DEPT y HETCOR.

◦ Acetilación del 7-oxoclionasterol (LXXV).

El 7-oxoclionasterol (LXXV) obtenido de la fracción XsFEP'-JO (14.3 mg) se sometió a reacción de acetilación (5 gotas de Ac_2O + 2 gotas de piridina), obteniendo el acetato correspondiente el cual tuvo que ser purificado nuevamente por CCP (10 X 20 X 0.25 mm, EP-AcOEt 8:2, 2x). Se logró obtener un total de 8 mg de acetato del 7-oxoclionasterol (LXXV); éste fue analizado por RMN ^1H a 200 y 500 MHz, ^{13}C a 125 MHz, DEPT, COSY, HMBC y HMQC.

◦ Acetilación del 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX).

De la mezcla del 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) obtenido de la fracción XsFEP'-N se tomaron 52.4 mg y se sometieron a reacción de acetilación (10 gotas de Ac_2O + 3 gotas de piridina) durante 24 h a temperatura ambiente, posteriormente, el resultado de la reacción se purificó por CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (4.1 g de sílica, muestra preadsorbida, 9 cm X 1 cm de diámetro) utilizándose como eluyente EP y mezclas de EP-DCM de polaridad creciente. La fracción eluida con EP-DCM 1:1 (XsFEP'-NCAcD) contenía los diacetatos del 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXIX y LXXXI), los cuales se analizaron por RMN ^1H a 200 MHz y por CG/EM.

◦ Oxidación del 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX)

con cromoclorato de piridonio.

De la mezcla del 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) obtenido de la fracción Xs7HC-b se tomaron 6.1 mg y se disolvieron en 3 mL de acetona y se agregó un total de 37.3 mg de cromoclorato de piridonio y se mantuvo durante 72 h en agitación constante (1er. día 12.7 mg de reactivo, 2o. día 12.8 mg y 3er. día 11.8 mg). El curso de la reacción se siguió por CCF. Posteriormente la mezcla de reacción se filtró, se eliminó el disolvente y el producto de reacción se purificó por CCP (20 X 20 X

0.5 mm, DCM-A 9:1, 3x) obteniéndose el 7-oxoclonasterol (LXXV) y otro compuesto semejante a la fracción Xs7HC-a que no fue identificado.

◦ Acetilación del petrosterol (LXXIII).

Se tomó una muestra de petrosterol (LXXIII) (10 mg) y se sometió a condiciones de acetilación (4 gotas de Ac_2O + 2 gotas de piridina), después de eliminar el exceso de reactivo se obtuvo el acetato de petrosterol (LXXIV) de pf. $109-110^\circ$ y $[\alpha]_D -40.38^\circ$. El producto obtenido se analizó por CG/EM.

◦ Hidrólisis alcalina de la mezcla de ésteres grasos de esteroides obtenida de la esponja seca de la segunda recolecta (Xs2SEP-D).

Una muestra de los ésteres grasos de esteroides (48.6 mg) obtenidos de la esponja seca de la segunda recolecta (Xs2SEP-D), se disolvió en 10 mL de MeOH y se agregó 6 mL de NaOH al 5 %, manteniéndose a reflujo durante 24 h, se eliminó el disolvente (MeOH) y se agregó 50 mL de agua, posteriormente se extrajo con DCM en un embudo de separación de 100 mL (5 veces con volúmenes de 10 mL cada uno).

La fracción orgánica se secó con Na_2SO_4 y se purificó por CCP (20 X 10 X 0.25, 1x) eluyéndose con EP-DCM 2:8, obteniéndose 24 mg de la mezcla de esteroides designada con la clave ME; se acetiló (10 gotas de Ac_2O + 4 gotas de piridina) para obtener los acetatos correspondientes, los cuales fueron purificados por CCP (20 X 10 X 0.25, DCM-A 98:2, 1x); se obtuvieron 10.1 mg de los acetatos (MEAc-a) que fueron analizados posteriormente por CG/EM (Figura 17).

La fracción acuosa se aciduló, se extrajo con DCM, se lavó con agua y se secó con Na_2SO_4 obteniéndose una mezcla de ácidos grasos designada con la clave MAG, la cual se esterificó con CH_2N_2 para obtener los ésteres metílicos correspondientes, éstos fueron purificados por percolación en columna para obtener finalmente 3.2 mg de mezcla (MAGEst) que fueron analizados posteriormente por CG/EM (Figura 17).

C. Actividades complementarias.

C.1. Para efectos de comparación una muestra de 58.8 mg de β -sitosterol obtenida del extracto metanólico de la corteza de la planta *Taxus globosa* comúnmente conocida como "romerillo", se purificó por CCP (10 X 20 X 0.5 mm, DCM-A 95:5, 4x seguido de DCM-A 98:2, 2x) obteniéndose 21.7 mg de β -sitosterol (LXIX). Posteriormente se acetilaron 9.4 mg del β -sitosterol obtenido (5 gotas de Ac_2O + 2 gotas de piridina) durante 24 h y el acetato correspondiente (LXX) fue analizado por CG/EM.

C.2. Por otro lado, esteroides de origen comercial tales como colesterol, β -sitosterol y estigmasterol (Aldrich), incluyendo también otras muestras de condilasterol y fucosterol, así como sus correspondientes productos de acetilación fueron analizados por CG/EM de manera comparativa con los esteroides obtenidos en este trabajo.

C.3. Para obtener datos comparativos de los resultados obtenidos por CG/EM en este trabajo se enviaron muestras de colesterol, estigmasterol, y β -sitosterol comercial (Aldrich) y sus correspondientes acetatos obtenidos por acetilación, así como muestras de β -sitosterol aislado de la planta *Taxus globosa* y muestras de las fracciones XsFEP'-JG, XsFEP'-JGAc y XsSEP-F al Lab. de Química Orgánica de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) que fueron analizadas en un cromatógrafo de gases HP 5890 Serie II de columna HP-5MS de 30 m de longitud por 0.20 mm de diámetro y con un grosor de película de 0.33 μ m, el cual se encuentra acoplado a un detector masivo selectivo 5972 y a un detector de ionización de flama; estas determinaciones fueron realizadas por el QFB. José M. Marrufo Gómez.

C.4. Se solicitó al Dr. Toshio Honda del Instituto de Química Medicinal de la Universidad de Hoshi, Japón una muestra de petrosterol. La muestra proporcionada por el Dr. Honda (8 mg) se purificó por CC sobre Sílica-Gel 60 Merck F-254 (1.5 g de sílica, aplicación directa, 4 cm X 1 cm de diámetro) eluyendo con EP, DCM, A y mezclas de éstos de polaridad creciente. La fracción de interés con un peso de 5 mg se analizó por medio de sus espectros de RMN 1 H a 200 y 500 MHz, éste último resultó idéntico al ser comparado con el producto aislado en la fracción XsSEP-FEc de la esponja *Xestospongia subtriangularis*.

VALORACIÓN BIOLÓGICA (ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA)

La valoración biológica de las fracciones obtenidas, así como del compuesto aislado e identificado como clionasterol (LXXI), se realizó mediante una serie de bioensayos antimicrobianos sobre diversos microorganismos como bacterias y hongos (Vanden y Vlietinck, 1991).

La valoración biológica se realizó con cada una de las fracciones obtenidas por medio del método de difusión en agar y de difusión en pozo en función de las características de éstas en especial al grado de solubilidad en disolventes orgánicos polares (CHCl_3 y MeOH). El método de difusión en agar consiste en la colocación de sensidiscos (pequeños discos de papel filtro Whatman No.1) impregnados con una solución de la fracción a una concentración determinada (1 mg/10 μ L), en las placas de agar nutritivo (Bioxón) previamente inoculadas con los microorganismos de prueba; en tanto que la de pozo consiste en la formación de pequeños pozos en el agar nutritivo (Bioxón) en donde se coloca un volumen aproximadamente de 1 mL de la fracción disuelta en aceite de olivo esterilizado a una concentración de 1 mg/10 μ L, las

placas de agar también previamente se inoculan con los microorganismos de prueba (Vanden y Vlietinck, 1991). Para el caso de *Candida albicans* el medio de cultivo utilizado fue caldo Czapek-Dox el cual es el más adecuado para un óptimo crecimiento de este hongo. Estas pruebas se realizaron por triplicado para cada sepa para así garantizar los resultados.

La valoración se realizó sobre una amplia serie de microorganismos Gram (+) y Gram (-) para abarcar un mayor espectro de acción, como lo recomienda McClintock y Gautier (1992) y como se ha estado trabajando en el Laboratorio de Fitoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipo (UBIPRO), UNAM-Campus Iztacala para la valoración biológica de extractos y de compuestos aislados tanto de organismos terrestres como marinos:

- 1) *Escherichia coli* (25922-ATCC)
- 2) *Salmonella typhi*
- 3) *Enterobacter aerogenes* (13048-ATCC)
- 4) *Enterobacter agglomerans* (12029-ATCC)
- 5) *Shigella boydii*
- 6) *Vibrio cholerae* (CDC-V12)
Vibrio cholerae (caso clínico)
Vibrio cholerae (aislada de una fuente de agua)
- 7) *Pseudomonas aeruginosa*
- 8) *Sarcina lutea*
- 9) *Bacillus subtilis*
- 10) *Staphylococcus aureus*
- 11) *Staphylococcus epidermidis*
- 12) *Candida albicans*

Estos ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fitoquímica, UBIPRO, UNAM-Campus Iztacala bajo la dirección del M. en C. Guillermo Ávila Acevedo y del MVZ. Andrés Martínez Cortés.

RESULTADOS

SISTEMÁTICA

PHYLUM PORIFERA Grant 1836

CLASE DEMOSPONGIAE Sollas 1888

Es la clase que más especies vivientes tiene en la actualidad con el 95 %. Se caracteriza por espículas de sílice con forma y tamaño variados cuyo complemento o sustituto es la espongina en forma de fibras o dispersas.

SUBCLASE CERACTINOMORPHA Levi 1953

Demospongiae que carecen de trienas y ásteres, sus megascleras son monoaxones y las microscleras son generalmente quelas, toxas o sigmas. Presentan una reticulación definida de fibras de espongina. Esponjas con esqueleto menos rígido.

ORDEN PETROSIDA Bergquist 1980

Ceractinomorpha que suele presentar una reticulación isotrópica o difusa; se caracteriza por tener estiles, óxeas y estrongiles en todas sus combinaciones, rara vez, presentan microscleras.

FAMILIA PETROSIIDAE Van Soest 1980

Petrosida con esqueleto ectosomal consistente de una reticulación isotrópica de espículas sencillas o tractos espiculares. Esqueleto coanosómico tendiente a una reticulación isotrópica de tractos espiculares. No hay distinción de tractos primarios y secundarios. Nivel global de sílica 58.26 %.

GÉNERO *Xestospongia* De Laubentels 1932

Petrosiidae en el cual el esqueleto coanosómico es de confuso a isotrópico y carece de espongina; un sólo tipo de espícula, principalmente óxeas, las cuales presentan un breve ángulo en la parte media, y en caso de haber otros tipos de espículas las óxeas son mayoritarias.

ESPECIE *Xestospongia subtriangularis* (Duchassaing 1850)

IDENTIFICACIÓN Y REDESCRIPCIÓN
DE LA ESPECIE

ESPECIE *Xestospongia subtriangularis* (Duchassaing 1850)
(Figura 18)

- SINONIMIA:

- Spongia subtriangularis* Duchassaing 1850. Pág. 26
Thalysias rugosa Duchassaing y Michelotti 1864. Pág. 84
Thalysias subtriangularis Duchassaing y Michelotti 1864. Pág. 85
Thalysias subtriangularis var. *cylindrica* Duchassaing y Michelotti 1864. Pág. 85
Thalysias subtriangularis var. *lyriformis* Duchassaing y Michelotti 1864. Pág. 85
Schmidtia aulopora Schmidt 1870. Pág. 44
Thalysias repens Carter 1882. Pág. 282
Pachychalina rugosa (Duchassaing y Michelotti 1864) Arndt 1927. Pág. 153
Pachychalina rugosa var. *rubens* Arndt 1927. Pág. 154
Haliclona longleyi De Laubenfels 1932. Pág. 54; 1936. Pág. 44; 1949. Pág. 10;
1950. Pág. 167
Haliclona doria De Laubenfels 1936. Pág. 458; Hechtel 1965. Pág. 18; Green 1977.
Pág. 86
Neopetrosia longleyi (De Laubenfels 1932) De Laubenfels 1949. Pág. 10; 1953a.
Pág. 519; 1953b. Pág. 18; Storr 1964a. Pág. 41; Green 1977. Pág. 88
Xestospongia longleyi Craft y Kellner 1977
Xestospongia subtriangularis (Duchassaing 1850) Wiedenmayer 1977. Pág. 113; van
Soest 1980. Pág.71; Alcolado 1981. Pág. 23

- FORMA:

De las observaciones realizadas en el área de muestreo (Figura 7 y 8) de 63 ejemplares observados se distinguen las siguientes formas:

a) Ramas rastreras a veces anastomosadas.

b) Masiva a veces con ramas rastreras.

c) Base masiva, parte superior ramas anastomosadas algunas contorsionadas dando la formación de una malla irregular. Las ramas pueden estar macizas o huecas en el centro a manera de tubo (Figura 18).

- TAMAÑO:

El tamaño completo de la esponja varía en cada una de las formas que se observaron:

- a) De menos de 2 cm a 1 m de longitud.
- b) De menos de 5 cm a 20 cm de longitud por 10 cm de alto.
- c) De menos de 20 cm a más de 60 cm de longitud por 20 a 40 cm de alto (Figura 18).

Las ramas son cilíndricas de 1.5 a 2.5 cm de diámetro, algunas veces aplanadas verticalmente dando una forma elipsoidal de 1 a 2 cm de eje menor por 3.5 a 4 cm de eje mayor.

- COLOR:

En un mismo organismo el color varía y éste también varía de acuerdo con la profundidad; es decir, a profundidades no mayores de 1 m, el color va de amarillo ocre en la parte superior a guinda o vino en la base en contacto con el sustrato; a profundidades mayores a ésta, toda la esponja tiende a ser de color guinda o vino. Preservada en EtOH al 70 % se torna de color beige claro u oscuro. Seca, la esponja se torna de color verde y en algunas regiones se mantiene el color guinda (algunos autores manejan el color lavanda en lugar de guinda o vino)(Tabla 9).

- CONSISTENCIA:

En vivo es muy firme, poco compresible y quebradiza. La base es mucho más firme y compacta que las ramas. Preservada en EtOH, la esponja es no compresible, muy firme y quebradiza (se fragmenta fácilmente).

- SUSPERFICIE Y TEXTURA:

En vivo, la esponja contiene una gran cantidad de sedimento muy fino adherido a ella, en algunos casos se encuentran pequeños trozos de material calcáreo como pedazos de conchas. La superficie es lisa, al tacto es no hispida.

- ÓSCULOS:

Se localizan en pequeñas protuberancias a veces rodeados de un anillo de color mucho más pálido (crema), casi siempre localizados hacia la parte superior de la esponja, ya sean ramas o masa. Los ósculos son generalmente cilíndricos de 1 a 3 mm de diámetro ($n = 13$, $x = 1.88$ mm) (Figura 18).

- ECTOSOMA:

El ectosoma es de color más oscuro que el endosoma, ya sea amarillo ocre, verde o guinda. Su grosor es de 100 a 200 μm ; consiste de una malla tangencial de arreglo isodictial en varios planos pluriespiculares, con una abertura de malla de 30 - 43 - 60 μm . En él se observan numerosos ostios circulares de 48 a 66 μm de diámetro u ovalados de 120 a 240 μm por 60 a 180 μm .

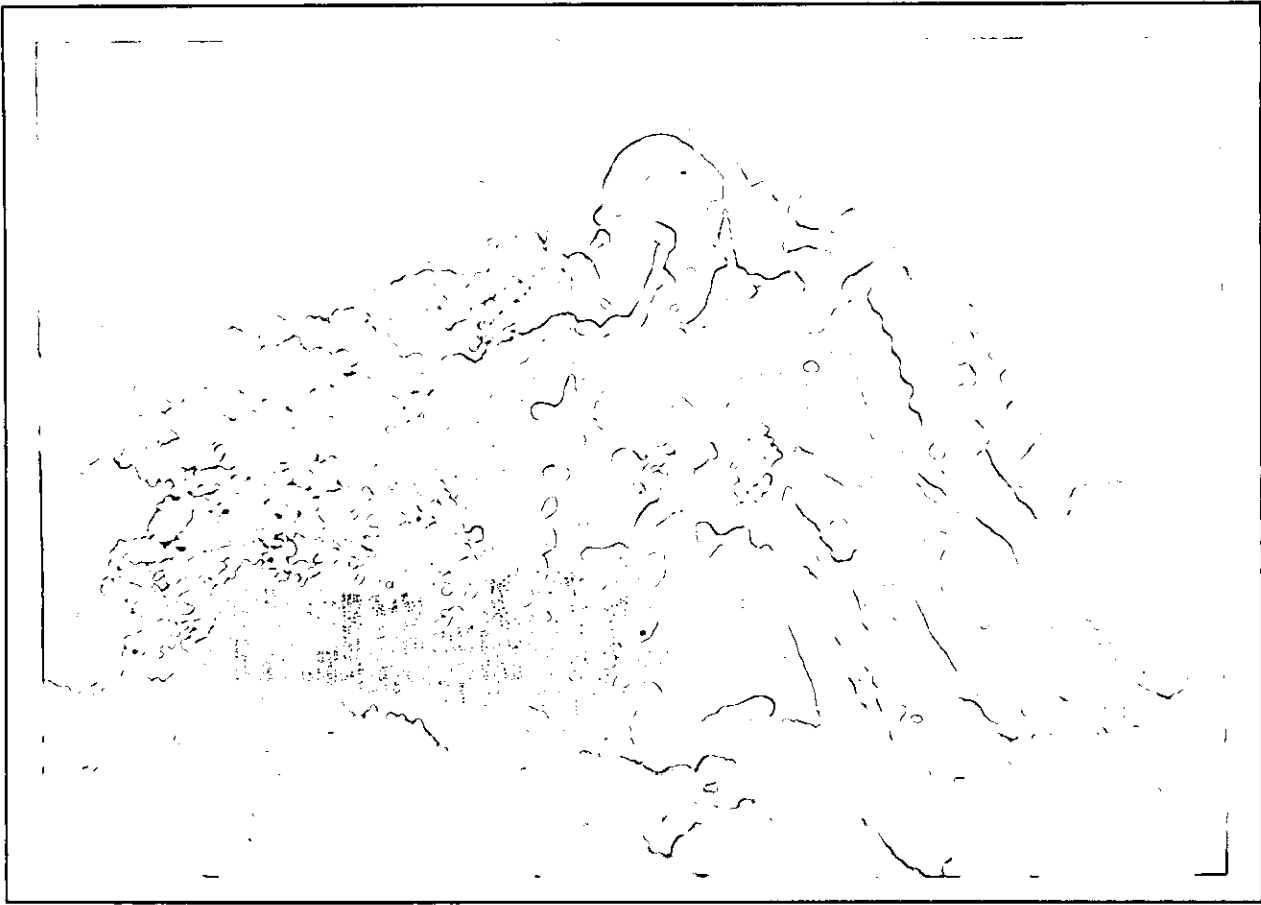


FIGURA 18. FOTO SUBACUÁTICA DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis*.
Tomada en la laguna arrecifal del arrecife Isla Verde, Veracruz.

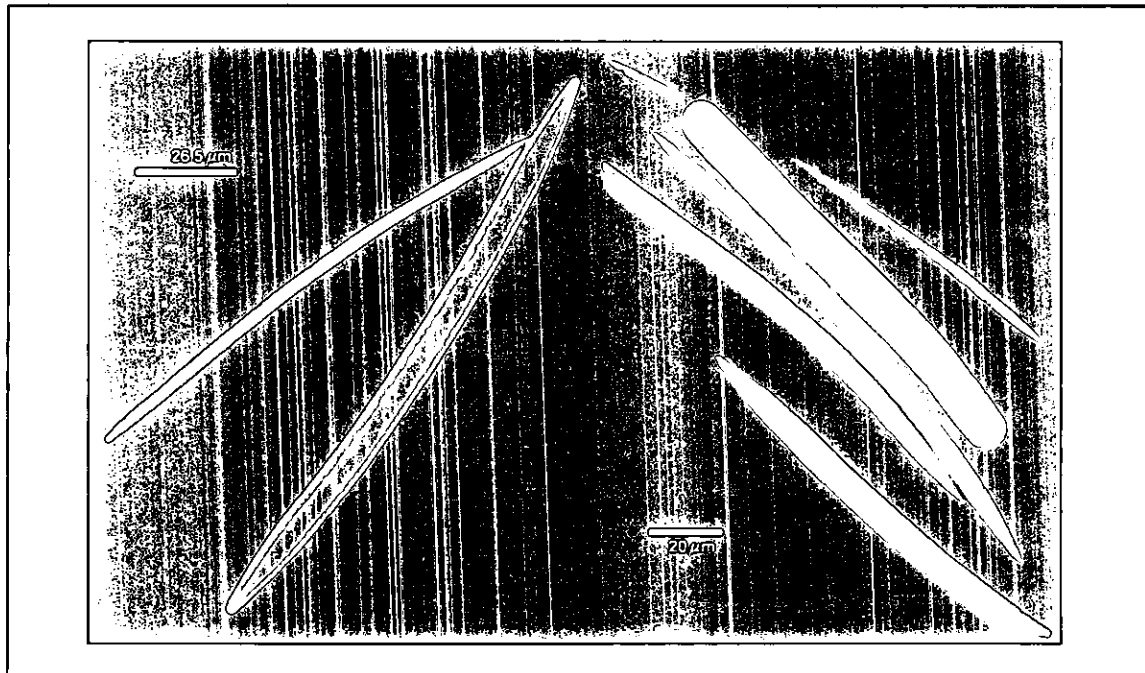


FIGURA 19. ESPÍCULAS DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis*: Óxeas I, Óxeas II y Estrongile.
Tomada en el microscopio electrónico de barrido (MEB).

- ENDOSOMA:

Generalmente es de color más claro que el ectosoma, ya sea amarillo ocre, verde o guinda. En algunos de los cortes realizados transversalmente, no se distinguen tractos ascendentes primarios con tractos conectores secundarios, pero en otros sí:

- a) Tractos ascendentes de 51 - 61 - 72 μm de diámetro.
- b) Tractos interconectores o fibras de 18 - 28 - 42 μm de diámetro.

Se observa la formación de una malla de tendencia rectangular con abertura de malla de 120 - 172.5 - 240 μm X 60 - 116 - 180 μm y, a veces redondeada con una abertura de 30 - 114 X 31 - 120 μm . Las espículas se encuentran empaquetadas con una poca cantidad de esponjina no presentan un orden o una orientación bien definida. En los interespacios de esta malla se observan espículas en diferentes estados de desarrollo y por ende, más pequeñas y delgadas.

Se observan algunos canales endosomales, los cuales pueden ser circulares de 60 a 72 μm de diámetro o ligeramente más grandes de 84 - 161 - 360 mm de diámetro y otros rectangulares de 150 a 160 μm por 110 a 120 μm .

- ESPÍCULAS:

1) Del ectosoma: Las principales espículas son óxeas tipo I, las cuales se acompañan de algunas estrongiles y raramente de estiles:

TIPO DE ESPÍCULA	LONGITUD	DIÁMETRO	No. DE ESPÍCULAS MEDIDAS
Óxeas I	161-171-192 μm	8.3-11.5-14 μm	63
Estrongiles	118-146-176 μm	10-11.5-15 μm	30
Estiles	138-156-173 μm	10-12.5-13 μm	18

2) Del endosoma: Aparte de la óxeas tipo I observadas anteriormente, se observan otras óxeas ligeramente más delgadas que se denominaron óxeas tipo II. Las óxeas tipo I pueden en ocasiones presentar malformaciones en alguno de los extremos o en los dos, tendiendo a ser estiles o estrongiles. En cuanto a los estiles y estrongiles hay una mayor cantidad en comparación al ectosoma (Figura 19):

TIPO DE ESPÍCULA	LONGITUD	DIÁMETRO	No. DE ESPÍCULAS MEDIDAS
Óxeas I	158-175-202 μm	8-12-15 μm	37
Óxeas II	131-143-166 μm	2.5-4-6.6 μm	27
Estrongiles	118-147-180 μm	10-12.5-15 μm	23
Estiles	144-166-199 μm	10-12-15 μm	27

- ECOLOGÍA:

X. subtriangularis es una esponja que se puede considerar como una de las especies más abundantes dentro del macrobentos de la laguna arrecifal (ver el análisis de abundancia relativa, pág. 58); su papel ecológico, de acuerdo con las observaciones realizadas en el área de muestreo, corresponden a ser "casa" o algún lugar de protección a diferentes organismos entre los que destacan peces pequeños como dulcineas de color azul y amarillo, así como también de ofiúridos (*Ophicoma aethiops* y *Ophioderma cinereum*), erizos (*Echinometra lucunter* y *E. viridis*), pepinos, poliquetos y anémonas (*Zoanthus sociatus*) (Figura 18).

La esponja puede localizarse sobre sustrato arenoso, pasto marino (*Thalassia testudinum*), algas verdes (*Halimeda* y *Caulerpa*) (Figura 18) y algas rojas o sobre sustratos duros como son los propios corales, entre ellos se encontró *Siderastrea radians*, *Porites asteroides*, *P. branneri* y *Montastrea annularis*. La identificación de éstos organismos se realizó bajo la asesoría del M. en C. Guillermo Horta-Puga y del Biól. José Luis Tello del Laboratorio de Zoología, UNAM-Campus Iztacala.

Fuera de la laguna, a lo largo de la plataforma arrecifal de sotavento, la esponja es poco abundante y sólo se encontró a profundidades por debajo de la isobata de 10 m, su forma tiende a ser más ramificada que masiva en comparación a la esponja localizada dentro de la laguna y su color tiende a ser guinda o vino.

El hecho de que la esponja sólo se encuentre en la plataforma arrecifal de sotavento y en la laguna arrecifal son observaciones que confirman las realizadas por López (1992) para los arrecifes Galequilla y la Blanquilla; lo que puede ser un indicador que este mismo patrón de distribución se observe en los diversos arrecifes del SAV.

- DISCUSIÓN:

X. subtriangularis es una especie característica y endémica del Atlántico Tropical Oeste, debido a que el tamaño más pequeño de sus espículas con otras especies, comparativamente, hace que sea única en el género y fácilmente

distinguible. En la tabla 9 se presentan las características más sobresalientes de la especie dados por otros autores, para poder hacer un análisis comparativo.

La principal diferencia entre los demás autores y este trabajo es que sólo mencionan una sola categoría de óxeas, en tanto que en éste se mencionan dos tipos, los cuales se distinguen principalmente por el diámetro de la espícula como se puede observar en la fotografía al MEB y además, su localización dentro de la esponja es distinta. Observando el material de Green y Green *et al.* (1977 y 1986) localizado en la Colección Porifera del ICMYL, UNAM, se observa nuevamente este hecho, como el autor ya lo había hecho notar. Sin embargo, la diferencia existente entre la espiculación del endosoma y ectosoma es un aporte original de este trabajo. La existencia de otras espículas como estrongiles y estiles es común en la especie como se puede observar en la tabla 9.

Wiedenmayer (1977) menciona que existen en la especie cuatro formas; sin embargo, él no aporta suficiente información para considerar su importancia biogeográfica y/o ecológica:

- a) *X. subtriangularis* forma *ramosa*
- b) *X. subtriangularis* forma *cilíndrica* (ósculos en la parte superior de las ramas).
- c) *X. subtriangularis* forma *lyriformis* (procesos tubulares de una forma flabelada).
- d) *X. subtriangularis* forma *rugosa* (ramas rastreras, lóbulos bulbosos con ósculos apicales)

Aunque en este trabajo no se consideran de manera taxonómica a estas formas propuestas por Wiedenmayer (1977), sí es importante decir que, en el área de muestreo las formas masivas referidas en este trabajo como (b) y (c) no son observadas en la plataforma arrecifal, siendo la forma ramosa (a) la dominante en esta zona; sin embargo, en la laguna se observan las tres formas, siendo la forma masiva (b y c) la más dominante; por lo que se puede suponer que las condiciones ambientales, tales como las corrientes, tipo de sustrato, cantidad de luz, entre otras son las causantes de este hecho, ya que varían ampliamente de una zona a otra; estas mismas observaciones las llevó a cabo De Laubenfels (1936), observó que la forma ramosa parece prevenir eficientemente la fuerza del oleaje como sucede en la plataforma arrecifal de Isla Verde.

Green *et al.* (1986) señala que esta especie es muy abundante en la Laguna arrecifal de La Blanquilla, en tanto que en esta misma zona López (1992) señala que se limita a la zona de la plataforma arrecifal de sotavento y la laguna, como se observó en el área de muestreo de este trabajo.

TABLA 9. DIFERENTES DESCRIPCIONES DE LA ESPECIE *Xestospongia subtriangularis* (Duchassaing 1850)

NOMBRE Y REFERENCIA	TAMAÑO	FORMA	COLOR	ÓSCULOS	ECTOSOMA	ENDOSOMA	ESPÍCULAS
<i>Haliclona longleyi</i> De Laubenfels 1932	De 2 a 4 cm de grosor por 18 cm de altura.	Más o menos ramosa, más reptante que erecta, ramas anastomosadas.	Ectosoma verde amarillo. Endosoma verde pálido o castaño amarillo, seca amarillo pálido, blanca con pintas lavanda.	Frecuentemente con collar, muy numerosos, ocurren sobre un lado de 2 a 4 mm de diámetro.	—	Fibreticular, en secciones transversales como telarañas. Malla rectangular. Fibras primarias de 100 a 120 x 30 a 40 µm de diámetro, secundarias ligeramente más pequeñas. Capa de cianofitas simbiotes.	Óxeas 104 -120 - 144 X 2 - 3 - 4 µm tanto libres como en fibras.
<i>Haliclona longleyi</i> De Laubenfels 1932 (Dry Tortugas, Florida. Prof. = 1-3 m)	Ramas de 2 a 5 cm de diámetro.	Ramosa de tipo azarosa de 4 a 5 ramas, algunas veces anastomosadas y aplanadas más que circulares.	Amarillo verde sobre la superficie más expuesta a verde olivo oscuro. Endosoma verde, castaño pálido.	De 3 a 8 mm de diámetro, algunas veces presentan un collar más alto de 2 mm.	No hay esqueleto dermal.	Tractos espículas con poca esponjina de 30 a 40 µm de diámetro. Malla de 100 a 200 µm de diámetro.	Óxeas 104 -120 -144 X 2 - 3 - 4 µm tanto libres como en fibras.
<i>Haliclona doria</i> De Laubenfels 1936	Ramas un poco mayores de 1cm de diámetro.	Ramosa arbustiva, ramas circulares.	En vida café Mahogany.	De 2 a 3 mm de diámetro y pueden o no estar provistos de un collar, distribución irregular frecuentemente en hileras sobre un lado de la rama cilíndrica, separados entre sí por 1 cm.	Fibras ascendentes de 40 a 50 µm tanto verticales como transversales. Reticulación subsodictial.		Óxeas 170 X 9 µm.
<i>Haliclona longleyi</i> De Laubenfels 1949 (Oeste de Bahamas)	—	Ramosa, ramas de un dedo de grosor.	Preservada es blanca o blanquecina, en vivo es amarillo a verde.	Conspicuos.	No hay.	Tractos que empaican espículas.	Óxeas 3 X 120 µm.
<i>Neopetrosia longleyi</i> De Laubenfels 1953. (Caribe Prof. = 12 m)	—	Ramosa y rastrera, irregularmente cilíndrica.	Pálida internamente, castaño externamente a verde amarillo, café a verde olivo.	Conspicuos, con un anillo.	—	—	—

CONTINUACIÓN

NOMBRE Y REFERENCIA	TAMAÑO	FORMA	COLOR	ÓSCULOS	ECTOSOMA	ENDOSOMA	ESPÍCULAS
<i>Halicona doria</i> Hechtel 1965 (Jamaica)	Puede extenderse varios pies.	Reptante, ramas anastomosadas, cilíndricas.	Amarillo café a café oscuro, con tintes púrpuras. En alcohol castaño.	Localizados sobre bajos montículos. De 1 a 4 mm de diámetro.	No hay especialización dermal, superficie microhispida.	Tractos espiculares de malla rectangular a cuadrangular de 70 a 240 μm de ancho máximo. Fibras de 30 a 60 μm de diámetro con pequeña cantidad de esponjina. Muchas espículas esparcidas.	Óxeas ligeramente curvadas, típicamente astadas de 140-188 X 3-12 μm .
<i>Neopetrosia longleyi</i> Green et al. 1977 (La Blanquilla, México Prof. = 1 a 1.30 m)	Ramas de 2 a 4 cm de diámetro, longitud de 20 a 25 cm X 10 a 12 cm de alto.	Ramosa comúnmente rastrera, con ramas cilíndricas anastomosadas.	Amarillo paja en el exterior, crema en el interior.	Presentan elevaciones en la superficie, se distribuyen en la parte alta de las ramas de 2 a 4 cm de distancia entre ellos. Miden de 2 a 4 mm de diámetro.	En la parte superficial se observan ligeras elevaciones ocasionadas por el arreglo de 4 a 5 espículas que están perpendiculares a la superficie.	Fibro-reticular, transversalmente como tela de araña, longitudinalmente mallas rectangulares. Fibras ascendentes de 35 a 40 μm de diámetro fibras secundarias muy finas.	Óxeas: 104-120-145 X 2-3-5 μm .
<i>Xestospongia subtriangularis</i> Wiedenmayer 1977 (Bahamas Prof. = 10 m)	Ramas de 2 a 5 cm de diámetro por 30 cm de altura.	Gruesamente ramosa, las ramas reptan, se contorsionan y frecuentemente se anastomosan con bordes redondeados.	En vida amarillo a verde-amarillo con algunas zonas de color lavanda y café claro. Seca, de amarillo a blanco reteniendo tonos lavanda y/o café.	Numerosos conspicuos, en anillos sencillos o dobles, localizados en la parte superior de las ramas. De 2 a 8 mm de diámetro, se localizan en un domo o en las puntas.	Grosor de 100 μm , reticulación tangencial de isodictial a subisodictial a pluriespicular. Tractos comprimidos pueden ser combinados con penachos	Hay gran abundancia de espículas y escasea la esponjina, tractos primarios de 20 a 100 μm , malla de 50 a 300 μm , fibras secundarias con estados de desarrollo de espículas.	Óxeas fusiformes a astadas ligeramente dobladas o curvadas. Extremos cónicos, simples o telescópicos. Formas raras de estiles. 117-163-200 X 1-5-8 μm .
<i>Xestospongia subtriangularis</i> Van Soest 1980 (Sto. Tomas, Curazao, Barbados, Puerto Rico, Florida)	Tamaño total de 21 cm por 20 cm, ramas de 1 a 2 cm de diámetro.	Ramas rastreras con ramas erectas, anastomosadas o tubiforme o masiva flabelforme a masa lamelar.	Rojo, rojo-café o verdusca en vida. Preservada, café.	Se localizan de manera elevada como pequeños volcanes. Miden de 2 a 5 cm de diámetro.	Reticulación tangencial uniespicular o pluriespicular frecuentemente incompleta, hacia el coanosoma fibras en penachos. Malla de 150 a 200 μm . Esponjina ausente.	Tractos primarios ascendentes interconectados con secundarios en cortes periféricos. Sobre éstos se encuentra una reticulación isotrópica sin orientación definida produciendo una malla redondeada. Los tractos con poco o nada de esponjina.	Óxeas raramente modificada en estrongilote o estilote. Miden 121 - 159.3 - 186 X 3.5 - 5.9 - 8.5 μm .

CONTINUACIÓN

NOMBRE Y REFERENCIA	TAMAÑO	FORMA	COLOR	ÓSCULOS	ECTÓSOMA	ENDOSOMA	ESPÍCULAS
<i>Xestospongia subtriangularis</i> Alcolado 1981 (Cuba)		Ramosa	Pardusco.	Al ras de la superficie o marcadamente elevados.		Con un patrón sutil de líneas ascendentes y concéntricas que se cruzan dando un aspecto de telaraña.	Óxeas 100-180 x 3-10 µm de diámetro.
<i>Xestospongia subtriangularis</i> Green et al. 1986 (La Blanquilla, México Prof. = 2 a 15 m)	Ramas de 1.5 a 3.0 cm de diámetro, cubre un área aproximada de 25 cm ²	Ramosa rastrera, con ramas anastomosadas.	Amarillo verdoso en el exterior, amarillo claro interior.	Se distribuyen en la parte alta de las ramas de 1 a 1.5 cm de distancia entre ellos. Miden de 1 a 3 mm de diámetro.	Reticulación de tractos de 120 a 250 µm de diámetro, completamente empaquetados de espículas. Malla circular.	Tractos pluriespiculares de hasta 20 hileras de espículas, mallas circulares.	Óxeas de dos tamaños: 136-210-278 X 6-11-15 µm y 42-60-76 X 3-4.5-6 µm. Estiles y strongiles.
<i>Xestospongia subtriangularis</i> Zea 1987 (Colombia, Cartagena)	Total 45 cm, ramas 4 - 28 X 0.9 - 2.5 cm de diámetro.	Ramas sólidas con tendencia a ser rastreras, ramificadas y anastomosadas.	Al ras o sobre elevaciones lobuladas o cónicas alineados en la parte superior de las ramas.	Amarillo naranja, a veces con tonos verdosos. Seca, café claro a crema.	Reticulación tangencial uni- o pluriespicular, a veces confuso. Tractos de 90 µm de diámetro. Malla de 30 a 550 µm.	Sección transversal tractos multiespiculares de 3 a 10 espículas, de 40 a 45 µm de diámetro con algunos tractos conectores. Malla rectangular a redondeada. Numerosas espículas sueltas.	Óxeas fusiformes astadas a strongile algo curvas de puntas agudas, achatadas, telescópicas, mamiformes y óxeas fusiformes en estado de desarrollo. Miden 131- 158.3 -181 X 1.6 - 6.2 - 11.7 µm.
<i>Xestospongia subtriangularis</i> López 1992 (Veracruz, México Prof. = 0.5 a 2 m)	Ramas de 10 a 40 cm de longitud X 1 a 2 cm de diámetro	Ramas sólidas con tendencia a ser rastreras, que se ramifican y anastomosan formando grandes grupos.	Castaño a veces con tonos verdosos. Preservada de color crema.	Sin elevaciones.	Reticulación de tractos ascendentes completamente empaquetados de espículas. Malla circular.	Tractos pluriespiculares, mallas circulares a rectangulares.	Óxeas: 104-120-145 X 2-3-5 µm. Estongiles y estiles.
<i>Xestospongia subtriangularis</i> Vázquez 1998 Isla Verde, México Prof. = < 1 m ó > 10 m)	a) De menos de 2 cm a 1 m. b) De menos de 5 cm a 20 de long. X 10 cm de alto. c) De más de 20-60 cm de long. X 20-40 cm de alto. Diámetro de las ramas de 1.5-2.5 cm	a) Ramas rastreras a veces anastomosadas. b) Masiva a veces con ramas rastreras. c) Base masiva, parte superior ramas anastomosadas, en algunas contorsionadas.	Amarillo mostaza en la parte expuesta a guinda o vino en la base. A profundidades mayores toda guinda o vino. Preservada beige con tonos verdes o guinda.	En pequeñas protuberancias, a veces rodeado de un anillo, localizados casi siempre en la parte superior de la esponja. Miden de 1 a 3 mm de diámetro.	De color más oscuro, grosor de 100 a 200 µm. Malla tangencial de tipo isodictial en varios planos, pluriespicular	De color más claro. Malla de rectangular a redondeada, espículas empaquetadas con poca esponjina. En los interespecios de la malla se observan espículas en desarrollo. Tractos ascendentes de 51 a 72 µm y fibras conectoras de 18 a 42 µm de diámetro.	Óxeas astadas ligeramente curvas tipo I 158-175-202 X 8-12-15 µm y tipo II 131-143-166 X 2.5-4-6.6 µm. En ocasiones estiles y strongiles. Hay diferencia entre el endosoma y ectosoma.

De todas las especies del Género *Xestospongia*, *Xestospongia subtriangularis* es una de las especies que es fácil de distinguir tanto en el campo como en el laboratorio, principalmente por su fisionomía y espiculación. Sin embargo, Van Soest (1980) menciona que tanto el Género *Xestospongia* como *Petrosia* necesitan de una revisión exhaustiva ya que muchas especies de *Petrosia* son en realidad de *Xestospongia* y viceversa, aunque queda bien especificado que *Xestospongia subtriangularis* no tiene esta problemática, ya que como especie se encuentra en una jerarquía bien definida.

ABUNDANCIA RELATIVA

Determinar la abundancia relativa de *Xestospongia subtriangularis* en el arrecife Isla Verde, Veracruz, no fue uno de los objetivos planteados de la tesis, pero se llevó a cabo principalmente por el hecho de que a simple vista *X. subtriangularis* parece ser una de las especies bentónicas más abundantes en dicho arrecife. Por lo que se realizó una estimación general de la abundancia relativa de esta especie.

En una revisión bibliográfica se encontró que *X. subtriangularis* ha sido considerada por Chávez *et al.* (1970) como una de las especies de mayor tamaño y con una abundancia de 0.32 esponjas/m² y una frecuencia de incidencia de $\delta = 0.31$ (de 35 estaciones, la especie fue encontrada en 11); dentro de las comunidades bentónicas del arrecife Lobos, Veracruz (SAV) durante 1966 a 1969.

Un estudio de Rigby y McIntyre (1967) en la misma zona revela que *X. subtriangularis* se encuentra en igual modo que en el estudio anterior en el biotopo sublitoral de la zona de *Thalassia - Halimeda*, encontrándose en ocho de las 62 estaciones muestreadas ($\delta = 0.129$). En este trabajo, como ya se mencionó, *X. subtriangularis* se encontró tanto en la laguna arrecifal como en la plataforma de sotavento, siendo en la primera más notoria su presencia que en la segunda, ya que en la plataforma durante la primera recolecta se observaron varios organismos (no se contaron cuántos) en tanto que en la segunda sólo se contabilizó a uno en un transecto de 30 m de longitud.

La laguna arrecifal del arrecife Isla Verde se caracteriza por tener profundidades de 0.50 a 1.20 m de profundidad, en la parte noreste que corresponde a la región de barlovento se encuentra un canal de hasta 3 m de profundidad por 5 m de ancho, esta laguna se caracteriza por numerosos manchones de pasto marino (*Thalassia testudinum*), arena y roca y algunos parches de corales (ya descritos). Sin embargo, los organismos bentónicos más sobresalientes tanto en su tamaño como en su número son esponjas de la especie *Xestospongia subtriangularis*.

En cuanto al conteo de individuos por cuadrantes, de los 41 cuadrantes realizados la esponja fue encontrada en 32 (en algunos cuadrantes existen más de un

individuo), lo que significa una frecuencia de incidencia (δ) de 0.78; que es mayor a lo estimado por los autores anteriores para otros arrecifes del SAV. Sin embargo, la abundancia relativa establece entonces la existencia de 0.053 esponjas/m² (54 esponjas en un área total de 1025 m²), este resultado es mucho menor al valor dado por Chávez *et al.* (1970). Se realizaron otros tres transectos al azar dentro de la laguna los cuales muestran valores ligeramente inferiores a los ya antes calculados; es decir, una frecuencia de incidencia de $\delta = 0.60$ (la esponja se encontró en nueve de 15 cuadrantes) y una abundancia de 0.043 esponjas/m².

En el conteo por transectos, los valores obtenidos fueron aún más bajos, ya que de ocho transectos realizados se contabilizaron únicamente nueve individuos, es decir que para un radio de circunferencia de 50 m se tiene un total de nueve esponjas en 7854 m², lo que indica una abundancia relativa de 0.0011 esponjas/m². Este es un valor mucho menor a lo calculado por cuadrantes en el trabajo de Chávez *et al.* (1970). En los tres transectos realizados posteriormente sólo se contabilizó a un individuo.

Es importante reconocer, que para estimar la abundancia en el área de muestreo se requiere de un estudio más sistemático que nos dé valores más precisos en cuanto a este parámetro poblacional y que refleje también el tipo o patrón de distribución que esta especie presenta, así como su comparación con otras especies; de este modo, sólo se obtienen datos aislados que no permiten un análisis integral que caracterice al área. Este trabajo fue sólo un intento por tratar de entender el papel ecológico de esta especie; sin embargo se quedó muy lejos de poder lograr este punto.

COMPUESTOS AISLADOS, DATOS ESPECTROSCÓPICOS Y ESPECTROMÉTRICOS

I. HIDROCARBUROS.

El análisis por CG/EM de las fracciones menos polares de los extractos de EP de la esponja fresca de la primera recolecta (XsFEP'-A y XsFEP'-B) y de la esponja seca de la segunda (Xs2SEP-A) permitió la identificación de una serie de hidrocarburos lineales saturados (parafinas) de C-15 a C-23 (Tabla 10). En ambos casos el hidrocarburo mayoritario fue el heptadecano (C-17), mientras que los demás se encuentran en cantidades minoritarias (entre 0.5 y 2.0 % como máximo).

También se detectó la presencia de hidrocarburos insaturados de tipo terpénico, entre ellos dos sesquiterpenos de pesos moleculares 204 y 202, así como un posible derivado bicíclico del escualeno con el mismo peso molecular de éste (410).

Tabla 10. HIDROCARBUROS SATURADOS E INSATURADOS OBTENIDOS DE LA FRACCIÓN DE ÉTER DE PETRÓLEO Y EXTRACTO DE ÉTER DE PETRÓLEO DE LA ESPONJA *Xestospongia subtriangularis*.




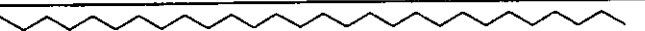

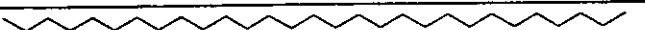



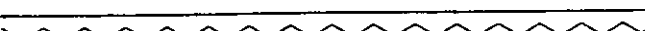
No. de Estructura	FÓRMULA MOLECULAR	NOMBRE	ESTRUCTURA	XsFEP'-A	XsFEP'-B	XsFEP'-C	Xs2SEP-A
I	C ₁₅ H ₃₂	Pentadecano		TR= 9.59 A=1.74 %	-----	-----	-----
II	C ₁₆ H ₃₄	Hexadecano		TR =11.19 A=2.77 %	-----	TR = 2.10 A 1.28 %	TR = 9.75 A=2.67 %
III	C ₁₇ H ₃₆	Heptadecano		TR=12.91 A=94.64 %	TR = 2.94 A = ?	TR = 3.21 A=15.6 %	TR=11.46 A=31.2 %
IV	C ₁₈ H ₃₈	Octadecano		TR=14.16 A=0.37 %	TR = 4.20 A=1.36 %	-----	TR=12.55 A=3.35 %
V	C ₁₉ H ₄₀	Nonadecano		TR=15.69 A= 0.48 %	TR = 5.39 A=1.11 %	-----	TR=13.83 A=3.50 %
VI	C ₂₀ H ₄₂	Cosano		-----	-----	-----	TR=15.04 A=1.08 %
VII	C ₂₂ H ₄₆	Docosano		-----	-----	-----	TR=17.34 A=4.77 %
VIII	C ₂₃ H ₄₆	Tricoseno*		-----	-----	-----	TR=18.30 A=0.79 %
IX	C ₂₃ H ₄₈	Tricosano		-----	TR = 9.42 A=1.18 %	-----	TR=18.43 A=1.15 %
X	C ₂₄ H ₅₀	Tetracosano		-----	-----	-----	TR=18.79 A=0.33 %

TR = Tiempo de retencion

A = Porcentaje en la fraccion analizada

* Posicion probable del doble enlace

CONTINUACION

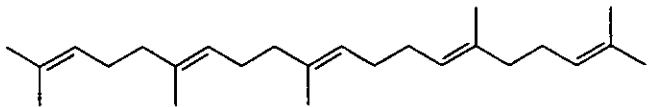
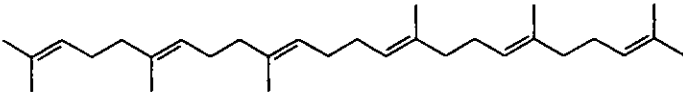
No. de Estructura	FÓRMULA MOLECULAR	NOMBRE	ESTRUCTURA	XsFEP'-A	XsFEP'-B	XsFEP'-C	Xs2SEP-A
XI	C ₂₅ H ₅₂	Pentacosano		----	TR=11.12 A=1.01 %	----	TR=20.49 A=1.74 %
XII	C ₂₆ H ₅₄	Hexacosano		----	----	----	TR=21.46 A=0.81 %
XIII	C ₂₇ H ₅₆	Heptacosano		----	TR=12.65 A=0.99 %	----	TR=22.41 A=3.10 %
XIV	C ₂₈ H ₅₈	Octacosano		----	TR=13.4 A=0.99 %	----	----
XV	C ₂₉ H ₅₈	Nonacoseno*		----	----	----	TR=23.5 A=0.99 %
XVI	C ₂₉ H ₆₀	Nonacosano		----	TR=14.11 A=0.96 %	----	TR=24.24 A=7.74 %
XVII	C ₃₀ H ₆₂	Triacotano		----	----	----	TR=25.01 A=1.78 %
XVIII	C ₃₁ H ₆₄	Untriacontano		----	----	----	TR=25.91 A=8.18 %
XIX	C ₃₂ H ₆₆	Dotriacontano		----	----	----	TR=26.64 A=1.38 %
XX	C ₃₃ H ₆₈	Tritriacontano		----	----	----	TR=27.43A = 1.38 %

TR = Tiempo de retencion

A = Porcentaje en la fraccion analizada

* Posicion probable del doble enlace

CONTINUACION

No. de Estructura	FÓRMULA MOLECULAR	NOMBRE	ESTRUCTURA	XsFEP'-A	XsFEP'-B	XsFEP'-C	Xs2SEP-A
XXI	C ₁₅ H ₂₂	Sesquiterpeno	NO DETERMINADA	----	TR=1.59 A=1.90 %	----	----
XXII	C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpeno	NO DETERMINADA	----	TR=0.27 A=2.68 %	----	----
XXIII	C ₂₅ H ₄₂	Sesterterpeno**		----	----	TR=10.30 A=30.9 %	----
XXIV	C ₃₀ H ₅₀	Triterpeno	NO DETERMINADA	----	TR=19.19 A=1.40 %	----	TR=29.27 A=2.60 %
XXV	C ₃₀ H ₅₀	Escualeno		----	----	TR=13.86 A=39.2 %	----

TR = Tiempo de retencion

A = Porcentaje en la fraccion analizada

** Estructura probable

En las fracciones XsFEP'-C y Xs2SEP-B se identificaron por RMN ^1H a 200 MHz escualeno y pequeñas cantidades de hidrocarburos. Los resultados del análisis por CG/EM de la primera fracción confirmaron la presencia de dos hidrocarburos terpénicos, el escualeno ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}$) en un 39.2 % y de un hidrocarburo de 5 unidades isoprenicas ($\text{C}_{25}\text{H}_{42}$) en un 31 %, además de que el hidrocarburo mayoritario fue el heptadecano (XIII) con 15.6 %.

Todas las mezclas fueron líquidos viscosos de color amarillento a temperatura ambiente:

◦Parafinas.

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, $-\text{CH}_3$, $J=7.0$ Hz), 1.26 (s, $-\text{CH}_2-$).

CG/EM, 70 eV: Curva descendente a partir del fragmento de m/z 57 hasta $M-29$, esta curva presenta picos cada 14 unidades de masa: m/z 71, 85, 99... $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$.

◦Escualeno.

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 1.60 (s, metilo vinílico *trans* al protón vinílico, $\text{CH}_3-\text{C}=\text{CH}-$, 18H), 1.68 (s, metilo vinílico *cis* al protón vinílico $\text{CH}_3-\text{C}=\text{CH}-$, 6H), 2.01 (m, metilenos α a los dobles enlaces $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$), 5.12 (m, protones vinílicos $-\text{CH}=\text{CH}-$).

II. ÉSTERES DE ESTEROLES CON ÁCIDOS GRASOS.

En las fracciones poco polares de la esponja seca de la primera recolecta (XsSEP-C) se obtuvo un líquido viscoso de color ligeramente amarillo que se caracterizó como una mezcla de ésteres de esteroides con ácidos grasos derivados del petrosterol (LXXIII); mientras que en la esponja seca de la segunda recolecta (Xs2SEP-B) se identificaron sólo ésteres de esteroides con ácidos grasos derivados del clionasterol (LXXI).

◦ Ésteres grasos del petrosterol (XsSEP-C).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 0.11 (m, H_{27}), 0.45 (m, H_{26}), 0.68 (s, 3H, H_{18}), 0.925 (d, 3H, $J=6.5$ Hz, H_{21}), 1.01 (d, 3H, $J=5.5$ Hz, H_{29}), 1.02 (s, 3H, H_{19}), 1.23 (s, $-(\text{CH}_2)_n-$), 4.60 (m, 1H, H_3), 5.34 (m, 1H, H_6).

◦ Ésteres grasos del clionasterol (Xs2SEP-B).

IR ν_{max} (Sol. CHCl_3) cm^{-1} : 2928 y 2855 ($-\text{C}-\text{H}$), 1720 ($-\text{C}=\text{O}-$), 1465 ($-(\text{CH}_2)_n-$), 1379 ($-\text{CH}_3$).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 0.678 (s, 3H, H_{18}), 0.813 (d, 3H, $J=6.8$ Hz, H_{26}), 0.832 (d, 3H, $J=6.8$ Hz, H_{27}), 0.847 (t, 3H, $J=6$ Hz, H_{29}), 0.965 (d, 3H, $J=6.5$ Hz, H_{21}), 1.019 (s, 3H, H_{19}), 1.256 (s, $-(\text{CH}_2)_n-$), 4.60 (m, 1H, H_3), 5.3 (m, 1H, H_6).

La hidrólisis alcalina de los ésteres de esteroides con ácidos grasos derivados del clionasterol (LXXI) produjo la mezcla de esteroides y de ácidos grasos correspondientes; estas mezclas fueron muy similares a las obtenidas como esteroides y ácidos libres del material fresco de la primera recolecta y del material fresco y seco de la segunda. El análisis espectrométrico (CG/EM) de estas mezclas se realizó sobre los acetatos y los ésteres metílicos correspondientes.

III. ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRASOS.

De los extractos obtenidos por maceración de la esponja fresca con metanol se obtuvieron mezclas de ésteres metílicos de ácidos grasos las cuales se analizaron por CG/EM (XsN-B, XsFEP-A, XsFEP'-G y Xs2FEP-D) (ver método figura 12, 13, 14 y 16).

Los resultados de los análisis por CG/EM de estas mezclas permitieron distinguir ácidos grasos lineales y ramificados de 14 a 29 átomos de carbono (C-14 a C-29), tanto saturados como insaturados. La presencia, así como la abundancia relativa de éstos, varía dependiendo de la fracción analizada y la procedencia de éstas.

Las cuatro fracciones presentan un comportamiento similar en cuanto al porcentaje entre ésteres de cadena saturada e insaturada, siendo siempre mayor aquellos de cadena insaturada (65.73, 64.84, 70.48 y 58.86 % respectivamente); de igual manera en las cuatro fracciones, el porcentaje de abundancia para los ésteres de ácidos de cadena par es ligeramente mayor (56.76, 64.33, 64.80 y 62.93 % respectivamente); esta diferencia se debe principalmente a que el compuesto mayoritario en los cuatro casos es el éster metílico del ácido graso $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico (LVI). Este ácido junto con el $\Delta^{5,9}$ -pentacosadienoico (LIV) y $\Delta^{5,9}$ -heptacosadienoico (LVIII) han sido denominados ácidos demospóngicos (Carballeira y Maldonado, 1988 y Carballeira y Reyes, 1990).

Este mismo comportamiento se observa para la mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos obtenida de la hidrólisis alcalina de la fracción de ésteres de esteroides de ácidos grasos derivados del clionasterol (Xs2SEP-B); es decir, un mayor porcentaje de ésteres de cadena insaturada y par (80.84 y 62.32 % respectivamente), también en este caso el éster mayoritario fue del ácido demospóngico $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico (LVI) con un 42.92 %.

Mayores detalles de estas mezclas de ésteres metílicos de ácidos grasos se puede observar en la tabla 11 de acuerdo con los resultados obtenidos por CG/EM.

Todas las mezclas de ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron líquidos viscosos de apariencia aceitosa a temperatura ambiente, de color ligeramente amarillo.

IR ν_{\max} (Sol. CHCl_3) cm^{-1} : 3005 (=C-H), 2928 y 2856 (-C-H), 1732 (-C=O), 1626 (-C=C-), 1464 y 1439 (- CH_2 -), 1367 (- CH_3).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 0.85, (t, $J = 7.0$ Hz, CH_3 -), 1.25 (s, $-(\text{CH}_2)_n$ -), 2.3 (t, $J = 7.4$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$), 3.64 (s, 3H, $-\text{O}-\text{CH}_3$), 5.30 (m, $-\text{CH}=\text{CH}$).

CG/EM, 70 eV, m/z: saturados 74 [$-\text{CH}_2-\text{COOMe} + \text{H}$] $^+$ (100), 87 [$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOMe}$] $^+$, 143 [87 + C_4H_8] $^+$, 199 [143 + C_4H_8] $^+$, [M] $^+$, [M-Me (M-15)] $^+$ (muy débil o no aparece), [M- CH_3 -O (M-31)] $^+$, [M- C_3H_7 (M-43)] $^+$, [M- $\text{C}_3\text{H}_7-\text{C}_4\text{H}_8$ (M-43-56)] $^+$; insaturados m/z 41, 55, 69... $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}$ m/z 43, 57, 71... $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$; m/z 39... $\text{C}_n\text{H}_{2n-3}$ (muy débil); doble insaturados $\Delta^{5,9}$, m/z 81 (100 %).

IV. ÁCIDOS GRASOS.

De los dos lotes recolectados de *X. subtriangularis* se obtuvieron ácidos grasos, tanto de los extractos obtenidos de la esponja procesada húmeda como de la esponja seca (fracciones XsN, XsA, XsFEP-A, XsFEP'-G, Xs2FEP-D, Xs2FEP-F y Xs2SEP-F). Las fracciones XsA, Xs2FEP-F y Xs2SEP-F se esterificaron con diazometano, obteniéndose las fracciones XsAMet-B, Xs2FEP-FMet-A y Xs2SEP-FMetC que se analizaron por CG/EM.

Los resultados del análisis por CG/EM de los ácidos grasos metilados permitieron la identificación de los ácidos grasos de C-14 a C-27, lineales y ramificados, tanto saturados como insaturados. La presencia, así como la abundancia relativa de éstos, varía dependiendo de la fracción analizada y la procedencia de éstos.

Las tres fracciones presentaron un comportamiento similar a los ésteres metílicos obtenidos del extracto metanólico de la esponja húmeda en cuanto al porcentaje entre ácidos grasos de cadena saturada e insaturada, siendo siempre mayor aquellos de cadena insaturada (37.52, 64.46 y 56.35 % respectivamente); de igual modo, se observa un mayor porcentaje de abundancia para los ácidos de cadena par (52.4, 58.45 y 56.73% respectivamente); ya que el compuesto mayoritario en las tres fracciones fue el ácido demospóngico C-26 (LVI) (27.35, 41.68 y 50.57 % respectivamente).

Tabla 11. ÁCIDOS GRASOS Y ÉSTERES METÁLICOS OBTENIDOS DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis* (ANALIZADOS COMO ÉSTERES METÁLICOS POR CG/EM).

No. de Carbonos	FÓRMULA CONDENSADA	NOMBRE DEL ÁCIDO LINEAL	XsN-B	XsFEP-A	XsFEP'-G	Xs2FEP-D	XsAMet-B	Xs2FEP-FMetA	Xs2SEP-FMetC
C-14	$C_{14}H_{28}O_2$	Tetradecanoico (mirístico)	TR=6.23 A=0.52 TR ₁ =6.94 A ₁ =1.46	TR=6.24 A=? TR ₁ =6.95 A ₁ =0.96	TR=6.20 A=1.59	TR=4.51 A=?	TR=7.05 A=1.01	-----	-----
C-15	$C_{15}H_{30}O_2$	Pentadecanoico	TR=8.21 A=8.18 TR ₁ =8.44 A ₁ =7.50	TR=8.26 A=5.16 TR ₁ =8.46 A ₁ =3.55	TR=7.26 A=7.23 TR ₁ =7.40 A ₁ =3.19	TR=5.43 A=8.55 TR ₁ =5.88 A ₁ =1.38	TR=8.31 A=7.43	-----	TR=15.40 A=? TR ₁ =16.01 A ₁ =?
C-16	$C_{16}H_{30}O_2$	Δ^{11} -hexadecenoico*	TR=11.17 A=8.58	TR=11.17 A=8.24	TR=9.34 A=10.89	TR=6.94 A=3.55	TR=11.21 A=4.72	-----	TR=16.92 A=?
C-16	$C_{16}H_{32}O_2$	Hexadecanoico (palmitico)	TR=10.62 A=2.15 TR ₁ =11.44 A ₁ =9.89	TR=7.91 A=0.46 TR ₁ =10.57 A ₁ =1.41 TR ₂ =10.81 A ₂ =? TR ₃ =11.44 A ₃ =6.95	TR=8.98 A=1.30 TR ₁ =9.64 A ₁ =8.91	TR=6.61 A=1.02 TR ₁ =7.10 A ₁ =23.37	TR=10.68 A=1.40 TR ₁ =11.5 A ₁ =12.85	TR=8.00 A=6.01	TR=16.60 A=0.55 TR ₁ =17.00 A ₁ =3.10
C-17	$C_{17}H_{32}O_2$	Δ^{11} -heptadecenoico*	-----	TR=13.61 A=?	-----	-----	-----	-----	-----

TR= Tiempo de retencion
A= Porcentaje en la fraccion analizada

* Posicion probable del doble enlace
? Porcentaje no determinado

CONTINUACION

No. de Carbonos	Fórmula CONDENSADA	NOMBRE DEL ÁCIDO LINEAL	X _S N-B	X _S FEP-A	X _S FEP-G	X _S 2FEP-D	X _S AMet-B	X _S 2FEP-FMeIA	X _S 2SEP-FMeIC
C-17	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Heptadecanoico	TR=12.47 A=2.26	TR=12.38 A=1.63 TR ₁ =13.11 A ₁ =?	TR=10.41 A=3.75	TR=7.68 A=?	-----	-----	TR ₁ =18.39 A ₁ =? TR ₂ =18.71 A ₂ =?
C-18	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	Δ ¹¹ -octadecenoico*	-----	TR=15.81 A=1.78	TR=12.92 A=1.60	TR=9.43 A=0.65	-----	-----	-----
C-18	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Octadecanoico (estérico)	TR=16.20 A=2.80	-----	-----	TR=9.56 A=0.57	TR=16.44 A=2.75	TR=10.73 A=2.82	TR=19.65 A=0.97
C-19	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Δ ¹¹ -nonadecenoico*	TR=18.82 A=?	TR=18.19 A=0.52	TR=14.84 A=2.17	TR=10.63 A=2.02	TR=18.71 A=0.98	TR=11.94 A=1.94	TR=20.69 A=1.04
C-19	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Nonadecanoico	TR=17.26 A=1.39	TR=16.90 A=1.68	TR=13.94 A=3.55	TR=10.0 A=0.93	TR=17.47 A=1.52	TR=11.21 A=3.96	TR=20.37 A ₁ =?
C-20	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Eicosanoico (araquídico)	-----	-----	-----	-----	TR=20.05 A=0.45	TR=12.67 A=1.40 TR ₁ =13.11 A ₁ =0.78	TR=19.14 A=? TR ₁ =21.30 A ₁ =0.73 TR ₂ =21.68 A ₂ =?

TR= Tiempo de retención
 A= Porcentaje en la fracción analizada
 * Posición probable del doble enlace
 ? Porcentaje no determinado

CONTINUACION

No. de Carbonos	FÓRMULA CONDENSADA	NOMBRE DEL ÁCIDO LINEAL	XsN-B	XsFEP-A	XsFEP'-G	Xs2FEP-D	XsAMet-B	Xs2FEP-FMetA	Xs2SEP-FMetC
C-21	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	Δ ¹⁵ -heneicosenoico*	-----	TR=21.68 A=0.57	-----	-----	-----	-----	TR=22.69 A=?
C-21	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	Heneicosanoico	TR=21.37 A=1.38	TR=20.85 A=1.23 TR ₁ =21.36 A ₁ =0.44	-----	TR=12.15 A=? TR ₁ =12.5 A ₁ =?	TR=21.13 A=0.73 TR ₁ =21.6 A ₁ =0.81	TR=13.51 A=1.62 TR ₁ =13.77 A ₁ =0.87 TR ₂ =13.91 A ₂ =2.61	TR=22.01 A=0.66 TR ₁ =22.23 A ₁ =0.48 TR ₂ =22.35 A ₂ =1.57
C-22	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	Docosanoico (behénico)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	TR=23.21 A=? TR ₁ =23.33 A ₁ =? TR ₂ =23.54 A ₂ =?
C-23	C ₂₃ H ₄₄ O ₂	Δ ¹⁵ -tricosenoico*	-----	-----	-----	-----	-----	TR=16.19 A=2.31	TR=23.42 A=?
C-23	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	Tricosanoico	-----	-----	-----	-----	-----	TR=15.85 A=1.18 TR ₁ =15.97 A ₁ =1.01	TR=23.85 A=? TR ₁ =24.01 A ₁ =0.44 TR ₂ =24.13 A ₂ =0.45

TR= Tiempo de retencion

A= Porcentaje en la fraccion analizada

* Posicion probable del doble enlace

? Porcentaje no determinado

CONTINUACION

No. de Carbonos	FÓRMULA CONDENSADA	NOMBRE DEL ÁCIDO LINEAL	XsN-B	XsFEP-A	XsFEP ¹ -G	Xs2FEP-D	XsAMet-B	Xs2FEP-FMetA	Xs2SEP-FMetC
C-24	C ₂₄ H ₄₂ O ₂	$\Delta^{7,7,7}$ Tetracosatrienoico*	-----	-----	TR=26.42 A=1.52	-----	-----	-----	-----
C-24	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	Δ^{15} -tetracosenoico*	TR=25.17 A=2.14	TR=24.59 A=2.14	-----	TR=15.47 A=1.92	TR=24.73 A=3.06	TR=17.17 A=5.76	-----
C-24	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	Tetracosanoico (lignocérico)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	TR=24.38 A=? TR ₁ =24.95 A ₁ =?
C-25	C ₂₅ H ₄₆ O ₂	$\Delta^{5,9}$ - pentacosadienoico	TR=25.84 A=2.22	TR=25.25 A=2.99	-----	-----	TR=25.41 A=1.41	TR=17.99 A=1.12	TR=25.80 A=3.21
C-25	C ₂₅ H ₄₈ O ₂	Δ^{15} -pentacosenoico*	-----	-----	-----	-----	-----	-----	TR=25.62 A=0.83 TR ₁ =25.96 A ₁ =0.70
C-25	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	Pentacosanoico	TR=25.53 A=1.73	TR=24.96 A=1.58	-----	TR=15.85 A=0.95	TR=25.09 A=1.97	TR=17.62 A=6.42 TR ₁ =18.24 A ₁ =1.09	TR=25.48 A=4.88 TR ₁ =26.04 A ₁ =0.68
C-26	C ₂₆ H ₄₆ O ₂	$\Delta^{5,9,7}$ - hexacosatrienoico	-----	-----	TR=25.74 A=1.71	-----	-----	-----	-----

TR= Tiempo de retencion

A= Porcentaje en la fraccion analizada

* Posicion probable del doble enlace

? Porcentaje no determinado

No. de Carbonos	FÓRMULA CONDENSADA	NOMBRE DEL ÁCIDO LINEAL	XsN-B	XsFEP-A	XsFEP'-G	Xs2FEP-D	XsAMet-B	Xs2FEP-FMetA	Xs2SEP-FMetC
C-26	$C_{26}H_{48}O_2$	$\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico	TR=26.61 A=36.79	TR=26.17 A=34.82	TR=26.06 A=37.28	TR=17.08 A=26.80	TR=26.16 A=27.35	TR=18.95 A=23.20	TR=26.16 A=? TR ₁ =26.69 A ₁ =50.57
C-26	$C_{26}H_{50}O_2$	Δ^{15} -hexacosenoico*	-----	-----	-----	TR=17.22 A=4.76	-----	TR=19.13 A=18.48	-----
C-26	$C_{26}H_{52}O_2$	Hexacosanoico (cerótico)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	TR=26.32 A=0.81
C-27	$C_{27}H_{50}O_2$	$\Delta^{5,9}$ -Heptacosadienoico	TR=27.52 A=12.31	TR=26.38 A=7.0 TR ₁ =26.84 A ₁ =10.66	TR=26.78 A=4.62 TR ₁ =28.07 A ₁ =10.69	TR=17.36 A=3.36 TR ₁ =17.9 A ₁ =12.99	-----	TR=19.97 A=6.54	-----
C-27	$C_{27}H_{52}O_2$	Δ^{15} -Heptacosenoico*	-----	-----	-----	TR=18.16 A=2.81	-----	TR=20.25 A=5.11	-----
C-27	$C_{27}H_{54}O_2$	Heptacosanoico	-----	-----	-----	TR=17.56 A=0.93	-----	TR=19.57 A=2.54	-----
C-28	$C_{28}H_{56}O_2$	Octacosanoico (montanólico)	-----	-----	-----	TR=17.67 A=0.29	-----	-----	-----

TR= Tiempo de retencion
A= Porcentaje en la fraccion analizada

* Posicion probable del doble enlace
? Porcentaje no determinado

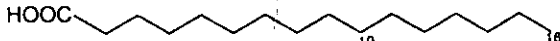
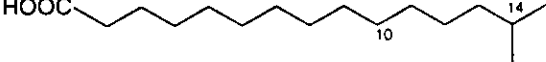
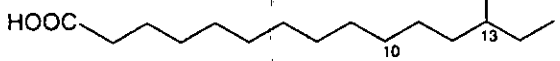
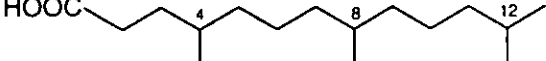
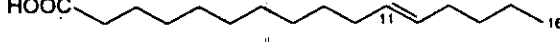
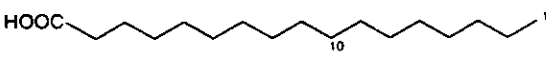
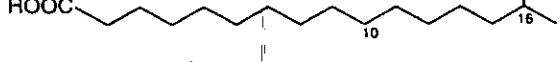
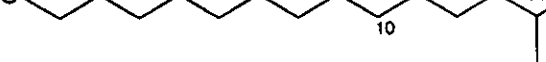
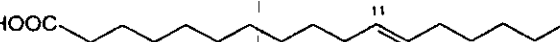

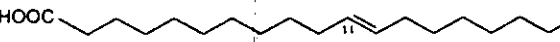
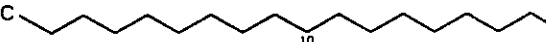
Todas las mezclas de ácidos grasos fueron líquidos viscosos a temperatura ambiente, de apariencia aceitosa y de color ligeramente amarillo.

IR ν_{\max} (Sol. CHCl_3) cm^{-1} : 3350 (-OH), 3006 (=C-H), 2929 y 2852 (-C-H), 1709 (-C=O), 1610 (-C=C-), 1469.6 y 1410.5(-CH₂-), 1364 cm^{-1} (-CH₃).

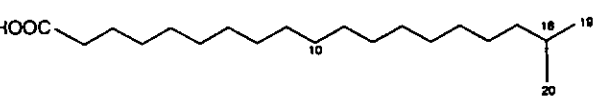
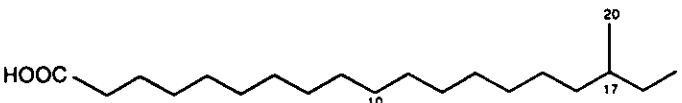
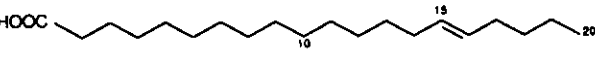
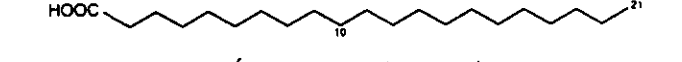
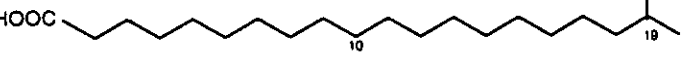
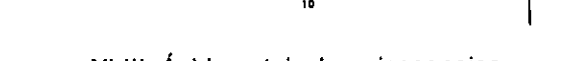
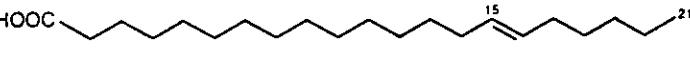
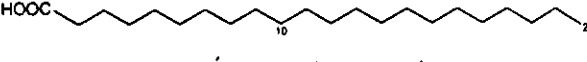
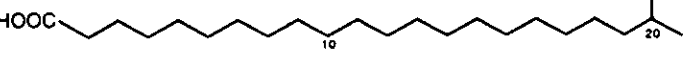
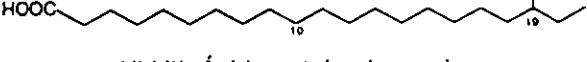
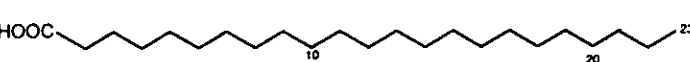
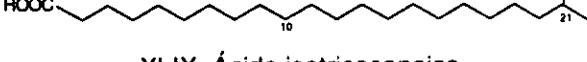
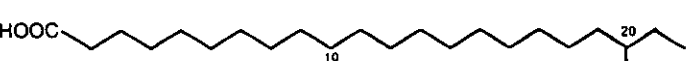
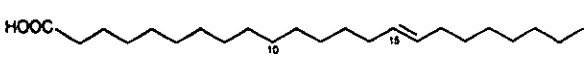
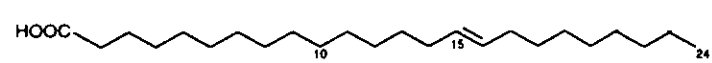
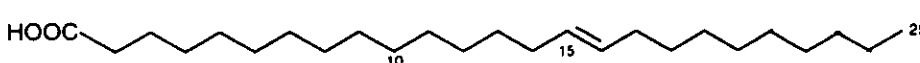
RMN ¹H (200 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, J = 7.0 Hz, CH₃-), 1.25 (s, -(CH₂)_n-), 2.3 (t, J = 7.5 Hz, -CH₂-CH₂-C=O), 5.35 (m, -CH=CH-).

El análisis cualitativo y cuantitativo de las mezclas de los ésteres metílicos aislados de la esponja y de los ácidos grasos metilados con diazometano para cada fracción se observan en la tabla 11 y las estructuras respectivas se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. ESTRUCTURAS DE LOS ÁCIDOS GRASOS TANTO SATURADOS COMO INSATURADOS OBTENIDOS DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis*

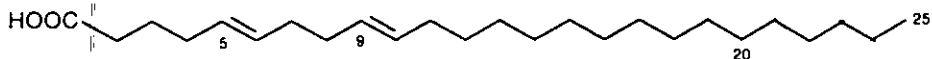
 <p>XXVI. Ácido <i>n</i>-hexadecanoico</p>	 <p>XXVII. Ácido isohexadecanoico</p>
 <p>XXVIII. Ácido anteisohexadecanoico</p>	 <p>XXIX. Ácido 4,8,12-trimetil-tridecanoico</p>
 <p>XXX. Ácido Δ^{11}-hexadecenoico*</p>	 <p>XXXI. Ácido <i>n</i>-heptadecanoico</p>
 <p>XXXII. Ácido isohexadecanoico</p>	 <p>XXXIII. Ácido anteisohexadecanoico</p>
 <p>XXXIV. Ácido Δ^{11}-heptadecenoico*</p>	 <p>XXXV. Ácido Δ^{11}-octadecenoico*</p>
 <p>XXXVI. Ácido Δ^{11}-nonadecenoico*</p>	 <p>XXXVII. Ácido <i>n</i>-eicosanoico</p>

* Posición probable del doble enlace

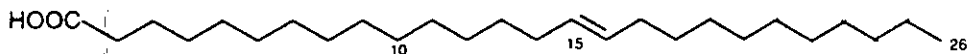
 <p>XXXVIII. Ácido isoeicosanoico</p>	 <p>XXXIX. Ácido anteisoeicosanoico</p>
 <p>XL. Ácido Δ^{15}-eicosenoico*</p>	 <p>XLI. Ácido <i>n</i>-heneicosanoico</p>
 <p>XLII. Ácido isoheneicosanoico</p>	 <p>XLIII. Ácido anteisoheneicosanoico</p>
 <p>XLIV. Ácido Δ^{15}-heneicosenoico*</p>	 <p>XLV. Ácido <i>n</i>-docosanoico</p>
 <p>XLVI. Ácido isodocosanoico</p>	 <p>XLVII. Ácido anteisodocanoico</p>
 <p>XLVIII. Ácido <i>n</i>-tricosanoico</p>	 <p>XLIX. Ácido isotricosanoico</p>
 <p>L. Ácido anteित्रicosanoico</p>	 <p>LI. Ácido Δ^{15}-tricosenoico*</p>
 <p>LII. Ácido Δ^{15}-tetracosenoico*</p>	
 <p>LIII. Ácido Δ^{15}-pentacosenoico*</p>	

* Posición probable del doble enlace

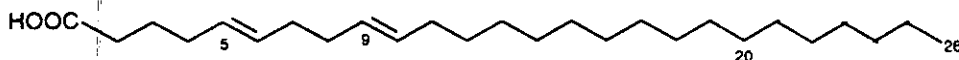
CONTINUACION



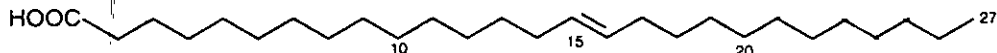
LIV. Ácido $\Delta^{5,9}$ -pentacosadienoico



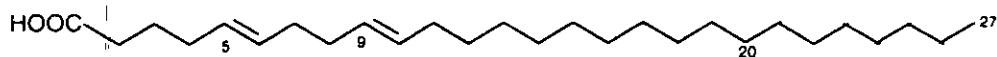
LV. Ácido Δ^{15} -hexacosenoico*



LVI. Ácido $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico



LVII. Ácido Δ^{15} -heptacosenoico*



LVIII. Ácido $\Delta^{5,9}$ -heptacosadienoico

* Posición probable del doble enlace

V. ESTEROLES.

Del extracto metanólico de la esponja de la primera recolección procesada húmeda (fracción XsFEP'-J), así como, de la esponja procesada tanto húmeda como seca de la segunda recolección (fracciones Xs2FEP-G y Xs2SEP-G) se obtuvo como esteroles mayoritarios el clionasterol (LXXI) (24-S-etilcolesterol; 24 α -etilcolesterol); además de tres derivados de éste que se identificaron espectroscópicamente como el 7-oxoclionasterol (LXXV) y una mezcla de 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) que no pudieron ser separados (Tabla 14).

El tratamiento del clionasterol (LXXI) obtenido, con anhídrido acético y piridina, dio el derivado acetilado correspondiente, el cual fue analizado por CG/EM. Los resultados mostraron la presencia de cantidades minoritarias de otros esteroles que se identificaron con base en sus patrones de fragmentación en los correspondientes espectros de masas (Tabla 13).

Tabla 13. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS POR CG/EM DE LAS MEZCLAS DE ESTEROLES OBTENIDAS DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis*.

COMPUESTO IDENTIFICADO	P.M.	F.M.	[M-AcOH] ⁺	XsN-EAcA		XsFEP'-IGAc		XsSEP-FEcAc		Xs2FEP-GAcB		Xs2SEP-GEAc	
				TR	A %	TR	A %	TR	A %	TR	A %	TR	A %
Estigmasta-2,5-dieno	396	C ₂₉ H ₄₈	-----	14.71	0.32	19.44	0.82	-----	-----	18.35	1.35	18.25	1.41
Ergosta-3,5,22-trieno	380	C ₂₈ H ₄₄	-----	-----	-----	19.63	0.36	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Ergosta-3,5-dieno	382	C ₂₈ H ₄₆	-----	-----	-----	20.00	0.36	21.45	0.91	-----	-----	-----	-----
Estigmasta-3,5,22-trieno	394	C ₂₉ H ₄₆	-----	-----	-----	20.16	0.92	19.75	4.13	-----	-----	-----	-----
Estigmasta-3,5-dieno	396	C ₂₉ H ₄₈	-----	15.94	2.70	20.52	11.2	-----	-----	19.33	10.0	19.75	10.4
Desmosterol (LXI)	384	C ₂₇ H ₄₄ O	366	17.65	0.83	22.00	0.72	21.33	1.06	21.45	1.42	21.37	1.11
Colesterol (LIX)	386	C ₂₇ H ₄₆ O	368	18.07	0.91	22.32	1.08	21.61	2.19	21.78	1.21	21.68	1.04
Brassicasterol y/o Crinosterol (LXV)	398	C ₂₈ H ₄₆ O	380	18.61	3.15	22.72	5.62	22.01	2.98	22.13	4.26	22.05	4.69
Mezcla del estigmasta- 3,5,22-trieno y Ergosta-3,5,22-trieno	396	C ₂₉ H ₄₈	-----	-----	-----	-----	-----	22.52	2.36	-----	-----	-----	-----
	380	C ₂₈ H ₄₄	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Dihidrobrassicasterol y/o Campesterol (LXIII)	400	C ₂₈ H ₄₈ O	382	19.48	1.92	23.42	3.28	22.64	2.64	22.76	3.86	22.68	3.41
Poriferasterol y/o Estigmasterol (LXVII)	412	C ₂₉ H ₄₈ O	394	19.88	1.72	23.72	4.72	22.95	-----	23.06	2.24	22.96	2.62
Petrosterol (LXXIII)	412	C ₂₈ H ₄₄	394	-----	-----	-----	-----	24.11	77.8	-----	-----	-----	-----
Clionasterol (LXXI) y/o Sitosterol (LXIX)	414	C ₂₉ H ₅₀ O	396	21.41	86.2	24.87	69.7	-----	-----	23.85	73.3	23.86	75.3

De los extractos de la esponja seca (fracción XsSEP-F) se obtuvo como principal esteroide, el petrosterol (LXXIII), así como el 7-oxopetrosterol (LXXVII) y el 7 α - y 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII) (Tabla 14). En este caso el análisis por CG/EM del producto de acetilación del petrosterol, también mostró la presencia de cantidades minoritarias de otros esteroides posiblemente relacionados con éste.

Las estructuras de los esteroides identificados, así como de sus derivados (acetatos de esteroides), se pueden observar en la tabla 14.

◦ Clionasterol (LXXI).

Cristales blancos, Pf. 144-146°, $[\alpha]_D -31.7^\circ$ (Pf. registrado: 147-148°; $[\alpha]_D$ registrado: -47.7°; DNP, 1996).

IR ν_{\max} (Sol. CHCl₃) cm⁻¹: 3607 (-OH), 3000 (=C-H), 2959 y 2871 (-C-H), 1465 y 1435 (-CH₂-), 1385 (-CH₃).

RMN ¹H, 500 MHz y RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃) (ver tablas 15 y 16).

EM-IE 70 eV, m/z (int.rel.): 414 (C₂₉H₅₀O) [M]⁺ (100), 399 [M-Me]⁺ (32), 396 [M-H₂O]⁺ (44), 381 [M-Me-H₂O]⁺ (27), 329 [M-C₆H₁₃]⁺ (35), 303 [M-C₈H₁₅]⁺ (38), 273 [M-C₁₀H₂₁ (M-CL)]⁺ (24), 255 [273-H₂O (M-CL-H₂O)] (31), 231 [(M-C₁₃H₂₆)-H (M-Anillo D-H)]⁺ (21), 213 [231-H₂O]⁺ (31).

NOTA: Las tablas 15 y 16 se encuentran al final de esta sección. En éstas se incluyen datos comparativos que serán discutidos en la siguiente sección.

◦ Acetato de clionasterol (LXXII).

Cristales blancos, Pf. 140-141° (Pf. registrado 140-141° DPN, 1996).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.678 (s, 3H, H₁₈), 0.812 (d, J = 7.0 Hz, 3H, H₂₆), 0.831 (d, J = 7.0 Hz, 3H, H₂₇), 0.853 (t, J = 7.5 Hz, 3H, H₂₉), 0.927 (d, 3H, J = 6.6 Hz, H₂₁), 1.019 (s, 3H, H₁₉), 2.029 (s, 3H, AcO), 2.317 (m, 2H, H₉), 4.604 (m, 1H, H₃), 5.373 (dd, J = 4.5 Hz, H₆).

◦ 7-oxoclionasterol (LXXV).

Sólido, Pf. 100-105°, $[\alpha]_D -46^\circ$ (Registrado: Pf. 138-139°; $[\alpha]_D -105.6^\circ$; Das y Srinivas, 1995).

IR ν_{\max} (Sol. CHCl₃) cm⁻¹: 3513 (-OH), 2958 y 2873 (-C-H), 1666 (-C=O), 1466 y 1433 (-CH₂-), 1385 (-CH₃).

RMN ¹H, 500 MHz y RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃) (ver tablas 18 y 19).

EM-IE 70 eV, m/z (int.rel.): 428 (C₂₉H₄₈O₂) [M]⁺ (100), 413 [M-Me]⁺ (6), 410 [M-H₂O]⁺ (7), 395 [M-Me-H₂O]⁺ (12), 287 [M-C₁₀H₂₁ (M-CL)]⁺ (14), 269 [M-CL-H₂O]⁺ (4), 245 [(M-C₁₃H₂₆)-H (M-Anillo D-H)]⁺ (5), 227 [245-H₂O]⁺ (4), 205 (11), 192 (24), 187 (10), 174 (5), 161 (15).

◦ Acetato del 7-oxoclonasterol (LXXVI).

RMN ¹H 500 MHz y ¹³C 125 MHz (CDCl₃) (ver tablas 18 y 19).

NOTA: Las tablas 18 y 19 se encuentran al final de esta sección. En éstas se incluyen datos comparativos que serán discutidos en la siguiente sección.

◦ 7α y 7β-hidroxiclonasterol (LXXVIII y LXXX)

Sólido, Pf. 136-137°, [α]_D -46°. (7α-hidroxiclonasterol: Pf. 225-226° y [α]_D -32.7°; 7β-hidroxiclonasterol: Pf. 157-158° y [α]_D -19.5°; DNP, 1996)

IR ν_{max} (Sol. CHCl₃) cm⁻¹: 3608 (-OH), 3000 (=C-H), 2958 y 2872 (-C-H), 1465 y 1440 (-CH₂-), 1380 (-CH₃).

RMN ¹H, 500 MHz y RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃) (ver tablas 20 y 21).

EM-IE 70 eV, m/z (int.rel.): 430 (C₂₉H₅₀O₂) [M]⁺ (13), 415 [M-Me]⁺ (3), 412 [M-H₂O]⁺ (100), 398 [M-Me-OH]⁺ (5), 396 [M-2OH]⁺ (4), 394 [M-2H₂O]⁺ (3), 384 [M-H₂O-C₂H₄]⁺ (2), 289 [M-C₁₀H₂₁ (M-CL)]⁺ (1), 271 [M-CL-H₂O]⁺ (2), 253 [M-CL-2H₂O]⁺ (2), 229 [(M-Anillo D-H₂O)-H]⁺ (2), 211 [(M-Anillo D-2H₂O)-H]⁺ (3), 175 (4), 161 (5), 135 (4), 109 (4.5), 107 (5), 95 (6), 81 (6), 69 (6.5), 55 (7), 43 (6).

◦ Acetatos del 7α y 7β-hidroxiclonasterol (LXXIX y LXXXI).

Sólido.

RMN ¹H 500 MHz (CDCl₃) (ver tablas 20 y 21).

CG/EM 70 eV, m/z (int.rel.): TR = 21.51, A = 80 %, 394 [M-2AcOH]⁺ (100), 379 [M-2AcOH-Me]⁺ (7), 253 [M-2AcOH-CL]⁺ (14).

NOTA: Las tablas 20 y 21 se encuentran al final de esta sección. En éstas se incluyen datos comparativos que serán discutidos en la siguiente sección.

◦ Petrosterol (LXXIII).

Sólido cristalino, Pf. 115-117°, [α]_D -27.11° (Pf. registrado 123-125° DNP, 1997; [α]_D registrado -33.4° Honda *et al.*, 1996).

RMN ¹H, 500 MHz y ¹³C, 125 MHz (CDCl₃). (ver tabla 17).

EM-IE 70 eV, m/z (int.rel.): 412 (C₂₉H₄₈O) [M]⁺ (100), 397 [M-Me]⁺ (17), 394 [M-H₂O]⁺ (18), 379 [M-Me-H₂O]⁺ (10), 377 [M-C₃H₆-Me-H₂O]⁺ (3), 370 [M-C₃H₆]⁺ (8), 355 [M-C₃H₆-Me]⁺ (7), 352 [M-C₃H₆-H₂O]⁺ (5), 327 [M-C₈H₁₁-2H (M-85)]⁺ (13), 314 [M-C₇H₁₄]⁺ (21), 301 [M-C₈H₁₅ (M-111)]⁺ (19), 300 [M-C₈H₁₆]⁺ (14), 273 [M-C₁₀H₁₉ (M-CL)]⁺ (27), 271 [M-CL-2H]⁺ (65), 255 [M-CL-H₂O]⁺ (16), 253 [M-CL-2H-H₂O]⁺ (15), 231 [(M-C₁₃H₂₄)-H (M-Anillo D-H)]⁺ (13), 213 [231-H₂O]⁺ (17).

NOTA: La tabla 17 se encuentran al final de esta sección. En éstas se incluyen datos comparativos que serán discutidos en la siguiente sección.

◦ Acetato de Petrosterol (LXXIV).

Sólido cristalino, Pf. 109-110°, $[\alpha]_D -40.38^\circ$ (Registrado: Pf. 112-114° y $[\alpha]_D -41.5^\circ$ Sica y Zollo, 1978).

◦ 7-oxopetrosterol (LXXVII).

Sólido, Pf. 116 - 117°, $[\alpha]_D -77-56^\circ$

IR ν_{max} (Sol. $CHCl_3$) cm^{-1} : 3609 (-OH), 2950 (=C-H), 2920 y 2856 (-C-H), 1666 (C=O), 1462 y 1430 (-CH₂-), 1379 (-CH₃).

RMN ¹H, 500 MHz y RMN ¹³C, 125 MHz ($CDCl_3$) (ver tablas 18 y 19).

EM-IE 70 eV, m/z (int.rel.): 426 ($C_{29}H_{46}O_2$) [M]⁺ (78), 411 [M-Me]⁺ (7), 408 [M-H₂O]⁺ (5), 393 [M-Me-H₂O]⁺ (10), 384 [M-C₃H₆]⁺ (30), 369 [M-C₃H₆-Me]⁺ (10), 351 [M-C₃H₆-Me-H₂O]⁺ (2), 341 [M-C₆H₁₁-2H (M-85)]⁺ (6), 328 [M-C₇H₁₄]⁺ (30), 315 [M-C₈H₁₅ (M-111)]⁺ (24), 314 [M-C₈H₁₆]⁺ (26), 287 [M-C₁₀H₁₉ (M-CL)]⁺ (32), 285 [M-CL-2H]⁺ (100), 269 [M-CL-H₂O]⁺ (7), 267 [M-CL-H₂O-2H]⁺ (4), 245 [M-Anillo D-H]⁺ (11), 227 [(M-Anillo D-H₂O)-H]⁺ (6), 205 (25), 192 (26), 187 (14), 174 (6), 161 (18).

EM-FAB⁺ alta resolución (Xe, 6kV): $C_{29}H_{46}O_2$ estimado 427.3576, observado 427.3569.

NOTA: Las tablas 18 y 19 se encuentran al final de esta sección. En éstas se incluyen datos comparativos que serán discutidos en la siguiente sección.

◦ 7 α y 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII).

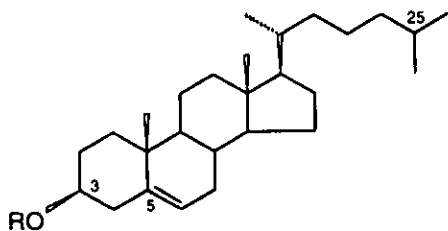
Sólido, Pf. 122-124°, $[\alpha]_D -7.54^\circ$.

RMN ¹H 500 MHz y ¹³C 125 MHz ($CDCl_3$) (ver tablas 20 y 21).

EM-IE 70 eV, m/z (int.rel.): 428 ($C_{29}H_{48}O_2$) [M]⁺ (14), 413 [M-Me]⁺ (10), 410 [M-H₂O]⁺ (100), 396 [M-Me-HO]⁺ (8), 395 [M-H₂O-Me]⁺ (5), 392 [M-2H₂O]⁺ (4), 386 [M-C₃H₆]⁺ (1), 371 [M-C₃H₆-Me]⁺ (2), 353 [M-C₃H₆-Me-H₂O]⁺ (1), 330 [M-C₇H₁₄]⁺ (2), 316 [M-C₈H₁₆]⁺ (1), 289 [M-C₁₀H₁₉ (M-CL)]⁺ (2), 287 [M-CL-2H]⁺ (7), 271 [M-CL-H₂O]⁺ (4), 269 [M-CL-2H-H₂O]⁺ (5), 253 [M-CL-2H₂O]⁺ (4), 251 [M-CL-2H-2H₂O]⁺ (2), 247 [(M-Anillo D)-H]⁺ (4), 229 [(M-Anillo D-H₂O)-H]⁺ (5), 211 [(M-Anillo D-2H₂O)-H]⁺ (3), 175 (5), 161 (9), 135 (8), 109 (9), 107 (9), 95 (12), 81 (13), 69 (13), 55 (21), 43 (11).

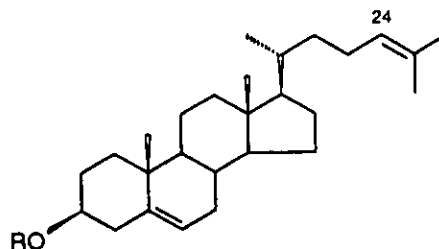
NOTA: Las tablas 20 y 21 se encuentran al final de esta sección. En éstas se incluyen datos comparativos que serán discutidos en la siguiente sección.

Tabla 14. ESTRUCTURAS DE LOS ESTEROLES OBTENIDOS DE LA ESPONJA FRESCA Y SECA (*Xestospongia subtriangularis*) Y SUS DERIVADOS.



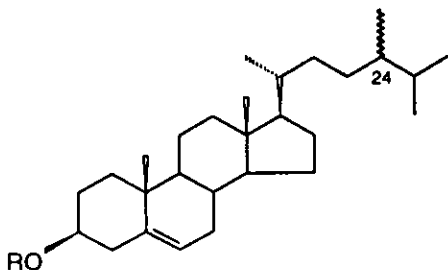
R = H, LIX. Colesterol.

R = Ac, LX. Acetato de colesterol.



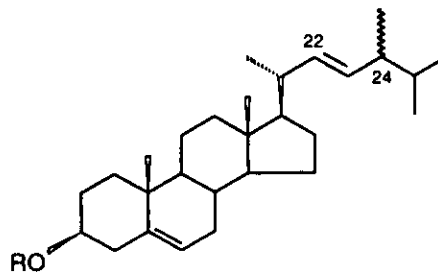
R = H, LXI. Desmosterol.

R = Ac, LXII. Acetato de desmosterol.



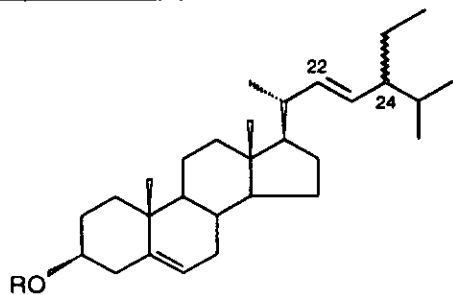
R = H, LXIII. 24 α -metil-colesterol (dihidrobrassicasterol) y 24 β -metil-colesterol (campesterol).

R = Ac, LXIV. Acetato de dihidrobrassicasterol y acetato de campesterol.



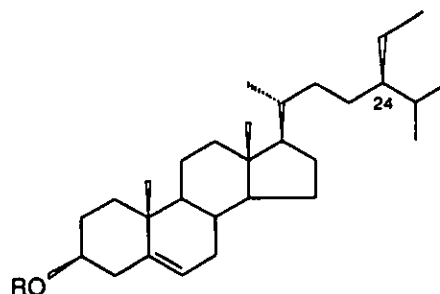
R = H, LXV. 24 α -metil-22-en-colesterol (brassicasterol) y 24 β -metil-22-en-colesterol (crinosterol).

R = Ac, LXVI. Acetato de brassicasterol y acetato de crinosterol.



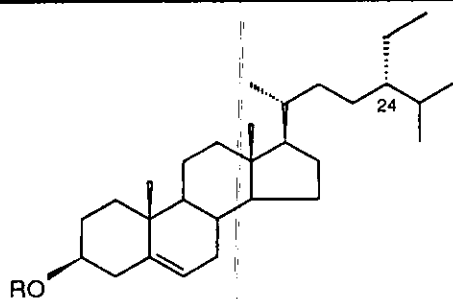
R = H, LXVII. 24 α -etil-22-en-colesterol (poriferasterol) y 24 β -etil-22-en-colesterol (estigmasterol).

R = Ac, LXVIII. Acetato de poriferasterol y acetato de estigmasterol.

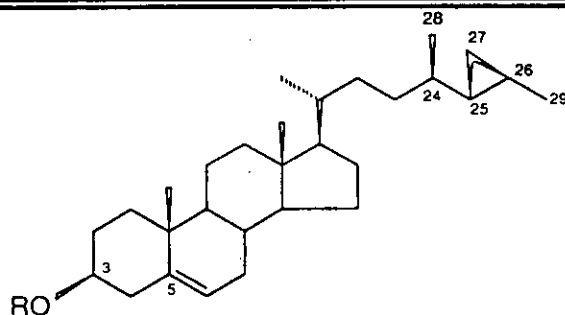


R = H, LXIX. β -sitosterol.

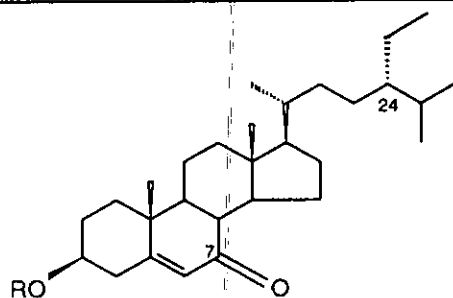
R = Ac, LXX. Acetato del β -sitosterol.



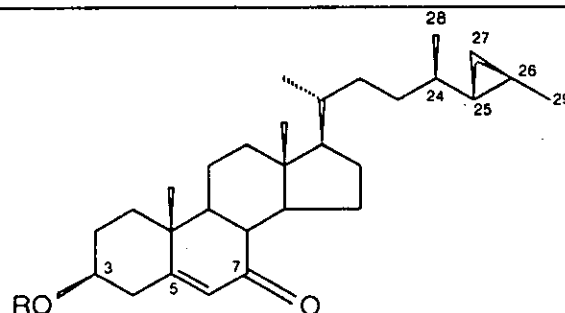
R = H, LXXI. Clionasterol
R = Ac, LXXII. Acetato de clionasterol



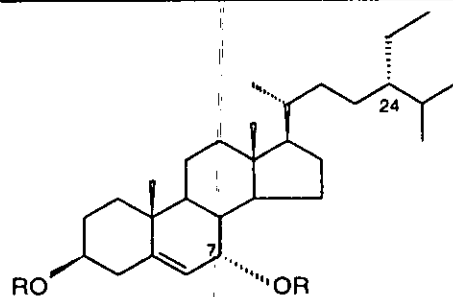
R = H, LXXIII. Petrosterol
R = Ac, LXXIV. Acetato de petrosterol



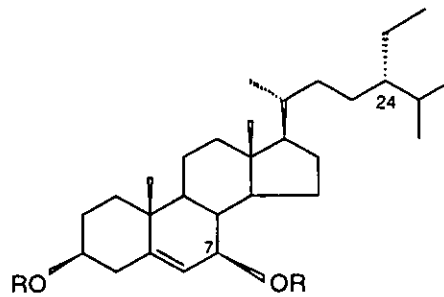
R = H, LXXV. 7-oxoclonasterol
R = Ac, LXXVI. Acetato del 7-oxoclonasterol



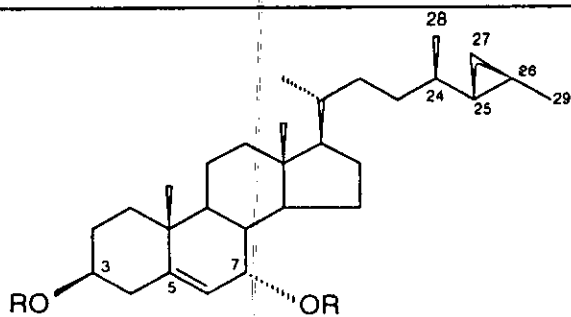
R = H, LXXVII. 7-oxopetrosterol



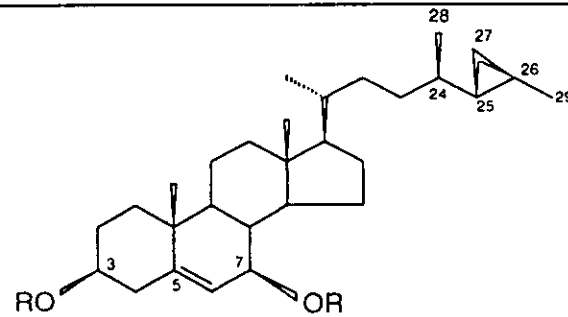
R = H, LXXVIII. 7 α -hidroxiclonasterol
R = Ac, LXXIX. Acetato del 7 α -hidroxiclonasterol



R = H, LXXX. 7 β -hidroxiclonasterol
R = Ac, LXXXI. Acetato del 7 β -hidroxiclonasterol



R = H, LXXXII. 7 α -hidroxipetrosterol



R = H, LXXXIII. 7 β -hidroxipetrosterol

Tabla 15. DATOS COMPARATIVOS ESPECTROSCÓPICOS DE RMN ¹H
DEL CLIONASTEROL (LXXI) y β-SITOSTEROL (LXIX).

H	Este trabajo Clionasterol (LXXI)	Bohlin <i>et al.</i> 1981 Clionasterol (zooxantela)	Rao y Pullaiah 1982 Clionasterol (alga verde)	Matsumoto <i>et al.</i> 1983 Clionasterol (semillas)	Sica <i>et al.</i> 1984 Clionasterol (alga verde)	Fujimoto <i>et al.</i> 1984 Clionasterol (síntesis)	Horibe <i>et al.</i> 1989 Clionasterol (síntesis)	Este trabajo Acetato de Clionasterol (LXXII)	Rubistein <i>et al.</i> 1976. Acetato Clionasterol (alga marina)	Rao y Pullaiah 1982. Acetato Clionasterol (alga verde)
1	1.07 y 1.84	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
2	1.48 y 1.82	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
3	3.52 t (11,5)	-----	3.528 m	-----	-----	3.53 m	3.526 m	4.604 m	-----	-----
4	2.22 ddc (13,11,2) y 2.28 ddd (13,5,2)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	2.317	-----	-----
5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
6	5.35 ddd (5,2,2)	-----	5.374 d (4,9)	-----	-----	5.36 m	5.354 d (5,5)	5.373 d (7,5)	-----	-----
7	1.50 y 1.97 dddd	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
8	1.50	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
9	0.93	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
11	1.50 y 1.00	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
12	1.15 y 2.00	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
13	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
14	1.00	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
15	1.05 y 1.56	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
16	1.26 y 1.83	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
17	1.51	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
18	0.68	0.677 s	0.683 s	0.68 s	0.68 s	0.68 s	0.68 s	0.678 s	0.673s	0.677 s
19	1.01	1.008 s	1.012 s	1.009 s	1.01 s	1.009 s	1.010 s	1.019 s	1.013 s	1.008 s
20	1.3 s	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
21	0.93 d (6,5)	0.924 d (6,5)	0.928 d (6,4)	0.925 d (6,4)	0.927 d (6,5)	0.926 d (6,5)	0.926 d (6,5)	0.926 d (7)	0.920 d (6,5)	0.924 d (6,5)
22	0.98 y 1.35	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
23	1.02 y 1.32	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
24	0.92	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
25	1.68 m	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
26	0.81 d (7)	0.809 d (7)	0.814 d (6,7)	0.813 d (6,8)	0.813 d (6,8)	0.812 d (7)	0.812 d (7)	0.811 d (7)	0.805 d (6,8)	0.809 d (7)
27	0.83 d (7)	0.829 d (7,1)	0.83 d (6,7)	0.833 d (6,9)	0.832 d (6,8)	0.832 d (7)	0.831 d (7)	0.832 d (7)	0.825 d (6,8)	0.829 d (7,1)
28	1.12 y 1.32	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
29	0.85 t (7,5)	0.853 t (7,3)	0.853 t (7,6)	0.854 t (7,4)	0.855 t (7,4)	0.855 t (7,4)	0.855 t (7,5)	0.85 t (7,5)	0.845 t (7,2)*	0.853 t (7,3)
Ac.	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	2.029 s	-----	2.027

*Asignación errónea.

CONTINUACIÓN

H	Este trabajo Clionasterol (LXXI)	Rubistein <i>et al.</i> 1976. β -Sitosterol (alga marina)	Matsumoto <i>et al.</i> 1983 β -Sitosterol (semillas)	Sica <i>et al.</i> 1984 β -Sitosterol (alga verde)	Horibe <i>et al.</i> 1989 β -Sitosterol = (síntesis)	Aliotta <i>et al.</i> 1990 β -Sitosterol (planta acuática)	Greca <i>et al.</i> 1990 β -Sitosterol (planta acuática)	Rubistein <i>et al.</i> 1976 Acetato β -Sitosterol (alga marina)
1	1.07 y 1.84	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
2	1.48 y 1.82	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
3	3.52 t (11,5)	-----	-----	-----	3.526 m	3.521 m	3.52 m	-----
4	2.22 ddc (13,11,2) y 2.28 ddd (13,5,2)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
6	5.35	-----	-----	-----	5.353 d (5.5)	5.353 m	5.35 m	-----
7	1.50 y 1.97	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
8	1.50	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
9	0.93	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
11	1.50 y 1.00	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
12	1.15 y 2.00	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
13	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
14	1.00	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
15	1.05 y 1.56	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
16	1.26 y 1.83	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
17	1.51	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
18	0.68	0.68 s	0.68 s	0.68 s	0.681 s	0.689 s	0.69 s	0.676 s
19	1.01	1.007 s	1.009 s	1.009 s	1.009 s	1.009 s	1.01 s	1.017 s
20	1.3 s	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
21	0.93 d	0.919 d (6.5)	0.921 d (6.6)	0.912 d (6.8)	0.922 d (6.5)	0.921 d (6.4)	0.92 d	0.918 d (6.5)
22	0.98 y 1.35	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
23	1.02 y 1.32	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
24	0.92	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
25	1.68 m	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
26	0.81 d	0.813 d (6.8)	0.813 d (7.3)	0.814 d (6.8)	0.814 d (7)	-----	0.83 d	0.809 d (6)
27	0.83 d	0.833 d (6.8)	0.835 d (6.8)	0.835 d (6.7)	0.836 d (7)	0.832 d (6.8)	0.81 d	0.831 d (6.1)
28	1.12 y 1.32	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
29	0.85 t	0.842 t (7.2)	0.844 t (7.6)	0.846 t (7.2)	0.846 t (7.5)	0.848 t (7.8)	0.85 t	0.841 t (7.2)

Tabla 16. DATOS COMPARATIVOS ESPECTROSCÓPICOS DE RMN ¹³C DEL CLIONASTEROL (LXXI) y β-SITOSTEROL (LXIX).

C	Este trabajo Clionasterol (LXXI)	Wright <i>et al.</i> 1978 Clionasterol (alga marina)	Rao y Pullaiah, 1982 Clionasterol (alga verde)	Horibe <i>et al.</i> 1989 Clionasterol (síntesis)	Valls <i>et al.</i> 1994 Clionasterol (alga verde)
1	37.22	37.31	37.32	37.26	37.29
2	31.59	31.57	31.60	31.68	31.67
3	71.73	71.69	71.71	71.81	71.85
4	42.24	42.25	42.26	42.32	-----
5	140.76	140.76	140.77	140.76	140.48
6	121.67	121.59	121.61	121.71	121.73
7	31.86	31.92	31.94	31.92	31.94
8	31.86	31.92	31.94	31.92	-----
9	50.10	50.17	50.17	50.14	50.17
10	36.45	36.51	36.52	36.51	36.53
11	21.04	21.11	21.4	21.09	21.11
12	39.73	39.81	39.81	39.77	39.81
13	42.24	42.33	42.34	42.32	42.32
14	56.72	56.79	56.80	56.77	56.79
15	24.27	24.32	24.33	24.31	24.33
16	28.19	28.26	28.27	28.24	28.27
17	56.00	56.11	56.11	56.04	56.08
18	11.80	11.87	11.90	11.88	11.88
19	19.35	19.40	19.42	19.40	19.41
20	36.23	36.29	36.28	36.27	36.30
21	18.79	18.82	18.83	18.84	18.85
22	33.87	33.95	33.96	33.93	33.95
23	26.34	26.43	26.42	26.39	26.42
24	46.01	46.07	46.09	46.07	46.10
25	28.90	28.98	28.98	28.96	28.98
26	18.94	19.07	19.12	18.98	19.00
27	19.55	19.62	19.64	19.60	19.62
28	22.97	23.09	23.12	23.03	23.05
29	12.27	12.32	12.35	12.32	12.34

CONTINUACIÓN

C	Este trabajo Clionasterol (LXXI)	Wright <i>et al.</i> 1978 β-Sitosterol (soya)	Holland <i>et al.</i> 1978 β-Sitosterol (síntesis)	Holland <i>et al.</i> 1978 Acetato de β-Sitosterol (síntesis)	Seo <i>et al.</i> 1986 β- Sitosterol (síntesis)	Chaurasia y Wichtl, 1987 β-Sitosterol (planta terrestre)	Fukuyama <i>et al.</i> 1986 β-Sitosterol (planta terrestre)	Horibe <i>et al.</i> 1989 β-Sitosterol (síntesis)	Greca <i>et al.</i> 1990 β-Sitosterol (planta acuática)	Valls <i>et al.</i> 1994 β-Sitosterol (alga verde)	Guerrero 1997 β-Sitosterol (planta terrestre)
1	37.22	37.31	37.3	37.1	37.3	37.24 t	37.25	37.27	37.33	37.29	37.27
2	31.59	31.57	31.8	27.8	31.69	31.61 t	31.62	31.64	31.63	31.67	31.69
3	71.73	71.69	71.9	74.1	71.78	71.78 d	71.16	71.77	71.73	71.80	71.83
4	42.24	42.25	42.4	38.2	42.25	42.28 t	42.32	42.29	42.20	-----	42.34
5	140.76	140.76	140.9	139.8	141.77	140.71s	140.74	140.76	140.71	140.78	140.82
6	121.67	121.59	121.8	122.7	121.66	121.68 d	121.70	121.69	121.63	121.73	121.73
7	31.86	31.92	32.0	32.0	31.94	31.89 t	31.62	31.92	31.96	31.94	31.92
8	31.86	31.92	32.0	32.0	31.94	31.89 d	31.89	31.92	31.81	-----	31.92
9	50.10	50.17	50.3	50.2	50.19	50.11 d	50.12	50.15	51.13	50.17	50.17
10	36.45	36.51	36.6	36.6	36.52	36.48 s	36.49	36.51	36.43	36.53	36.52
11	21.04	21.11	21.1	21.0	21.11	21.07 t	21.07	21.10	21.09	21.11	21.08
12	39.73	39.81	39.9	39.8	39.82	39.77 t	39.76	39.80	39.79	39.81	39.80
13	42.24	42.33	42.4	42.3	42.28	42.28 s	42.32	42.33	42.37	42.32	42.34
14	56.72	56.79	56.8	56.7	56.81	56.75 d	56.76	56.78	56.75	56.79	56.79
15	24.27	24.32	24.3	24.3	24.32	24.28 t	24.29	24.31	24.15	24.33	24.30
16	28.19	28.26	28.2	28.3	28.25	28.24 t	28.28	28.25	28.25	28.27	28.22
17	56.00	56.11	56.2	56.1	56.12	54.04 d	56.05	56.08	54.02	56.08	56.09
18	11.80	11.87	11.9	11.9	11.87	11.85 c	11.56	11.86	11.84	11.88	11.84
19	19.35	19.40	19.4	19.3	19.40	19.40 c	19.30	19.39	19.46	19.41	19.38
20	36.23	36.17	36.2	36.2	36.17	36.12 d	36.14	36.16	36.07	36.18	36.15
21	18.79	18.82	19.1	19.1	18.81	19.02 c	18.77	18.80	18.68	18.81	18.76
22	33.87	33.95	34.0	34.0	34.00	33.92 t	33.92	33.96	33.95	33.98	33.97
23	26.34	26.13	26.2	26.2	26.19	26.06 d	26.23	26.11	26.10	26.12	26.15
24	46.01	45.85	50.3	50.0	45.89	45.80 d	45.61	45.85	45.82	45.87	45.88
25	28.90	29.18	29.3	29.3	29.24	29.13 t	29.14	29.18	29.15	29.18	29.20
26	18.94	19.84*	18.8	18.8	19.09	18.77 c	19.03	19.05	19.77*	19.84*	19.03
27	19.55	19.07*	19.8	19.8	19.81	19.80 c	19.70	19.82	19.21*	19.06*	19.78
28	22.97	23.09	23.1	23.1	23.12	22.04 t	23.06	23.08	23.13	23.10	23.09
29	12.27	12.32	11.9	11.9	12.01	11.97 c	11.66	11.99	11.04	12.00	11.96

*Puede estar invertida la asignación.

Tabla 17. DATOS COMPARATIVOS ESPECTROSCÓPICOS DE RMN ¹H Y DE RMN ¹³C DEL PETROSTEROL (LXXIII).

H	Este trabajo Petrosterol (LXXIII)	Ravi <i>et al.</i> 1978 Petrosterol (esponja marina)	Sica y Zollo, 1978 Petrosterol (esponja marina)	Carballeira y Reyes, 1990 Petrosterol (esponja marina)	Honda <i>et al.</i> 1996 Petrosterol (síntesis)	Sica y Zollo, 1978 Acetato Petrosterol (esponja marina)	Proudfoot y Djerassi, 1984 Acetato de Petrosterol (síntesis)	C	Este trabajo Petrosterol (LXXIII)	Sica y Zollo, 1978 Acetato Petrosterol (esponja marina)
1	1.08 y 1.84	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1	37.27	-----
2	1.50 y 1.82	-----	-----	-----	-----	-----	-----	2	31.92	-----
3	3.52 tt (11,5)	-----	3.54 m	-----	3.44 - 3.61 m	4.60 m	4.6 m	3	71.81	-----
4	2.23 ddc (13,11,2) y 2.30 ddd (13,5,2)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	4	42.32	-----
5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	5	140.82	139.5
6	5.35 dt (5,5,2)	-----	5.37 d	5.36	5.31 - 5.38 m	5.38 d	5.4 d	6	121.72	122.6
7	1.48 y 1.97	-----	-----	-----	-----	-----	-----	7	31.92	-----
8	1.50	-----	-----	-----	-----	-----	-----	8	31.92	-----
9	0.92	-----	-----	-----	-----	-----	-----	9	50.18	-----
10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	10	36.51	36.5
11	1.50 (2H)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	11	21.09	-----
12	1.16 y 2.02 dt (12,5,3,5)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	12	39.82	-----
13	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	13	42.32	42.3
14	1.10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	14	56.81	-----
15	1.06 y 1.56	-----	-----	-----	-----	-----	-----	15	24.29	-----
16	1.26 y 1.84	-----	-----	-----	-----	-----	-----	16	28.22	-----
17	1.00	-----	-----	-----	-----	-----	-----	17	56.18	-----
18	0.6835	0.683 s	0.68	0.68	0.684 s	0.69	0.678 s	18	11.85	-----
19	1.0105	1.010 s	1.02	1.03	1.010 s	1.02	1.016 s	19	19.38	-----
20	1.36	-----	-----	-----	-----	-----	-----	20	35.93	-----
21	0.921 d (6,5)	0.92 d (6,5)	0.89 d (7,5)	-----	0.92 d (6,5)	-----	1.005 d (6,65)**	21	18.71	-----
22	1.00 y 1.46	-----	-----	-----	-----	-----	-----	22	33.51	-----
23	1.26 y 1.32	-----	0.04**	0.06**	-----	-----	-----	23	33.93	-----
24	0.60	0.55*	0.20**	0.16**	0.54 m*	-----	-----	24	38.70	-----
25	0.13	0.65*	-----	-----	0.65 m*	0.54***	-----	25	27.39	-----
26	0.45	0.4 y 0.5 m	0.92 d (7,5)**	0.92**	0.35 y 0.50 m	0.03***	-----	26	12.73	-----
27	0.08 y 0.15	0.05 y 0.18 m	0.92 d (7,5)**	0.92**	0.02 y 0.20 m	0.25***	-----	27	11.57	-----
28	0.889 d (7,0)	0.891 d (6,5)	0.40 y 0.52**	-----	0.89 d (6,5)	0.36***	0.918 d (6,56)**	28	19.81	-----
29	1.01 d (5,5)	1.004 d (6)	1.01 d (6)	1.01	1.01 d (6)	-----	0.888 d (6,7)**	29	19.11	-----
Ac.	-----	-----	-----	-----	-----	2.01	2.032 s	Ac	-----	170

* Es la suma de C-24 y C-25 como una señal múltiple.

***Datos reasignados.

** Asignación y estructura errónea.

Tabla 18. DATOS COMPARATIVOS ESPECTROSCÓPICOS DE RMN ¹H DEL 7-OXOCLONASTEROL (LXXV), 7-OXOSITOSTEROL Y 7-OXOPETROSTEROL (LXXVII).

H	Este trabajo 7-oxo- clonasterol (LXXV)	Das y Srinivas, 1992 7-oxo- clonasterol (alga roja)	Notaro <i>et.al.</i> 1992 7-oxoclonas- terol (esponja marina)	De Riccardis, 1993 7-oxo- clonasterol (esponja marina)	Este trabajo Acetato de 7-oxo- clonasterol	Das y Sriniva 1992 Acetato de 7-oxo- clonasterol	Greca <i>et.al.</i> 1990 7-oxo- sitosterol (planta acuática)	Notaro <i>et.al.</i> 1992 7-oxo- sitosterol (esponja marina)	Guerriero <i>et.al.</i> 1993 7-oxositos- terol (esponja marina)	Este trabajo 7-oxo- petrosterol (LXXVII)
1	1.21 y 1.94	-----	-----	-----	1.24 y 1.94	-----	-----	-----	1.19 y 1.94 H ₂	1.22 y 1.94
2	1.62 y 1.94	-----	-----	-----	1.67 m y 1.98	-----	-----	-----	1.61 y 1.92 H ₂	1.62 y 1.92
3	3.67 m	3.62 m	3.67 m	3.69 m	4.72	4.75 m	3.69 m	3.67 m	3.67 H	3.68
4	2.39 y 2.50	-----	2.39 y 2.50 ddd (14.7,5.1,2,2)	-----	2.46 y 2.55	-----	-----	2.39 y 2.50 ddd (14.7,5.1,2,2)	2.41 y 2.50 H ₂	2.40 y 2.51
5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
6	5.691 d	5.65 s	5.69 d (1.5)	5.70	5.70 m	-----	5.70 d	5.69 d (1.5)	5.69 H	5.69
7	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
8	2.24	-----	2.24 dd (11,11)	-----	2.225	-----	-----	2.24 dd (11,11)	2.24 H	2.24
9	1.50*	-----	-----	-----	1.54*	-----	-----	-----	*1.50	1.52
10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
11	1.56	-----	-----	-----	1.56	-----	-----	-----	1.56 H ₂	1.58
12	1.12 y 2.02	-----	-----	-----	1.13 y 2.02	-----	-----	-----	1.10 y 2.03 H ₂	1.14 y 2.03
13	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
14	1.32*	-----	-----	-----	1.32 *	-----	-----	-----	*1.28	1.34
15	1.30 y 2.40	-----	-----	-----	1.26 y 2.39	-----	-----	-----	1.29 y 2.40 H ₂	1.26 y 2.40
16	1.30 y 1.94	-----	-----	-----	1.26 y 1.88	-----	-----	-----	1.24 y 1.89 H ₂	1.28 y 1.91
17	1.10	-----	-----	-----	1.115	-----	-----	-----	1.09 H	1.10
18	0.682 s	0.69 s	0.68 s	0.69 s	0.684 s	0.68 s	0.69 s	0.68 s	0.68s H ₃	0.69
19	1.197 s	1.20 s	1.19 s	1.21 s	1.215 s	1.20 s	1.20 s	1.19 s	1.20s H ₃	1.20
20	1.36	-----	-----	-----	1.358	-----	-----	-----	1.35 H	1.36
21	0.93 d	0.92 d (6.5)	0.93 d (6.7)	0.93 d (7)	0.934 d	0.92 d (6.5)	0.93 d	0.92 d (6.7)	0.93d H ₃	0.93
22	1.00 y 1.36	-----	-----	-----	0.99 y 1.38	-----	-----	-----	0.96 y 1.36 H ₂	1.04 y 1.19
23	1.02 y 1.30	-----	-----	-----	1.02 y 1.26	-----	-----	-----	1.00 y 1.22 H ₂	1.26 y 1.34
24	0.92	-----	-----	-----	0.91	-----	-----	-----	0.95 H	0.6
25	1.67	-----	-----	-----	1.68	-----	-----	-----	1.66 H	0.14
26	0.81 d	0.81 d (7)	0.81 d (6.6)	0.81 d (7)	0.828 d	0.81 d (7)	0.82 d	0.81 d (6.6)	0.81 d H ₃	0.45
27	0.83 d	0.82 d (7)	0.83 d (6.6)	0.84 d (7)	0.84 d	0.82 d (7)	0.84 d	0.83 d (6.6)	0.83 d H ₃	0.08 y 0.14
28	1.12 y 1.32	-----	-----	-----	1.13 y 1.33	-----	-----	-----	1.14 y 1.29 H ₂	0.89
29	0.85 t	0.85 t (7)	0.85 t (7.3)	0.85 t (7)	2.855 t	0.85 t (7)	0.85 t**	0.84 t (6.6)	0.85t H ₃ **	1.01
Ac.	-----	-----	-----	-----	2.05 s	2.01 s	-----	-----	-----	-----

*Puede estar invertida la asignación.

**Greca *et.al.* 1990 y Guerriero *et.al.* 1993 parece Clonasterol.

Tabla 19. DATOS COMPARATIVOS ESPECTROSCÓPICOS DE
RMN ¹³C DEL 7-OXOCLIONASTEROL (LXXV),
7-OXOSITOSTEROL Y 7-OXOPETROSTEROL (LXXVII).

C	Este trabajo 7-oxo- clionasterol (LXXV)	Este trabajo Acetato del 7- oxoclionasterol (LXXVI)	Greca <i>et.al.</i> 1990 7-oxositosterol (planta acuática)	Guerriero <i>et.al.</i> 1993 7-oxositosterol (esponja marina)	Este trabajo 7-oxopetrosterol (LXXVII)
1	36.38	36.20	36.62	36.37 t	36.34
2	31.18	27.40	31.18	31.2 1t	31.19
3	70.52	72.27	70.52	70.53 d	70.53
4	41.81	37.76	41.79	41.83 t	41.80
5	165.15	163.81	169.35**	165.04 s	165.02
6	126.12	126.76	126.13	126.1 d	126.15
7	202.29	201.90	204.21**	202.25 s	202.26
8	45.43	45.46	45.39	45.43 d	45.42
9	50.00*	49.89*	50.02	49.98 d*	49.95
10	38.29	38.70	38.24	38.72 s*	38.26
11	21.23	21.20	21.20	21.23 t	21.21
12	38.72	38.33	39.68**	38.29 t*	38.68
13	43.11	43.14	41.79**	43.11 s	43.10
14	50.00*	50.00*	49.93	49.96 d*	49.95
15	26.46	26.46	26.30	26.40 t	26.31
16	28.50	28.51	28.53	28.54 t	28.52
17	54.74	54.72	54.69	54.69 d	54.81
18	11.94	11.96	11.87	11.97 c	11.95
19	17.28	17.25	17.28	17.31 c	17.30
20	36.18	36.04	36.06	36.19 d	35.85
21	18.98*	18.98*	18.90	18.99 c	18.85
22	33.96	33.96	33.93	33.94 t	33.50
23	26.31	26.31	26.07	26.33 t	33.93
24	46.10	46.11	45.80	46.07 d	38.68
25	29.00	29.01	29.11	28.96 d	27.36
26	19.55	19.57	19.77	19.58 c	12.73
27	18.98*	18.98*	19.01	18.99 c	11.57
28	23.06	23.06	23.04	23.03 t	19.80
29	12.25	12.28	11.95	12.30 c	19.11
Ac.		17.026			

* Puede estar invertida la asignación.

**Datos incorrectos según Guerriero *et.al.* 1993

Tabla 20. DATOS COMPARATIVOS ESPECTROSCÓPICOS DE RMN ¹H DEL 7 α - Y 7 β -HIDROXICLONASTEROL (LXXVIII y LXXX), 7 α - Y 7 β -HIDROXISITOSTEROL y 7 α - Y 7 β -HIDROXIPETROSTEROL (LXXXII y LXXXIII).

H	Este trabajo 7 α -hidroxi- clonasterol (LXXVIII)	Das y Srinivas 1992 7 α - hidroxi- clonasterol (alga roja)	Este trabajo Acetato de 7 α -hidroxi- clonasterol (LXXIX)	Das y Srinivas 1992 Acetato de 7 α -hidroxiclona- sterol (alga roja)	Chaurasia y Wichtl, 1987 7 α -hidroxisito- sterol (planta terrestre)	Fukuyama <i>et al.</i> 1988 7 α - hidroxisito- sterol (planta terrestre)	Greca <i>et al.</i> 1990 7 α - hidroxisito- sterol (planta acuática)	Este trabajo 7 α -hidroxipetrosterol (LXXXII)
1	1.12 y 1.88	----	----	----	----	----	----	1.10 y 1.85
2	1.53 y 1.85	----	----	----	----	----	----	1.52 y 1.86
3	3.59 t (11,4)	3.55 m	4.62 m	4.65 m	3.539 m	3.59 m	3.59 m	3.59 t (11.5,4.5)
4	2.29 ddd y 2.35	----	----	----	----	----	----	2.28 ddd (13,11,2) y 2.55 ddd (13,5,2)
5	----	----	----	----	----	----	----	----
6	5.60 dd (5,2)	5.60 d (5)	5.60 d	5.58 d (5)	5.27 s	5.61 dd (5,4,1,3)	5.62 d (4,8)	5.61 dd (5,5,2)
7	3.88	3.85 m	5.05 d (4)	4.95 dd (5,4,8)	3.83 m	3.85 m	3.86 m	3.86 m
8	----	----	----	----	----	----	----	1.46
9	1.23	----	----	----	----	----	----	1.22
10	----	----	----	----	----	----	----	----
11	----	----	----	----	----	----	----	1.50
12	----	----	----	----	----	----	----	1.15 y 2.02
13	----	----	----	----	----	----	----	----
14	1.44	----	----	----	----	----	----	1.45
15	----	----	----	----	----	----	----	1.14 y 1.70
16	----	----	----	----	----	----	----	1.30 y 1.90
17	1.18	----	----	----	----	----	----	1.15
18	0.686	0.68 s	0.68 4 s	0.68 s	0.674 s	0.69 s	0.69 s	0.69 s
19	0.996	0.99 s	1.012 s	1.00 s	1.039 s	1.00 s	0.99 s	1.00 s
20	----	----	----	----	----	----	----	1.36
21	0.937 d (7)	0.91 d (6,5)	0.939 d	0.91 d (6,5)	0.907 d (6,56)	0.93 d (6)	0.93 d	0.933 d (6,5)
22	----	----	----	----	----	----	----	1.02 y 1.46
23	----	----	----	----	----	----	----	1.26 y 1.34
24	0.92	----	----	----	----	----	----	0.60
25	----	----	----	----	----	----	----	0.15
26	0.812 d (7)	0.81 d (7)	0.824 d	0.81 d (7)	0.793 d (6,87)	0.81 d (4,5)	0.82 d	0.45
27	0.830 d (7)	0.82 d (7)	0.847 d	0.82 d (7)	0.835 d (6,84)	0.83 d (4,1)	0.83 d	0.08 y 0.14
28	----	----	----	----	----	----	----	0.889 d (6,5)
29	0.855 t (7)	0.85 t (7)	0.85 t	0.85 t (7)	0.842 t (7,48)	0.85 t (5,7)	0.85 t	1.01 d (6)
Ac			2.034 y 2.053 s	2.01 y 2.04 s				

H	Este trabajo 7 β -hidroxi- clionasterol (LXXX)	Este trabajo Acetato de 7 β -hidroxi- clionasterol (LXXXI)	Notaro <i>et al.</i> 1992 7 β - hidroxi- clionasterol (esponja marina)	Chaurasia y Wichtl, 1987 7 β - hidroxi- sitosterol (planta terrestre)	Greca <i>et al.</i> 1990 7 β -hidroxi- sitosterol (planta acuática)	Notaro <i>et al.</i> 1992 7 β - hidroxi- sitosterol (esponja marina)	Este trabajo 7 β -hidroxi- petrosterol (LXXXIII)
1	1.12 y 1.88	-----	-----	-----	-----	-----	-----
2	1.53 y 1.85	-----	-----	-----	-----	-----	-----
3	3.59 tt (11,4)	4.97 dd (5,5)	3.54 m	3.57 m	3.56 m	3.54 m	3.57 tt
4	2.29 ddd y 2.35	-----	2.34 ddd (13.7,4.9,1.6)	-----	-----	2.25 dd (13.7,13.7)	2.25 ddd y 2.36 ddd
5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
6	5.29 t (2)	-----	5.29 dd (2.2,2.2)	5.59 dd (1.4,5.2)	5.30 s	5.29 dd (2.2,2.2)	5.29 t (2)
7	3.88	5.25 m	3.84 dd (7.2,2.2)	3.83 s	3.86 d	3.84 dd (7.2,2.2)	3.84 m
8	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1.40
9	1.23	-----	-----	-----	-----	-----	1.03
10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
11	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
12	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
13	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
14	1.44	-----	-----	-----	-----	-----	1.10
15	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1.42 y 1.80
16	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
17	1.18	-----	-----	-----	-----	-----	-----
18	0.686	-----	0.70 s	0.66 s	0.70 s	0.70 s	0.70
19	1.05	-----	1.05 s	0.975 s	1.05 s	1.05 s	1.05
20	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
21	0.937 d (7)	-----	0.93 d (6.6)	0.911 d (6.72)	0.93 d	0.93 d (6.6)	0.929 d (6.5)
22	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
23	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
24	0.92	-----	-----	-----	-----	-----	-----
25	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
26	0.812 d (7)	-----	0.81 d (6.6)	0.792 d (6.87)	0.81 d	0.81 d (6.6)	-----
27	0.830 d (7)	-----	0.83 d (6.6)	0.813 d (6.86)	0.85 d	0.83 d (6.6)	-----
28	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0.887 d (6.5)
29	0.855 t (7)	-----	0.85 t (7.3)	0.825 t (7.42)	0.85 t	0.84 t (6.6)	-----
Ac	-----	2.044 y 2.053 s	-----	-----	-----	-----	-----

Tabla 21. DATOS COMPARATIVOS ESPECTROSCÓPICOS DE RMN ¹³C DEL 7α- Y 7β-HIDROXICLONASTEROL (LXXVIII y LXXX), 7α- Y 7β-HIDROXISITOSTEROL y 7α- Y 7β-HIDROXIPETROSTEROL (LXXXII y LXXXIII)

C	Este trabajo 7α-hidroxi- clonasterol (LXXVIII)	Chaurasia y Wichtl, 1987 7α-hidroxisitosterol (planta terrestre)	Fukuyama <i>et al.</i> 1988 7α-hidroxisitosterol (planta terrestre)	Greca <i>et al.</i> 1990 7α-hidroxisitosterol (planta acuática)	Guerriero <i>et al.</i> 1993 7α-hidroxisitosterol (esponja marina)	Este trabajo 7α-hidroxi- petrosterol (LXXXII)
1	37.00	37.40 t	36.95	37.00	37.01 t	37.02
2	31.35	31.38 t	31.31	31.37	31.37 t	31.40
3	71.32	71.34 d	71.27	71.35	71.35 d	71.38
4	42.00	42.15 t	41.94	42.01	42.01 t	42.02
5	146.27	146.25 s	146.16	143.88**	146.26 s	146.27
6	123.87	123.87 d	123.78	123.86	123.86 d	123.92
7	65.36	65.35 d	65.78	65.36	65.37 d	65.36
8	37.52	37.02 d	37.45	37.51	37.52 d	37.53
9	42.25	42.98 d	42.07	42.26	42.25 d	42.29
10	37.38	37.54 s	37.34	37.39	37.40 s	37.40
11	20.69	20.72 t	20.64	20.71	20.71 t	20.72
12	39.16	39.19 t	39.11	39.17	39.16 t	39.21
13	42.13	42.20 s	42.20	42.13	42.14 s	42.15
14	49.40	49.43 d	49.36	49.42	49.42 d	49.45
15	24.29	24.30 t	24.23	25.90**	24.32 t	24.29
16	28.23	28.27 t	29.22	28.31	28.28 t	28.26
17	55.69	55.98 d	55.66	55.70	55.66 d	55.89
18	11.60	11.63 c	11.56	11.63	11.65 c	11.60
19	18.21	18.23 c	18.96	18.25	18.26 c	18.22
20	36.20	36.11 d	36.04	36.10	36.23 d	35.91
21	18.84	19.04 c	18.17	18.80	18.86 c	18.73
22	33.90	33.99 t	33.85	33.91	33.89 t	33.49
23	26.22	29.18 t	28.88	25.97	26.17 t	33.93
24	46.05	45.87 d	45.77	45.82	46.04 d	38.70
25	28.95	25.99 d	29.08	29.12	28.91 d	27.37
26	19.54	18.80 c*	19.72	19.81	19.58 c	12.75
27	18.98	19.78 c*	18.74	19.02	19.01 c	11.57
28	23.02	22.67 t	23.00	23.06	23.01 t	19.83
29	12.27	11.99 c	11.92	11.99	12.33 c	19.13

*Puede estar invertida la asignación.

**Datos incorrectos según Guerriero *et al.* 1993.

C	Este trabajo 7 β -hidroxi- clionasterol (LXXX)	Chaurasia y Wichtl, 1987 7 β -hidroxistosterol (planta terrestre)	Greca <i>et al.</i> 1990 7 β -hidroxistosterol (planta acuática)	Guerriero <i>et al.</i> 1993 7 β -hidroxistosterol (esponja marina)	Este trabajo 7 β -hidroxi- petrosterol (LXXXIII)
1	37.00	37.02 t	36.93	36.91 t	37.00
2	31.35	31.58 t	31.56	31.52 t	31.59
3	71.32	71.43 d	71.42	71.38 d	71.46
4	42.00	41.74 t	41.71	41.69 t	41.74
5	146.27	143.47 s	143.48	143.43 s	143.51
6	125.45	125.47 d	125.42	125.41 d	125.49
7	73.36	73.36 d	73.34	73.31 d	73.37
8	37.52	39.57 d	40.91	40.86 d	40.94
9	48.27	48.29 d	48.16	48.22 d	48.30
10	37.38	36.45 s	36.42	36.40 s	36.45
11	20.69	21.88 t	21.06	21.04 t	21.08
12	39.16	42.94 t	39.54	39.51 t	39.58
13	42.13	40.93 s	42.91	42.89 s	42.94s
14	49.40	55.75 d	55.37	55.30 d	55.47
15	24.29	26.38 t	26.36	*26.36 t	26.38
16	28.23	28.54 t	28.51	28.51 t	28.53
17	55.69	55.41 d	55.95	55.91 d	56.00
18	11.60	11.82 c	11.79	11.79 c	11.83
19	18.21	19.14 c	19.12	19.13 c	19.13
20	36.20	36.10 d	36.07	36.19 d	35.87
21	19.18	19.04 c	18.81	18.86 c	19.00
22	33.90	33.94 t	33.97	33.89 t	-----
23	26.22	29.17 t	26.11	*26.34 t	33.83
24	46.05	45.86 d	45.84	46.01 d	-----
25	28.95	26.16 d	29.14	28.87 d	-----
26	19.54	18.84 c*	19.77	19.57 c	-----
27	18.98	19.79 c*	19.00	18.93 c	-----
28	23.02	22.55 t	23.05	22.95 t	-----
29	12.27	11.98 c	11.95	12.30 c	-----

*Puede estar invertida la asignación.

VALORACIÓN BIOLÓGICA
(ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA)

Los resultados esperados en este tipo de pruebas son los siguientes; si el compuesto da una prueba positiva significa que no hubo crecimiento de los microorganismos enlistados alrededor del sensidisco y/o pozo y por tanto, posee actividad antimicrobiana. Y por el contrario, será una prueba negativa cuando el crecimiento de los microorganismos no se vea afectado por el compuesto. El diámetro del halo de inhibición es indicativo del poder antimicrobiano del compuesto (Vanden y Vlietinck, 1991).

Como se puede observar en la tabla 22 todas las pruebas resultaron negativas tanto para los diferentes extractos y/o fracciones obtenidas en lo que respecta al material de la primera y segunda recolecta, así como para el compuesto identificado como clionasterol (LXXI), el cual fue el único que se aisló en cantidad suficiente para realizar estas pruebas. Dicho en otras palabras, no hubo actividad antimicrobiana en las 12 cepas puestas a prueba.

Tabla 22. RESULTADOS DE LA VALORACIÓN BIOLÓGICA (ANTIMICROBIANA) DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS Y FRACCIONES ASÍ COMO DEL COMPUESTO AISLADO, CLIONASTEROL, OBTENIDOS DE LA ESPONJA MARINA *Xestospongia subtriangularis*

No. de muestra	CLAVE DE LA FRACCIÓN	MÉTODO UTILIZADO	RESULTADO
1	XsFAcOEt	Por sensidisco, disuelto en CHCl ₃	Negativo
2	XsFBuOH	Por sensidisco, disuelto en MeOH	Negativo
3	XsFMeOH	Por sensidisco disuelto en MeOH	Negativo
4	XsSAcOEt	Por sensidisco disuelto en CHCl ₃	Negativo
5	XsSA	Por sensidisco disuelto en MeOH	Negativo
6	XsSMeOH/DCM	Por sensidisco disuelto en MeOH	Negativo
7	XsSMeOH	Por sensidisco disuelto en MeOH	Negativo
8	Xs2FEP	En pozo disuelto en CHCl ₃	Negativo
9	Xs2FDCM	En pozo disuelto en CHCl ₃	Negativo
10	Xs2AcOEt	Por sensidisco disuelto en CHCl ₃	Negativo
11	Xs2MeOH	Por sensidisco disuelto en MeOH	Negativo

CONTINUACIÓN

No. de muestra	CLAVE DE LA FRACCIÓN	MÉTODO UTILIZADO	RESULTADO
12	Xs2SEP	En pozo disuelto en CHCl ₃	Negativo
13	Xs2SDCM	En pozo disuelto en CHCl ₃	Negativo
14	Xs2SAcOEt	Por sensidisco disuelto en CHCl ₃	Negativo
15	Xs2SA	Por sensidisco disuelto en MeOH	Negativo
16	Xs2SMeOH	Por sensidisco disuelto en MeOH	Negativo
17	Clonasterol (LXXI)	Por sensidisco disuelto en CHCl ₃	Negativo

En total se valoraron 17 muestras, que correspondieron siete a la primera recolecta, nueve de la segunda y el clonasterol (LXXI).

Los extractos XsFEP y XsSEP no pudieron ser valorados pues las fracciones ya habían sido procesadas completamente cuando se realizó la valoración cualitativa (sobre los extractos crudos obtenidos). Sin embargo, en el material de la segunda recolecta todas los extractos fueron valorados; es importante recordar que cada muestra fue ensayado por triplicado para cada una de las cepas utilizadas, para así, obtener resultados confiables (Vanden y Vlietinck, 1991).

DISCUSIÓN

GRUPOS QUÍMICOS Y ELUCIDACIÓN DE ESTRUCTURAS

1. HIDROCARBUROS.

En el espectro de RMN ^1H a 200 MHz de las fracciones XsFEP'-A y XsFEP'-B de la esponja fresca se observa únicamente la presencia de hidrocarburos saturados; es decir, sólo se observa una señal triple aproximadamente a los 0.88 ppm la cual corresponde a los grupos metilos terminales (CH_3 -) y una señal simple ancha aproximadamente en 1.25 ppm característica para grupos metilenos de la cadena alifática ($-(\text{CH}_2)_n-$). A pesar de que no se observaron señales que indiquen la presencia de hidrógenos unidos a carbonos de dobles enlaces (5.12 ppm) en el análisis por CG/EM se detectó la presencia de huellas de un triterpeno con 6 insaturaciones (escualeno XXV) el cual se encontró en cantidades minoritarias en estas fracciones.

El espectro de RMN ^1H a 200 MHz correspondiente de la fracción XsFEP'-C resultó ser ligeramente diferente a las dos anteriores ya que aparte de observarse la presencia de hidrocarburos saturados, se hace evidente la presencia de dobles enlaces, los cuales corresponden a un hidrocarburo con 6 insaturaciones que se identificó como escualeno (XXV); éste se caracterizó por la presencia de la señal para los protones vinílicos en 5.12 ppm y las señales de grupos metilo vinílicos ($=\text{C}-\text{CH}_3$), o sea los metilos sobre los carbonos olefínicos, los cuales aparecen como señales simples en 1.68 y 1.60 ppm ("*cis*" y "*trans*" al protón vinílico respectivamente). También se observa la señal correspondiente a los grupos metilenos entre los dobles enlaces ($=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$), los cuales se caracterizan por una señal ancha en 2.0 ppm. El escualeno (XXV) es el componente mayoritario en esta fracción.

En los espectros de RMN ^1H a 200 MHz de las fracciones Xs2SEP-A y Xs2SEP-B de la esponja seca presentó el mismo perfil que las fracciones anteriores, pudiéndose identificar las señales correspondientes a hidrocarburos (0.88 y 1.25 ppm), y en la fracción Xs2SEP-B, las antes descritas para el escualeno en 1.60 y 1.68 para los grupos metilos y la señal ancha en 2.0 ppm que corresponde a los grupos metilenos entre los dobles enlaces. También es evidente la presencia de dobles enlaces en las dos fracciones; sin embargo, en la fracción Xs2SEP-A corresponden a los hidrocarburos C_{23} y C_{29} , como se comprobó en el análisis por CG/EM de esta mezcla; en tanto que en la fracción Xs2SEP-B, estas señales corresponden al escualeno (XXV).

Los espectros de RMN ^1H no permiten identificar individualmente los hidrocarburos en una mezcla; sin embargo, el análisis por CG/EM es una de las mejores herramientas para tal fin (Budzikiewicz *et al.*, 1964). Así, los alcanos obtenidos en las fracciones XsFEP'-A, XsFEP'-B, XsFEP'-C y Xs2SEP-A dan lugar a espectros de masas con una distribución de picos de intensidades muy característica ya que se encuentran picos separados de manera regular por 14 unidades de masa en donde los máximos de intensidad se refieren a la serie de los iones de m/z 29, 43, 57, 71, 85... $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, acompañados de picos dos unidades de masa menos de m/z 27, 41, 55,

69... C_nH_{2n-1} , de menor intensidad que proceden de la reacción de deshidrogenación. Las máximas intensidades corresponden a los fragmentos C_3 y C_4 y luego disminuye continuamente al aumentar el número de carbonos de la cadena hidrocarbonada hasta llegar a un pico $[M-29]^+$ que corresponde a $[M-C_2H_5]^+$ como lo señala Calderon y Stud (1986); de hecho, estos autores señalan que en ocasiones puede observarse el patrón de fragmentación hasta $[M-15]^+$ que corresponde a la pérdida de un CH_3 .

En el material de la segunda recolecta se encontraron hidrocarburos insaturados de cadenas de C_{23} y C_{29} ; sin embargo, no pudo establecerse la posición del doble enlace con estos datos espectrométricos. Éstos se caracterizan por presentar tres series de fragmentación, una que corresponde a la más significativa en intensidad de m/z 41, 55, 69, 83... C_nH_{2n-1} acompañadas por señales más débiles de m/z 43, 57, 71... C_nH_{2n+1} y de m/z 39, 53, 67, 81... C_nH_{2n-3} . Sin embargo, esta última serie no se observó tan claramente como las dos anteriores; un hecho que confirma la presencia del doble enlace aparte del peso molecular es que el ion molecular $[M]^+$ corresponde a un pico de mayor intensidad comparado con los hidrocarburos saturados (Calderon y Stud, 1986).

También se logró detectar la presencia de escualeno (XXV) y de otro compuesto triterpénico con 6 insaturaciones, ambos se encontraron tanto en el material de la primera como de la segunda recolecta. El otro compuesto triterpénico con 6 insaturaciones no se pudo identificar.

El único estudio sobre el género que informa sobre la presencia de hidrocarburos fue realizado por Carballeira *et al.* (1988) en *Xestospongia muta* la cual fue recolectada cerca de la Parguera, Puerto Rico en marzo de 1986, junto con otras tres especies de esponjas: *Agelas dispar*, *Cliona aprica* y *Sphaciospongia vesparium*. El método de extracción y purificación fue muy semejante al utilizado en este trabajo (Anexo B).

En el estudio de Carballeira *et al.* (1988) se identificaron únicamente hidrocarburos saturados C_{12} , C_{14} , C_{18} a C_{19} y C_{23} a C_{25} , siendo el compuesto mayoritario el hidrocarburo C_{17} (34 %) seguido del C_{14} (30 %); los hidrocarburos de cadena alifática más larga fueron C_{24} y C_{25} (3 y 5 %, respectivamente) siendo la proporción entre pares y nones casi de 1:1 (55.5 y 44.4 % respectivamente) sin considerar los datos de abundancia. Estos autores de acuerdo con los tiempos de retención (TR) y el resultado del espectro de masas lograron discernir que en sus mezclas existían hidrocarburos de cadena ramificada C_{18} y C_{25} ; estos autores mencionan que los hidrocarburos obtenidos de cada uno de las esponjas fueron comparados por CG/EM con muestras "auténticas" (hidrocarburos estándares) confirmando así su identificación, pero no dan los TR para cada hidrocarburo por lo que no se pudo hacer una comparación con los datos obtenidos en este trabajo; el patrón de ramificación de estos hidrocarburos no posible establecerlo espectroscópicamente, por lo que tampoco pudo esclarecerse.

En este trabajo se encontraron hidrocarburos de C_{16} a más de C_{25} , como lo indican los resultados en la fracción XsFEP'-B, en donde, se encontraron hidrocarburos C_{27} , C_{28} y C_{29} y en la fracción Xs2SEP-A se identificaron C_{26} , C_{27} y C_{29} a C_{33} . No se logró identificar hidrocarburos ramificados, pero a diferencia de Carballeira

et al. (1988) si se identificaron compuestos insaturados, en especial en la fracción Xs2SEP-A (C₂₃ y C₂₉) pero en cantidades minoritarias (0.79 y 0.99 % respectivamente). Aún con estas diferencias con estos autores, al igual que en sus resultados, el hidrocarburo más abundante fue el C₁₇ siendo esto más notorio en las fracciones XsFEP'-C y Xs2SEP-A (15.58 y 31.22 % respectivamente).

El porcentaje entre la presencia de hidrocarburos pares y nones es muy similar a lo encontrado por Carballeira *et al.* (1988), ya que en las fracciones XsFEP'-A, XsFEP'-C y Xs2SEP-A se encontró en una proporción de 1:1.

Estos mismos autores no llegan a conclusiones concretas sobre la presencia de estos compuestos en el organismo y mencionan únicamente las posibles causas que a continuación se escriben:

- 1) Son de origen exógeno y la esponja es capaz de obtenerlos del medio de forma tal vez preferente; es decir, son concentradores biológicos de hidrocarburos.
- 2) Algunos o todos son de origen endógeno; es decir, la esponja los sintetiza a partir de compuestos precursores más simples.
- 3) De origen bacteriano.

Todas estas hipótesis requieren de un mayor estudio, siendo las dos últimas las que necesiten también de experimentos sobre biosíntesis.

También mencionan que se requieren de más estudios en diferentes especies de esponjas para poder determinar en caso de que sean de origen exógeno, de que exista o no preferencia de captación o que si éstos pueden representar un valor taxonómico.

En este trabajo tampoco se puede concluir en forma definitiva el origen de estos hidrocarburos; sin embargo, es importante hacer notar que la zona de muestreo se encuentra muy cerca del Puerto de Veracruz, por lo que las diversas actividades portuarias pueden ser una importante fuente de contaminación por hidrocarburos o petróleo, al medio en donde las esponjas, en este caso *X. subtriangularis*, pueden ser bioacumuladores de éstos, ya que son organismos filtradores del agua de mar en forma constante. Sin embargo, el bajo porcentaje del contenido de éstos en las fracciones analizadas que va del 0.04 al 0.42 % (XsFEP'-A = 0.42 %, XsFEP'-B = 0.15 %, XsFEP'-C = 0.04 %, Xs2SEP-A = 0.11 % y Xs2SEP-B = 0.27 %) (Tabla 10), se puede pensar que éstos no son biosintetizados por la esponja; sino que más bien pueden haber sido biodegradados por ella.

Carballeira *et al.* (1988) mencionan valores del 1 al 2 % de hidrocarburos totales con respecto al peso seco de todas las esponjas analizadas por ello, incluyendo a *X. muta*; sin embargo, aportan poca información con respecto a este punto por lo que hay que considerarlos con reserva, ya que estos porcentajes resultan ser muy elevados.

Es conocido que el océano presenta procesos naturales para la eliminación de hidrocarburos, los más ligeros son evaporados, otros son fraccionados y dispersados

por la marea y el oleaje u oxidados por el aire y otros, son destruidos por bacterias o absorbidos por organismos marinos (Féurier *et al.*, 1975). Sin embargo, se requieren de mayores estudios tanto de otras especies de esponjas como de otros invertebrados sésiles así como del sedimento localizados en el área de estudio para poder concluir categóricamente todo lo anteriormente presentado.

Haciendo una comparación de los resultados obtenidos en este trabajo con aquellos de Carballeira *et al.* (1988) sobre otras especies de esponjas, se encontró que *Agelas dispar* presenta hidrocarburos de cadenas hidrocarbonadas desde C₁₀ hasta C₃₀, todos lineales y saturados, siendo el hidrocarburo más abundante el C₁₄ (20.2 %), seguido del C₁₆ (15.6 %), C₂₅ (14.5 %) y C₁₂ (10.8 %) y algunos otros compuestos como xilenos isoméricos y probablemente compuestos aromáticos y alquenos bicíclicos. *Sphaciospongia vesparium* presenta únicamente hidrocarburos lineales saturados C₁₂ a C₁₆, C₁₈, C₂₃ a C₂₅ y C₂₈ a C₃₅, siendo los más abundantes C₁₄ y C₁₂ (23.5 y 13.8 %). *Cliona aprica* presenta hidrocarburos lineales saturados C₁₁ a C₁₅, C₁₇, y C₂₄ a C₂₅ y como insaturados un C₂₁; los compuestos mayoritarios son C₁₄, C₁₅ y el insaturado C₂₁ (22.31, 22.07 y 11.22 %).

Como se puede apreciar en ninguno de los casos anteriores se registra el hidrocarburo saturado C₁₇ como compuesto mayoritario, por lo que podría inferirse que éste sea una característica quimiotaxonómica del género *Xestospongia*; también es importante hacer la observación que en ninguna de las tres especies estudiadas por estos autores se encontraron hidrocarburos saturados C₂₆ y C₂₇, pues aunque éstos se encontraron en cantidades minoritarias, pueden ser utilizados en quimiotaxonomía a nivel específico como lo mencionan Carballeira *et al.* (1988) para este tipo de hidrocarburos (minoritarios); sin embargo, sería muy atrevido afirmar de manera contundente estas observaciones, para ello deben hacerse mayores estudios.

II. ÉSTERES DE ESTEROLES CON ÁCIDOS GRASOS.

La mezcla de ésteres de esteroides Xs2SEP-D se caracterizó por ser un sólido de color amarillento. En su espectro de RMN a 200 MHz se aprecia en la región de 0.79 a 1.02 ppm el perfil clásico de la presencia de esteroides. En este espectro se alcanza a distinguir las señales para los protones de los grupos metilos correspondientes a los carbonos C₁₈ y C₁₉ como señales simples en 0.68 y 1.02 ppm, así como los protones de los grupos metilos (H₂₁, H₂₆, H₂₇ y H₂₉); por lo que el perfil correspondió al clionasterol (LXXI). La señal más desplazada en 4.60 ppm corresponde al protón H₃ sobre el carbono base (C₃) en donde se enlaza el éster con el ácido graso. La presencia de éste provoca que el protón H₃ se encuentre desplazado a campo más bajo debido al efecto de desprotección, finalmente en 5.3 ppm se observa la señal que indica la presencia de dobles enlaces tanto en el esqueleto esteroide como de las cadenas alifáticas de el ácido o los ácidos grasos que están esterificando a los esteroides.

El espectro en el IR no presenta bandas de absorción en la región de 3,500 cm⁻¹ (grupos -OH); sin embargo, además de las absorciones de grupos C-H en 2928 y 2855 cm⁻¹, así como para los grupos -CH₂- y CH₃- en 1465 y 1379 cm⁻¹

respectivamente se observa la absorción correspondiente al grupo carbonilo del éster en 1720 cm^{-1} .

Después de la reacción de hidrólisis alcalina, la fracción de esteroides obtenida se acetiló (MEAc-a) y se analizó por CG/EM. El contenido de esta mezcla fue similar a las obtenidas de los diferentes extractos de ambas recolectas, que contenían los esteroides; en ellos se identificaron los acetatos de colesterol (LX), desmosterol (LXII), dihidrobrassicasterol y/o campesterol (LXIV), brassicasterol y/o crionasterol (LXVI), poriferasterol y/o estigmasterol (LXVIII) y acetato de cionasterol (LXXII) y/o β -sitosterol (LXX), éste último como componente mayoritario (49.74 %), seguido del acetato de brassicasterol y/o crionasterol (LXVI) (6.01 %). En el análisis por CG/EM también se detectó la presencia del estigmasta-3,5-dieno proveniente de la descomposición térmica del compuesto mayoritario.

Una observación que es importante hacer notar, es que todos los tiempos de retención (TR) obtenidos en esta mezcla fueron menores al promedio estimado (mostrado en la tabla 24), este promedio fue obtenido de todos los valores de las diferentes fracciones de esteroides analizadas, ya que todos los análisis de éstas por CG/EM fueron realizados bajo las mismas condiciones (Tabla 13), sirviendo entonces como patrón de identificación de esteroides.

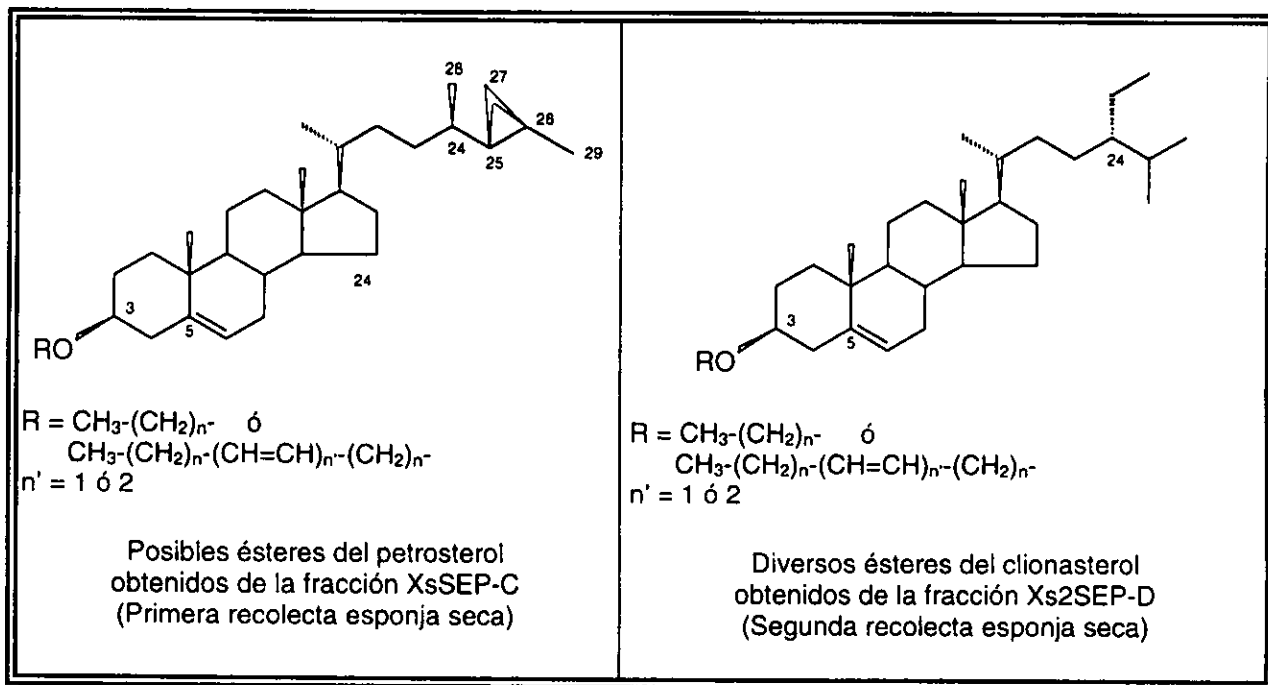
La mezcla de ácidos grasos obtenidos de la hidrólisis alcalina se esterificaron con diazometano (MAGEst) y se analizaron por CG/EM. Los resultados fueron muy similares a aquellos encontrados en las mezclas de ésteres metílicos aislados y ácidos libres esterificados. En este caso se identificaron ácidos saturados C-14, C-15 y C-16 con un porcentaje del 12.08 % e insaturados C-16, C-18, C-24, C-25, C-26 y C-27, entre estos tres últimos se identificaron ácidos demospóngicos los cuáles se caracterizan por presentar dos dobles enlaces localizados entre los carbonos 5-6 y 9-10 en la cadena hidrocarbonada (Tabla 12). El porcentaje de éstos ácidos grasos insaturados fue de 80.84 %. La proporción entre ácidos de cadenas pares y nones fue de 1:1, pero por porcentajes de abundancia correspondieron a 62.32 y 30.60 %. Los compuestos mayoritarios correspondieron a los ácidos demospóngicos $\Delta^{5,9}$ C-26 (42.92 %) y $\Delta^{5,9}$ C-27 (25.76 %), seguidos de un ácido saturado C-16 (8.16 %).

El comportamiento respecto a la relación entre cadenas saturadas e insaturadas de esta mezcla fue igual a lo encontrado en todas las mezclas de ésteres metílicos y en las mezclas de ácidos grasos esterificados. En cuanto a la proporción entre pares y nones se encontró el mismo resultado al compararse con la correspondiente a todas las mezclas de ácidos grasos, siendo mayor la abundancia para aquellos de cadena par. Y más aún, el compuesto mayoritario es el mismo ácido graso: el ácido demospóngico $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico (LVII), encontrado en las fracciones XsAMet-B (27.35 %), Xs2FEP-FMetA (41.68 %) y Xs2SEP-FMetC (50.57 %) y/o como el éster metílico correspondiente en las fracciones XsFEP-A (34.82 %), XN-B (36.79 %), XsFEP-G (37.28 %) y Xs2FEP-D (26.80 %) (Tabla 11).

Como se mencionó en el método, la fracción XsSEP-C fue una mezcla de esteroides esterificados con ácidos grasos como lo indica su espectro de RMN ^1H 200 MHz; éste fue muy similar al espectro de la fracción Xs2SEP-D (que también fue una mezcla de esteroides esterificados); sin embargo a diferencia de la fracción anterior éste

presenta señales que se pueden asignar a un ciclopropano como una señal múltiple ancha entre 0.0 y 0.15 ppm. Las señales restantes son muy semejantes a la fracción Xs2SEP-D; el protón H₃ se localiza en 3.65 ppm y también se observa la presencia del protón vinílico (H₆) en 5.34 ppm.

Un hallazgo importante en este trabajo, es que los ésteres de esteroides con ácidos grasos solamente se detectaron en el material seco, cuyos extractos se obtuvieron por percolación tanto de la primera recolecta como de la segunda. Sin embargo, en la primera se detectó como esteroide mayoritario el petrosterol (LXXIII) en tanto que en la segunda fue el clionasterol (LXXI), como se esquematiza en el siguiente recuadro:



El hecho de que éstos no se hayan encontrado en el extracto metanólico de la esponja fresca puede ser debido a que en solución acuosa-metanólica se haya provocado, una hidrólisis y/o metanólisis de estos ésteres de esteroides produciéndose así, ácidos grasos y ésteres metílicos los cuáles sólo se obtuvieron del extracto metanólico. Sin embargo, esta explicación no pudo ser confirmada.

En el género *Xestospongia* se ha identificado un éster graso de un esteroide (compuesto 200 del Anexo A), el cual fue obtenido mediante cromatografías sucesivas y HPLC (High performance liquid chromatography) del extracto de MeOH-tolueno 3:1 de la esponja *Xestospongia* sp. recolectada en Bahamas (ver Anexo B). La hidrólisis alcalina con una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 5 % en EtOH a 45 °C por 1 h, seguido de una metilación con CH₂N₂ en Et₂O proporcionó el éster metílico del ácido y el esteroide correspondiente (Gunasekera *et al.*, 1991).

Tanto el ácido graso como el esteroles entre sí, habían sido identificados en otros organismos marinos pero no esterificados, el ácido graso correspondió a un ácido C-16 con 3 ramificaciones (ácido 4,8,12-trimetil-tridecanoico) el cual fue aislado anteriormente de la esponja *Petrosia ficiformis* (Ayanoglu *et al.*, 1982) y el esteroles, se caracterizó como el 24,26-ciclo-5 α -colest-(22E)-en-3 β -ol que antes había sido aislado del coral blando *Sarcophyton glaucum* (Kobayashi *et al.*, 1983).

En este trabajo, como ya se mencionó, se aisló una serie de ácidos grasos y otra de esteroides, por lo que no puede especificarse en detalle que ácidos grasos se unen a que esteroides, aunque en el caso de la fracción Xs2SEP-D el esteroles mayoritario fue el clonasterol (LXXI) y el ácido mayoritario fue un $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico (C-26)(LVI).

De acuerdo con la literatura consultada (Anexo A y B), éstos constituyen el primer registro, tanto en la especie como en el género y por supuesto, la riqueza de estos ésteres de esteroides hubiera sido mayor si se hubiera podido analizar la mezcla de ésteres de esteroides con ácidos grasos de la fracción XsSEP-C

III. ÁCIDOS GRASOS Y SUS ÉSTERES METÍLICOS.

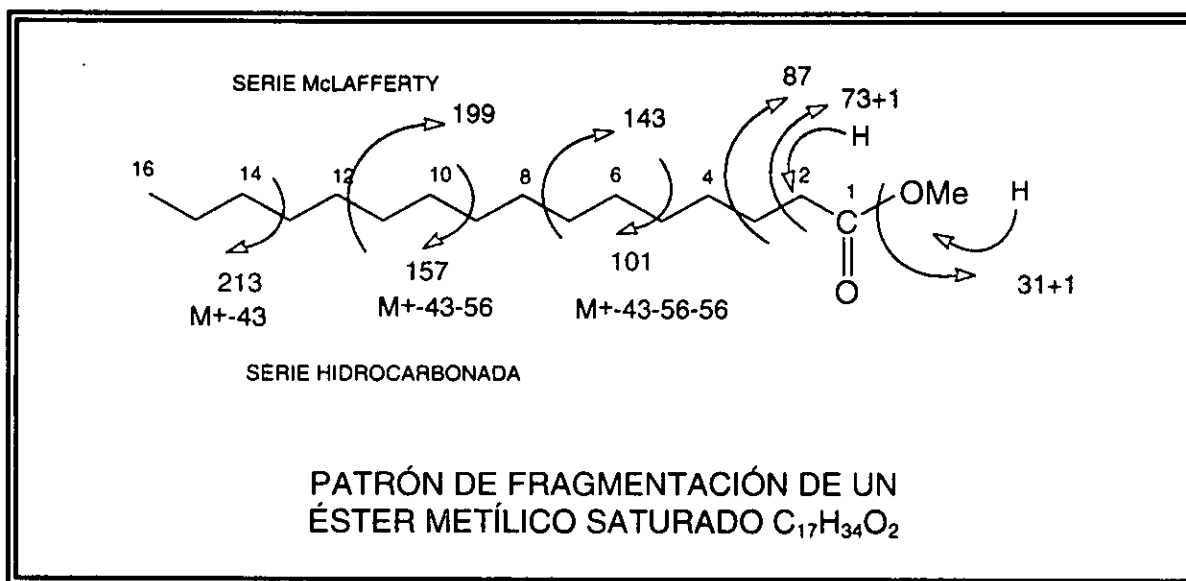
La mezcla de ésteres metílicos XsFEP-A fue caracterizada por medio de sus espectros en el IR y RMN ^1H (200 MHz). En el espectro en el IR se observa la señal característica del grupo carbonilo de un éster en 1732 cm^{-1} , además de las absorciones a 2928 y 2856 , 1464 y 1367 cm^{-1} para C-H, $-\text{CH}_2-$ y CH_3 -respectivamente, también se identificó la presencia de dobles enlaces por las absorciones correspondientes a 3005 y 1626 cm^{-1} respectivamente ($=\text{C-H}$ y $-\text{C}=\text{C}-$). Esta presencia de dobles enlaces fue confirmada en el espectro de RMN por una señal múltiple en 5.3 ppm, debida a protones vinílicos ($-\text{CH}=\text{}$).

En el espectro de RMN ^1H , se observa además una señal simple aguda en 3.64 ppm que corresponde a los tres protones del metilo correspondiente al éster ($-\text{OCH}_3$). La presencia de grupos $-(\text{CH}_2)_n-$ y CH_3- , queda caracterizada por una señal simple y otra señal triple distorsionada en 1.25 y 0.85 ppm respectivamente. Esta fracción consiste en una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos saturados e insaturados, la cual se analizó por CG/EM. Los resultados se muestran en la tabla 11.

Las mezclas XsN-B, XsFEP'-G y Xs2FEP-D presentaron el mismo perfil que la fracción anterior, tanto en su espectro en el IR como de RMN ^1H , por lo que constituyen mezclas similares de ésteres metílicos de ácidos grasos que también fueron analizadas por CG/EM (Tabla 11).

Los ésteres metílicos de ácidos grasos presentan un patrón de fragmentación en espectrometría de masas independiente de la longitud de la cadena; aquellos de cadena larga como los aislados en este trabajo se comportan como los ácidos grasos (Calderon y Stud, 1986); es decir muestran una serie de iones que corresponden a fragmentos hidrocarbonados de tipo alquilo $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ (m/z 29, 43, 57, 71,.....), acompañados de fragmentos olefínicos $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}$ (m/z 27, 41, 55, 69,.....) y otra serie de fragmentos con oxígeno, de los cuáles el más característico es el pico de m/z 74

producido a través de un rearrreglo de McLafferty y que es el pico base (100 %) en el espectro, seguido del pico a m/z 87 que corresponde a un ion $[\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOMe}]^+$ y sus homólogos $[(\text{CH}_2)_n\text{-COOMe}]^+$ donde $n = 6, 10, \dots (m/z 143, 199, \dots)$ conocidos como productos de McLafferty (Calderon y Stud, 1986), que son de menor intensidad, pero de mayor intensidad que los homólogos donde $n = 3, 4, 5, 7, 8, 9$, etc. Así, los iones correspondientes a los productos de McLafferty son más significativos que los de la otra serie principalmente al aumentar el número de carbonos; otros iones de importancia en los espectros de estos compuestos es un pico de m/z 43 que corresponde a un $[\text{C}_3\text{H}_7]^+$ de la parte final de la cadena hidrocarbonada y un $[\text{M}-31]^+$ ó $[\text{M}-32]^+$ que corresponde a la pérdida de $\text{CH}_3\text{-O}$ ó $\text{CH}_3\text{-OH}$ respectivamente (Hesse *et al.*, 1997). Un ejemplo del patrón de fragmentación explicado anteriormente se representa en el siguiente recuadro para un éster saturado de fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$:



De acuerdo con Hesse *et al.* (1997) los ésteres metílicos no saturados dan espectros de características olefínicas semejantes a los fragmentos de cadenas hidrocarbonadas de m/z 41... $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}$ acompañadas por señales más débiles de m/z 43... $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ y de m/z 39... $\text{C}_n\text{H}_{2n+3}$, además de que se encuentran algunos fragmentos de la serie de McLafferty (Budzikiewicz *et al.*, 1964 y Calderon y Stud, 1986), estas mismas características se observaron en este trabajo. Sin embargo, como Calderon y Stud (1986) lo mencionan la posición del doble enlace no puede ser determinada. Una observación importante es que en los compuestos insaturados la intensidad de los picos principales son de m/z 41, 55 y 69, en tanto que en los saturados se localiza en m/z 74 (producto de McLafferty).

Así, en el análisis por CG/EM se puede distinguir si el éster metílico es de un ácido saturado o insaturado debido, principalmente, por la diferencia en dos unidades de masa ó 4, 6, etc. según sea el número de insaturaciones presentes en la cadena alifática; sin embargo, saber si éstos son normales o ramificados se requiere conocer el tiempo de retención (TR) de los estándares de los diferentes isómeros, en especial

entre ésteres de ácidos de cadena normal o lineal y de cadena ramificada. Carballeira y Maldonado (1988) y Carballeira y Reyes (1990) han encontrado la relación existente entre sus respectivos tiempos de retención, ellos mencionan que los ésteres metílicos de cadena normal o lineal presentan mayores tiempos de retención que aquellos ramificados, el orden de aparición de éstos fue de la siguiente manera, los ramificados en la parte central de la cadena poseen tiempos de retención menores que aquellos que presentan la ramificación en la posición iso- y éstos, de aquellos de ramificación anteiso-; por lo que en un estudio de CG/EM los ramificados aparecerán primero que los lineales.

En este estudio, sólomente en la fracción XsFEP-A se logró identificar diferentes tipos de ésteres metílicos saturados; en algunos casos se encontraron más de un TR para un mismo peso molecular, indicando con ello que se trata de diferentes isómeros (Tabla 11 y 12), por ejemplo, para la fórmula molecular $C_{17}H_{34}O_2$ se obtuvieron cuatro diferentes TR para los isómeros *n*-hexadecanoato de metilo, isohexadecanoato de metilo, anteisohexadecanoato de metilo y el 4,8,12-trimetiltridecanoato de metilo. Por esta razón en la tabla 11 se observan, en algunos casos, más de un valor de TR para una misma fórmula molecular.

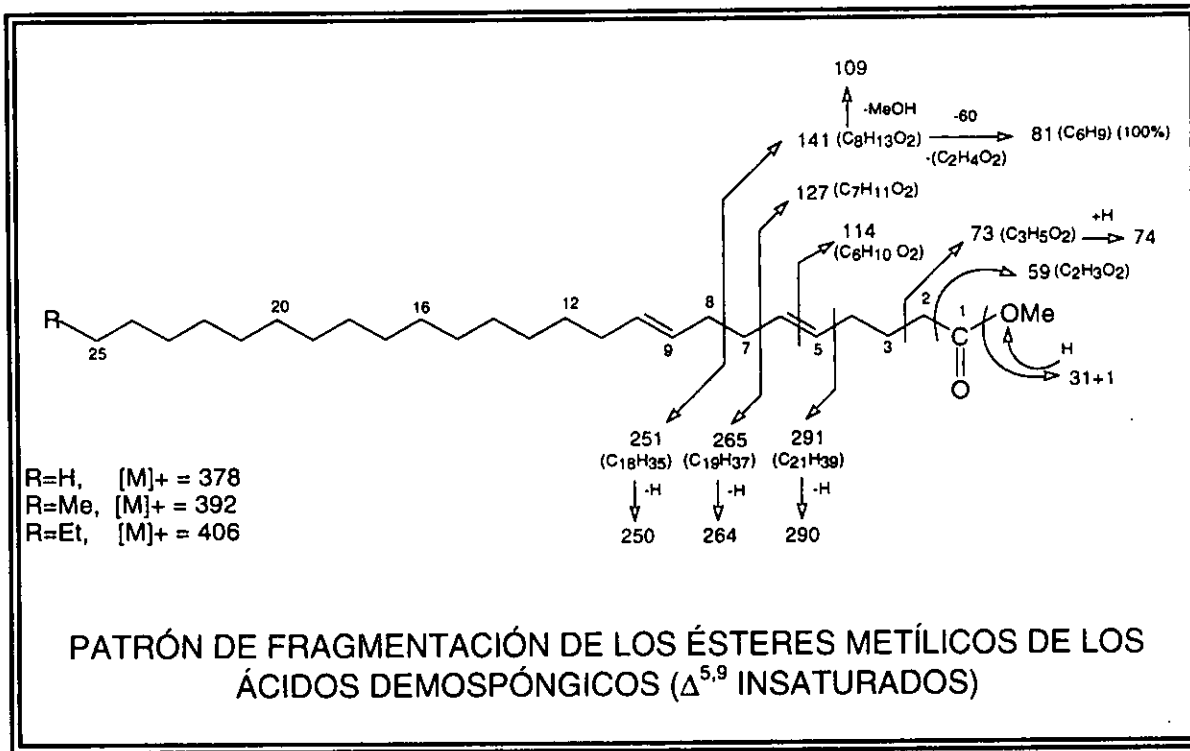
En los ésteres de ácidos insaturados, se encuentran dos casos de interés, aquellos con una insaturación y con dos insaturaciones. Los mono-insaturados fueron identificados como tales pero no se logró confirmar la posición de la doble ligadura, por lo que la estructura propuesta en la tabla 12 es tentativa. Existen algunos métodos que ayudan a determinar la posición de los dobles enlaces en la cadena alifática como son la deuteración del doble enlace, la apertura del epóxido con dimetilamina (Budzikiewicz *et al.*, 1964) o la formación de los pirrolidos correspondientes (Carballeira y Maldonado, 1988), los cuales se consideraran para posteriores trabajos.

Para los ésteres con doble insaturación la situación es algo diferente, Carballeira y Maldonado (1988) y Carballeira y Reyes (1990) explican que si en el espectro de masas del éster metílico de un ácido graso se observa un pico base de m/z 81 (como se observa también en este trabajo), se puede sugerir la existencia de una doble insaturación en 5 y 9. La comparación con los espectros de ésteres metílicos con doble insaturación en 8 y 11, muestran diferencias en el pico mayoritario que en éstos casos es de m/z 67.

Otra observación interesante que hacen estos autores (Carballeira y Maldonado, 1988) y Carballeira y Reyes (1990), es que si la esponja tiene ésteres $\Delta^{5,9}C-26$ no habrá $\Delta^{5,9}C-16$ y viceversa. *Xestospongia subtriangularis* contiene $\Delta^{5,9}C-26$ más no $\Delta^{5,9}C-16$, lo que está de acuerdo con la anterior afirmación.

Los espectros de masas de los tres ácidos demospóngicos ($\Delta^{5,9}$ insaturados) identificados en *X. subtriangularis* muestran un patrón de fragmentación muy similar, en el cual los fragmentos más significativos son los de m/z 81, 109 y 141. El pico base de m/z 81 se origina muy probablemente de la ruptura del enlace 7/8, la cual siendo β s más lábil, generando el fragmento $[CH_2-CH=CH-(CH_2)_3-COOMe]^+$ de m/z 141, el cual por pérdida de 32 unidades de masa (pérdida de MeOH) genera el ion de m/z 109 o bien por pérdida de 60 unidades de masa (H-COOMe) da el pico base de m/z 81. Se observa además del ion molecular $[M]^+$ otros picos significativos correspondientes a los

fragmentos $[M-\text{MeO}]^+$ (M-31), $[M-\text{MeOH}]^+$ (M-32), $[M-\text{MeO}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (M-31-18), $[M-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2]^+$ (M-74), y $[M-\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_2-\text{H}]^+$ (M-142), que confirman la presencia de los dobles enlaces en las posiciones 5 y 9 como se observa en el siguiente recuadro:



Las cuatro fracciones (XsN-B, XsFEP-A, XsFEP'-G y Xs2FEP-D) presentan un comportamiento similar en cuanto al porcentaje entre ésteres de cadena saturada e insaturada, siendo siempre mayor para los de cadena insaturada (65.73, 64.84, 70.48 y 58.86 % respectivamente); de igual modo en la relación entre los ésteres de ácidos grasos de cadena par y non, es mayor el porcentaje de abundancia para los ésteres de cadena par en las cuatro fracciones (56.76, 64.33, 64.80 y 62.93 % respectivamente); esto se debe principalmente a que el compuesto mayoritario en los cuatro casos es el éster metílico del ácido demospóngico $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico (LVI).

Como se puede observar en la tabla 11 las fracciones XsN-B, XsFEP-A, XsFEP'-G y Xs2FEP-D presentan diferentes contenidos de ésteres metílicos; en las tres primeras fracciones no se encuentran ésteres de cadena C-29 pero sí en la última; además, las dos primeras son muy similares entre sí. Esto puede deberse al hecho de que el material de la primera recolecta fue procesado de manera diferente al de la segunda, y entre las dos primeras fracciones los métodos de extracción y purificación fueron diferentes, por lo que se suponen las ligeras diferencias entre ellos.

La fracción Xs2FEP de la segunda recolecta se reunió las fracciones obtenidas durante la extracción (EP, AcOEt y DCM) en tanto que en el material de la primera recolecta sólo se procesó la fracción de EP (ver método). Esto, como se mencionó anteriormente, puede marcar la diferencia entre los resultados, ya que da la impresión

de que hubo mayor eficiencia en la extracción de este tipo de compuestos en el material de la segunda recolecta.

Otra observación de interés es que los ésteres metílicos de ácidos grasos sólo se obtuvieron en los extractos metanólicos de la esponja fresca, tanto de la primera como de la segunda recolecta y no de la esponja seca en la que sólo se encontraron mezclas de ácidos grasos. Este hecho permite suponer que los ésteres metílicos se hayan formado durante el proceso de extracción con el MeOH.

Hasta antes de este trabajo, en el Género *Xestospongia* no se han encontrado ésteres metílicos de ácidos grasos, únicamente se tiene el registro de ésteres metílicos de ácidos bromados poli-insaturados, como se puede ver en el anexo A y B: compuestos 26, 27, 28, 29 y 30 (Quinn y Tucker, 1991; Petil *et al.*, 1992 y Brantley *et al.*, 1995).

Debido a que la mezcla de los ácidos grasos no se resuelve de manera satisfactoria por CG/EM, fue necesario preparar los ésteres metílicos en las diferentes fracciones en las que se hallaron ácidos grasos.

Como se mencionó en el método la fracción XsA resultó ser una mezcla de ácidos grasos que se trató posteriormente con una solución etérea de diazometano. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentes en dicha fracción se analizaron por RMN ^1H a 200 MHz, en el espectro correspondiente se observa la señal simple aguda en 3.67 ppm que corresponde a los protones del metilo del éster y la señal múltiple ancha aproximadamente en 5.36 ppm debida a la presencia de protones vinílicos. Este espectro concuerda en todos sus aspectos con aquellos correspondientes a la mezcla de ésteres metílicos ya antes descritos.

Las fracciones Xs2FEP-F, Xs2SEP-F y Xs2SEP-GD por sus espectros en el IR y de RMN ^1H resultaron ser mezclas de ácidos grasos, estos espectros fueron iguales a los de la fracción XsA. El análisis por CG/EM de los ésteres metílicos correspondientes, dio resultados similares a los discutidos anteriormente.

Las tres fracciones XsAMet-B, Xs2FEP-FMetA y Xs2SEP-FMetC muestran un porcentaje mayor de ácidos grasos insaturados sobre los saturados ya que el compuesto mayoritario en éstas fue el ácido $\Delta^{5,9}\text{C-26}$. En cuanto al porcentaje de abundancia entre pares y nones, el patrón es el mismo, es decir, un mayor porcentaje para ácidos grasos de cadena hidrocarbonada par (52.4, 58.45 y 56.73 % respectivamente). Como se puede observar, los resultados corresponden a los obtenidos en las mezclas de ésteres metílicos libres, en donde el éster metílico mayoritario fue del ácido demospóngico $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico (LVI).

En estas mezclas se logró identificar a los ésteres correspondientes a los siguientes ácidos grasos siguiendo las mismas reglas especificadas por Carballeira y Maldonado (1988) y Carballeira y Reyes (1990) y ya mencionadas anteriormente (ver tabla 13):

A) Saturados: Acido *n*-hexadecanoico, isohexadecanoico, anteisohexadecanoico, 4,8,12-trimetiltridecanoico, *n*-heptadecanoico, *n*-eicosanoico, isoeicosanoico,

anteisoeicosanoico, *n*-heneicosanoico, isoheneicosanoico, anteisoheneicosanoico, *n*-docosanoico, isodocosanoico, anteisodocosanoico, *n*-tricosanoico, isotricosanoico y el ácido anteisotricosanoico.

B) Insaturados:

B.1 Mono-insaturados: Acido Δ^{11} -hexadecenoico, Δ^{11} -nonadecenoico, Δ^{15} -heneicosenoico, Δ^{15} -tricosenoico, Δ^{15} -tetracosenoico, Δ^{15} -pentacosenoico, Δ^{15} -hexacosenoico y Δ^{15} -heptacosenoico.

B.2 Doble insaturados también conocidos como ácidos demospóngicos: $\Delta^{5,9}$ -pentacosadienoico, $\Delta^{5,9}$ -hexacosadienoico y $\Delta^{5,9}$ -heptacosadienoico.

Los ácidos grasos han sido estudiados ampliamente en esponjas, incluyendo al Género *Xestospongia* (Anexo A). Bergquist *et al.* (1984) realizaron un estudio de la composición de ácidos grasos de 55 especies de esponjas de Australia encontrándose entre ellas *Xestospongia exigua* y *Xestospongia* sp.; Carballeira y Maldonado (1988) analizaron este mismo contenido en 3 esponjas de Puerto Rico entre ellas *Xestospongia muta*.

En la tabla 23 se puede apreciar una comparación entre los diferentes ácidos grasos totales de estas especies incluyendo *Xestospongia subtriangularis*.

Tabla 23. CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS TOTALES EN DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *Xestospongia*

No. de Carbonos	<i>Xestospongia subtriangularis</i>			X. <i>exigua</i>	<i>Xestospongia</i> sp.	X. <i>muta</i>
	XsAMet-B	Xs2FEP-FMetA	Xs2SEP-FMetC			
C-14	1.01	-----	-----	6.00	3.50	2.40
C-15	7.43	-----	?	6.50	2.50	14.10
C-16	18.97	6.01	3.65	43.00*	29.00*	33.30*
C-17	-----	-----	0.92	-----	5.50	14.90
C-18	2.75	2.82	0.97	29.50	10.80	4.90
C-19	2.50	5.90	1.85	1.00	1.00	8.90
C-20	0.45	2.18	0.73	2.50	3.00	12.50
C-21	1.54	5.10	2.71	-----	1.00	1.60
C-22	-----	-----	?	-----	3.00	-----
C-23	-----	4.50	0.89	-----	5.00	-----
C-24	3.06	5.76	?	1.00	3.60	-----
C-25	3.38	7.54	10.30	1.00	1.50	-----
C-26	27.35*	41.68*	51.38*	9.00	19.70	-----
C-27	-----	14.19	-----	-----	4.50	-----
C-28	-----	-----	-----	-----	5.50	7.40

* Ácido mayoritario

? Existe presencia pero el espectrómetro no indicó el porcentaje de abundancia.

En este trabajo, existen algunas diferencias en la composición de ácidos grasos del material procesado en la primera y segunda recolecta; así como, entre material fresco contra material seco. Ya que en el material de la segunda recolecta no se encontraron ácidos C-14 en tanto que en el primero no se encontraron ácidos C-27. Esto puede deberse a que en la primera recolecta sólo se procesó el extracto de EP, en tanto que en la segunda se reunieron varios extractos y/o fracciones.

De igual modo, el material de la primera recolecta fue procesado mediante separación de ácidos y neutros, en tanto que el material de la segunda fue por medio de columnas cromatográficas. Por lo que la conjunción de las cuatro fracciones puede ser más representativa de la especie; así, *Xestospongia subtriangularis* presenta ácidos desde C-14 a C-27 en tanto que en *X. exigua* no se detectaron ácidos grasos C-21, C-22, C-23 y C-27; en *X. muta* tampoco se detectaron ácidos de C-22 a C-27 y presenta junto con *Xestospongia* sp. el ácido C-28 el cual no se detectó en la especie estudiada en este trabajo (ver tabla 23).

Considerando la clasificación de Bergquist *et al.* (1984) en: ácidos grasos de cadena media (ACM) aquellos de C-14 a C-22 y de cadena larga (ACL) aquellos de C-23 a C-30, se encontró lo siguiente: *X. exigua*, *X. muta* y *Xestospongia* sp. así como el material de la primera recolecta de *X. subtriangularis* presentan un mayor porcentaje de ACM que de ACL (88.5/11.0, 92.6/7.4, 59.3/39.8 y 56.32/10.39 respectivamente); sin embargo, este comportamiento es totalmente inverso para el material de la segunda recolecta, en donde el porcentaje de ACL se incrementa sobre los ACM (10.83/62.57 y 24.32/70.35).

Bergquist *et al.* (1984) mencionan en su estudio, que en las esponjas es característico observar un porcentaje representativo de ACL en comparación con otros invertebrados marinos y que, el porcentaje de abundancia relativa de éstos puede variar durante el año; esto de acuerdo con las especies *Halichondria moorei*, *Aphysilla rosea* y *Iophon minor*, y es por esta razón que los ácidos grasos no tienen gran valor quimiotaxonómico a nivel específico. Aunque en este trabajo no se puede afirmar si sucede este fenómeno entre el material de la primera y segunda recolecta, es importante tener en cuenta que la temperatura superficial del agua en la segunda recolecta fue menor que en la primera (27.6 contra 29.8 °C) pudiendo ser entonces un posible factor cuya influencia se ve reflejado en el porcentaje de ACL (un incremento).

Un hecho también observable, es que considerando el porcentaje de abundancia relativa de ácidos de cadena par y non, se encontró que las cuatro especies de la tabla 23 (incluyendo el material de las dos recolectas de *X. subtriangularis*), el mayor porcentaje corresponde a aquellos de cadena par. Bergquist *et al.* (1984) mencionan que los compuestos de cadena non son característicos de bacterias y muchos de estos organismos viven embebidos en el interior de la matriz de la esponja por lo que es relativamente frecuente encontrarlos en las esponjas; sin embargo, como se observa en la tabla 27 en *X. subtriangularis* muchos de éstos se encuentran en porcentajes altos, por lo que queda en duda su origen bacteriano.

Para las cuatro especies, el ácido graso más abundante dentro de los ACM fue el ácido C-16 y dentro de los ACL el ácido más abundante fue el C-26, con excepción

de *X. muta* que no presenta un ácido C-26 sino un C-28 con tres insaturaciones (5,9,19-octacosatrienoico).

En cuanto a los ácidos grasos insaturados, Bergquist *et al.* (1984) no hacen mención del porcentaje de éstos para ninguna de las especies estudiadas; ellos sólo mencionan que del total, hay un porcentaje que va del 16.4 al 71.1 %. *X. muta* contiene un valor de 29.4 % de ácidos grasos insaturados (Carballeira y Maldonado, 1988) y cae dentro del margen anterior, junto con los diferentes porcentajes para cada fracción de la especie *X. subtriangularis* (37.52, 64.46 y 56.35 % respectivamente).

Otro hecho de importancia es que Bergquist *et al.* (1984) mencionan la presencia de ácidos grasos poli-insaturados y, en este trabajo, sólo se detectó la presencia de ácidos con dos y tres insaturaciones; sin embargo, sí se concuerda con estos autores en que el porcentaje de estos ácidos insaturados aumenta en la fracción de ACL. Por otro lado, se aislaron ácidos $\Delta^{5,9}\text{C-26}$ y $\Delta^{5,9}\text{C-27}$ y no se aislaron $\Delta^{5,9}\text{C-16}$ y $\Delta^{5,9}\text{C-17}$ respectivamente, lo cual concuerda lo mencionado por Carballeira y Maldonado (1988) y Carballeira y Reyes (1990).

Si se analiza la información publicada sobre el género en relación a los ácidos grasos (Anexo A y B) se puede observar que, a excepción de los trabajos de Bergquist *et al.* (1984) y Carballeira y Maldonado (1988), en todos los demás trabajos se aislaron ácidos grasos poli-insaturados bromados (mono- o poli-bromados). En este estudio no se encontró ningún ácido de este tipo, esto puede deberse principalmente a que el método de extracción en casi todos los casos fue diferente (Anexo B).

Carballeira y Maldonado (1988) analizaron el contenido de ácidos grasos de una especie identificada inicialmente como *X. halichondroides*; sin embargo, actualmente esta especie ha sido cambiada al género *Plakortis* (*P. halichondroides* (Wiedenmayer, 1977)); por ello no se incluyó en esta discusión.

V. ESTEROLES.

◦ CLIONASTEROL (LXXI).

Del extracto metanólico de la primera recolecta de *X. subtriangularis* procesada húmeda, así como de los extractos de la esponja de la segunda recolecta procesada húmeda y seca, se obtuvo el clionasterol (LXXI) como componente mayoritario en las fracciones XsNE, XsFEP'-J, Xs2FEP-G y Xs2SEP-GE. Los espectros de RMN ^1H a 200 MHz de estas fracciones muestran claramente la presencia de esterole, ya que se observa el perfil clásico de éstos. Las señales más sobresalientes son las de los protones de los metilos C_{18} y C_{19} localizados en 0.65 y 0.98 ppm respectivamente, así como la señal correspondiente al protón H_3 , que se encuentra a campo más bajo como una señal ancha aproximadamente a 3.5 ppm y que indica la presencia del grupo -OH en C_3 que es común en estos compuestos; así también se observa la presencia de la señal de los protones vinílicos en la posición 5,6 que corresponde a una señal múltiple en la región de 5.33 ppm.

En el espectro de masas, determinado por IE, se observa el pico correspondiente a un ion molecular $[M]^+$ de m/z 414 que está de acuerdo para la fórmula molecular $C_{29}H_{50}O$ correspondiente a un 24-etil-colesterol (clionasterol y/o β -sitosterol) ya que el patrón de fragmentación concuerda con el de estos compuestos (Aizawa *et al.*, 1974).

Es difícil distinguir entre el clionasterol (LXXI) y el β -sitosterol (LXIX), basados únicamente en datos físicos (pf. y rotación óptica) o datos en el IR y EM, dada la similitud en sus estructuras ya que éstos únicamente se diferencian por la configuración absoluta del centro quiral C_{24} , el cual se ha establecido como *R* (con el sustituyente etilo β en C_{24}) en el β -sitosterol (LXIX) y *S* (con el sustituyente α en C_{24}) en el clionasterol (LXXI). Sin embargo, esto se pueden lograr distinguir, aunque con algunas restricciones por medio de RMN 1H y RMN ^{13}C .

El esteroil mayoritario aislado de *X. subtriangularis* se obtuvo principalmente de la fracción XsFEP'-J como un compuesto sólido cristalino de pf. 144-146° y $[\alpha]_D -31.7^\circ$ (clionasterol pf. registrado 147-148° y $[\alpha]_D$ registrado -48.3; β -sitosterol pf. 136-137° y $[\alpha]_D -35$ DPN, 1997) que se identificó con base en sus datos espectroscópicos principalmente de RMN 1H y RMN ^{13}C como clionasterol (LXXI).

Con el objeto de identificar inequívocamente el esteroil aislado como clionasterol (LXXI) se determinaron sus espectros de RMN de alta resolución tanto de 1H (500 MHz) como de ^{13}C (125 MHz). Para confirmar los diferentes desplazamientos químicos y la asignación completa de las señales en los espectros de RMN 1H que se presentan en este trabajo; se realizaron experimentos de doble resonancia 1H - 1H (irradiaciones) y de correlación homonuclear 1H - 1H en dos dimensiones (COSY), así como experimentos de correlación heteronuclear 1H - ^{13}C a un enlace (HMQC) y a larga distancia (HMBC). La multiplicidad de las señales de ^{13}C , debido a interacciones a un enlace, o sea el grado de protonación de cada uno de los átomos de carbono en la molécula (CH_3 , CH_2 , CH y C) se estableció mediante experimentos de transferencia de polarización conocidos como DEPT y APT.

En el espectro de RMN 1H la principal diferencia entre estos dos epímeros, aunque no muy significativa, se observa en el desplazamiento químico de la señal triple de los protones del metilo H_{29} del grupo etilo en C_{24} , los cuales en el clionasterol (LXXI) se localizan a campo ligeramente más bajo (0.85 ppm), en tanto que en su epímero β -sitosterol (LXIX) se localiza a campo ligeramente más alto (0.84 ppm). Esta diferencia no es tan clara en el espectro de RMN 1H a 200 MHz, siendo más fácil de detectar en espectros de alta resolución a 500 MHz en las que se pudo observar claramente la señal triple con constante de acoplamiento (J) de 7.5 Hz en 0.85 ppm, además de las señales dobles en 0.93 (J = 6.5 Hz), 0.81 (J = 7.0 Hz) y 0.83 (J = 7 Hz) que se deben a los metilos secundarios C_{21} , C_{26} y C_{27} , respectivamente.

La comparación con el espectro del β -sitosterol (LXIX) (Guerrero, 1997) obtenido en las mismas condiciones mostró una diferencia de 0.007 ppm entre las señales triples (H_{29}). Diversos autores señalan diferencias similares para estos protones; por ejemplo Rubistein *et al.* (1976) registra una diferencia, como Horibe *et al.* (1989) y Notaro *et al.* (1992), de 0.006 ppm, Matsumoto *et al.* (1983) de 0.009 a 0.010

ppm y otros autores que aunque no manejan una diferencia específica si señalan la existencia de ésta.

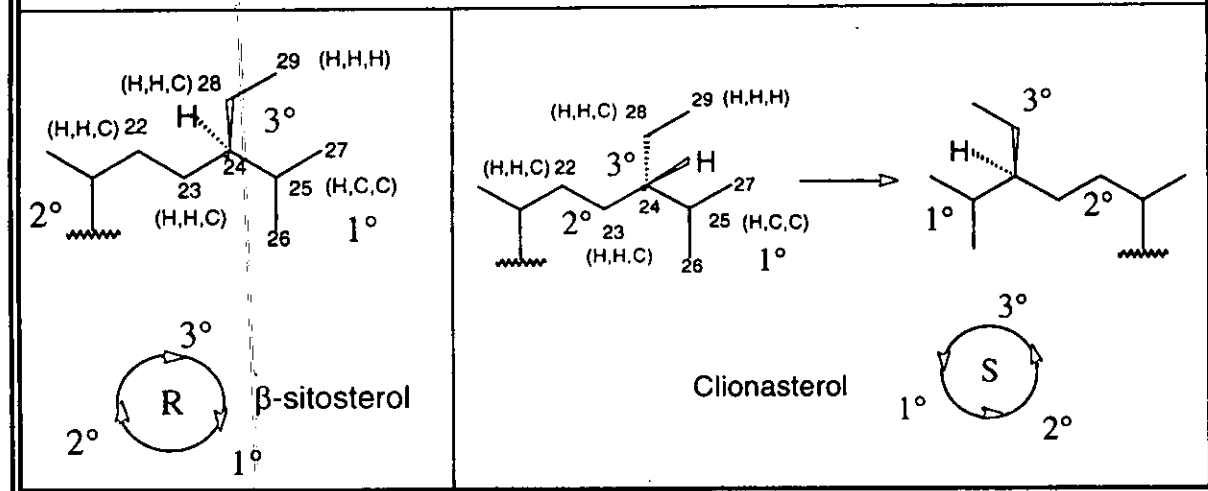
Sin embargo, en RMN ^{13}C la diferencia entre estos dos compuestos es más significativa, principalmente en los carbonos de la cadena lateral (CL) siendo más evidente en los carbonos cercanos al centro quiral C_{24} . En el clionasterol (LXXI) C_{20} , C_{21} , C_{23} y C_{24} se encuentran a campo más bajo δ_{C} 36.23, 18.79, 26.34 y 46.01 (diferencias de 0.08, 0.03, 0.19 y 0.13 ppm, respectivamente), en tanto que los carbonos C_{25} , C_{26} , C_{27} y C_{28} se encuentran a campo más alto δ_{C} 28.90, 18.94, 19.55 y 22.97 (diferencias de 0.3, 0.77, 0.23 y 0.12 ppm, respectivamente) comparadas con el β -sitosterol (LXIX); Fujimoto e Ikekawa (1979) también observan este patrón de cambios, pero no mencionan ningún intervalo, en tanto que Wright *et al.* (1978) sí dan algunos datos para los carbonos C_{20} , C_{23} y C_{24} que se encuentran a campo más bajo (diferencias de 0.12, 0.26 y 0.22 ppm respectivamente) y a los carbonos C_{25} , C_{26} y C_{27} localizados a campo más alto (diferencias de 0.39, 0.77 y 0.20 ppm); también Vallis *et al.* (1994) observó este comportamiento y de hecho señala que la máxima diferencia se encuentra en el carbono C_{24} pero no da un intervalo, Horibe *et al.* (1989) señala un margen para los carbonos C_{26} y C_{27} de 0.80 y 0.21 ppm siendo estos datos muy semejantes a los obtenidos en este trabajo.

Con respecto a los carbonos C_{26} y C_{27} cabe hacer la aclaración que la asignación de éstos se hizo de acuerdo con las asignaciones realizadas por Horibe *et al.* (1989); es decir, la señal a campo más alto en RMN ^1H corresponde a los protones del C_{26} en tanto que la señal a campo más bajo corresponde a los protones del C_{27} . En cuanto a los dos protones de grupos metilenos tales como C_1 , C_2 , C_4 , entre otros; cabe hacer la aclaración de que el valor dado a campo más alto corresponde al protón axial en la estructura, en tanto que el ecuatorial presenta desplazamientos químicos a campo más bajo.

Una comparación de los datos obtenidos en este trabajo con otros registros de RMN ^1H y ^{13}C de estos dos compuestos se presenta en las tablas 15 y 16. El análisis de estos datos permite hacer algunas observaciones; por ejemplo, Greca *et al.* (1990) señalan un desplazamiento de 0.85 t para los protones H_{29} del β -sitosterol (LXIX), por lo que pudiera pensarse que se trata de clionasterol (LXXI) y no de β -sitosterol (LXIX); sin embargo, los datos de ^{13}C concuerdan con los del β -sitosterol (LXIX) y con los datos registrados por Aliotta *et al.* (1990) para el β -sitosterol (LXIX) aislado de la misma planta acuática para ^1H (δ 0.848, que si se redondea, da 0.85).

Durante la recopilación de esta información, también se encontró que en la literatura consultada causa confusión el uso de la representación α y β para el sustituyente en C_{24} . En algunos artículos, en el texto refieren al β -sitosterol con una configuración α para el grupo etilo en C_{24} ; en tanto que su epímero clionasterol se menciona con una configuración β ; sin embargo, las estructuras que los mismos autores muestran en el trabajo cuando se refieren a la configuración absoluta *R* o *S* para los epímeros, la representación es totalmente opuesta, ya que para el β -sitosterol (LXIX) con una configuración establecida *R*, el sustituyente en C_{24} debe representarse como β y para el epímero clionasterol (LXXI), con una configuración *S* el etilo en C_{24} debe representarse como α como se muestra en el siguiente recuadro:

ASIGNACIÓN DE LA CONFIGURACIÓN ABSOLUTA (R-S)
PARA LOS EPÍMEROS 24-ETILCOLESTEROL



En una comunicación personal por correo electrónico con el Dr. Alain Milon del Laboratorio fundamental de farmacología y de toxicología del centro de neuroquímica de Francia, se le comentó lo anterior, ya que en uno de sus artículos (Marsan *et al.*, 1996), se presenta este hecho, a lo cual comentó: "...está Ud. en lo correcto en su observación, pero dentro del campo de los esteroides existe mucha confusión con respecto a este tema; sin embargo la asignación correcta y que debe considerarse es la dada por la configuración absoluta R o S en cuyo caso la estructura mostrada en el artículo corresponde adecuadamente...". Otros autores que se consultaron y en donde se observa este mismo incidente son: Rowe (1965), Erdman y Thompson (1972), Patterson (1972), Rubistein *et al.* (1976), Wright *et al.* (1978), Duperon *et al.* (1983), Matsumoto *et al.* (1983), Pinto y Nes (1983), Kalidindi *et al.* (1988), Horibe *et al.* (1989) y Marsan *et al.* (1996).

Los experimentos de doble resonancia proporcionaron información que fue útil para confirmar los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento de algunos hidrógenos en la molécula, pero fueron especialmente provechosos para confirmar la posición relativa de los metilos secundarios en la cadena lateral (CL). Así, por ejemplo:

- La irradiación de la señal en 1.68 ppm asignada a H₂₅, confirma la presencia del grupo isopropilo en la CL, ya que como consecuencia de ésta, las dos señales dobles asignadas a los metilos secundarios C₂₆ y C₂₇ se colapsan a señales simples, confirmando que ambos grupos metilo interaccionan con el mismo protón H₂₅.
- La irradiación de la señal doble en 0.93 ppm asignada a los protones del metilo 21, modifica las señales en 1.3 ppm, confirmando la posición de H₂₀ y también, simplifica la señal asignada a H₂₅ (δ 1.68) indicando que la señal correspondiente al protón del metino 24 debe de encontrarse también en 0.93 ppm sobrepuesta con la señal de H₂₁.

- c) La irradiación de la señal triple en 0.85 ppm asignada al metilo 29, confirmó la posición de los protones del metileno 28 ya que se observan cambios en la región de 1.12 y 1.32 ppm.
- d) La irradiación de la señal del protón sobre la base del alcohol secundario en C₃ (H₃, δ 3.52), confirma los desplazamientos de los protones de los metilenos 2 y 4. Las señales para H₄ se colapsan a una señal doble de dobles ($J = 13$ Hz y 2 Hz) y una señal doble ancha ($J = 13$ Hz), indicando que la existencia de acoplamiento de H₄ a larga distancia, probablemente con H₆, H₇ y/o H₂.
- e) Contrariamente, la irradiación sobre la señal de H₄ confirmó los acoplamientos a larga distancia con H₆, H₇ y H₂.
- f) Finalmente la irradiación sobre la señal del protón vinílico H₆ (δ 5.35) confirmó la posición de los protones del metileno C₇ (δ 1.50 y 1.97) y el acoplamiento a larga distancia con H₄ axial (δ 2.22).

En el espectro de RMN ¹H del acetato de clionasterol (LXXII), se observa claramente la presencia del grupo acetoxi (AcO-) en C₃, ya que el protón H₃ se encuentra desplazado a campo más bajo, de 3.52 ppm en el clionasterol (LXXI) a 4.55 ppm en el acetato correspondiente (LXXII), debido al efecto de desprotección que provoca la presencia de este grupo AcO-; en este mismo espectro se observa la aparición de una señal simple aguda en 2.04 ppm que corresponde a los protones del metilo del grupo AcO-. El punto de fusión determinado para este acetato fue de 140-141° (pf. registrado 140-141° DNP, 1997).

El análisis por CG/EM del producto de acetilación, confirma la presencia de 24-etil-colesterol (clionasterol y/o su epímero β -sitosterol) como componente mayoritario en las diversas fracciones analizadas (Tabla 13). Sin embargo, se observa la presencia de otros componentes, que de acuerdo con sus pesos moleculares puede tratarse de brassicasterol y/o crionasterol, dihidrobrassicasterol y/o campesterol y poriferasterol y/o estigmasterol; además de otros componentes que pueden ser los correspondientes productos de eliminación térmica del acetato.

Debido a que todas las fracciones caracterizadas como esteroides se analizaron por CG/EM ya una vez acetiladas bajo las mismas condiciones, se obtuvieron TR muy similares que ayudaron a identificar a los componentes de estas mezclas; es decir se obtuvo el TR medio (TR_x) junto con la desviación estándar (DE) para cada uno de los componentes de las mezclas, como se puede observar en la tabla 24.

El valor de n (tamaño de muestra o número de fracciones analizadas) no es el mismo para el clionasterol y/o β -sitosterol con un valor de n = 4 en lugar de n = 5, esto es debido a que este compuesto no se encontró en la fracción XsSEP-FEcAc en donde se identificó petrosterol (LXXIII) como se puede ver en los resultados correspondientes (Tabla 13).

Éste no es el primer registro de clionasterol (LXXI) en el género, ya que Zimmerman y Djerassi (1991) registran anteriormente el aislamiento de clionasterol (LXXI) en mezcla con β -sitosterol (LXIX) de la esponja *Xestospongia testudinaria* (anexo A y B) en un 11 % aproximadamente de la mezcla total de la fracción esteroidea; sin embargo, sí es el primer registro de este compuesto como componente mayoritario en el género. Otros autores como Kerr *et al.* (1991) han registrado el

aislamiento de 24-etil-colesterol en *X. muta* pero no hacen mención de la estereoquímica de este compuesto (ya sea α y β o *R* y *S*).

Tabla 24. VALORES DE LA MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR CORRESPONDIENTES A LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN DE CADA UNO DE LOS COMPONENTES DE LAS MEZCLAS DE ESTEROLES ANALIZADAS POR CG/EM.

COMPUESTO	TRx	DE	n
Desmosterol	21.27	0.46	5
Colesterol	21.43	0.46	5
Brassicasterol y/o crinosterol	21.99	0.40	5
Dihidrobrassicasterol y/o campesterol	22.32	0.50	5
Poriferasterol y/o estigmasterol	22.54	0.54	5
Clionasterol y/o β -sitosterol	23.93	0.38	4

TRx = Valor medio de los tiempos de retención

DE = Desviación estándar del valor medio de los tiempos de retención

n = Tamaño de muestra (Núm. de mezclas consideradas en el análisis)

El clionasterol (LXXI) es un compuesto muy conocido en organismos acuáticos, por ejemplo se ha encontrado en:

- a) En las algas verde-azules (*Myxophyceae*) (Paoletti *et al.*, 1976).
- b) En las algas rojas *Porphyridium* sp. (Duperon *et al.*, 1983) y *Gracilaria edulis* (Das y Srinivas, 1992).
- c) En las algas café Nitella (*Sica et al.*, 1983 y Wright *et al.*, 1984).
- d) En algas verdes *Caulerpa taxifolia* (Patterson, 1972; Rao y Pullaiah, 1982 y Akinet *et al.*, 1992), *Chlorella ellipsoidea* (Duperon *et al.*, 1983), *Caulerpa prolifera*, *C. racemosa*, *Bryopsis plumosa*, *Halimeda tuna*, *H. incrassata*, *Boodleopsis pusilla*, *Udotea petiolata*, *Cladophora vagabunda* y *C. rupestris* (Rao y Pullaiah, 1982; Akinet *et al.*, 1992 y Valls *et al.*, 1994).
- e) En los dinoflagelados *Brareum asbestinum* y *Glenodinium* (Bohlin *et al.*, 1981).

De hecho, Bergman *et al.* (1944) mencionan que el clionasterol (LXXI) es un compuesto común en esponjas: *Spirastrella inconstans*, *Anthosigmella varians*, *Cliona aprica*, *C. celata*, *Cribochalina vasculum* y *Spheciospongia vesparium* (Carballeira *et al.*, 1989; Doss *et al.*, 1990 y DPN, 1997). Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, no existen datos espectroscópicos completos sobre este compuesto.

Un punto a discutir es el origen del clionasterol (LXXI), si es o no producido por la esponja. Es conocido que *Xestospongia subtriangularis* presenta asociación

simbiótica con un alga verde-azul, *Chroococcus* (De Laubenfels, 1930 y Green, 1977) y se sabe también, que las algas verde-azules se caracterizan por contener mayor cantidad de clionasterol (LXXI) que sus contrapartes eucariotas (Paoletti *et al.*, 1976); sin embargo, un estudio detallado sobre este tema se ha realizado en otros géneros en especial sobre el género *Dysidea* (Hinde *et al.*, 1994 y Unson *et al.*, 1994) por lo que debe considerarse abierta la posibilidad de que lo sintetice:

- 1) La esponja.
- 2) La alga verde-azul.
- 3) La alga verde-azul produzca el precursor y la esponja termine la síntesis o, viceversa.

Dado que el clionasterol (LXXI) es mayoritario, podría suponerse que la esponja es la responsable de su síntesis, aunque el alga verde-azul pueda contribuir en cierto porcentaje. Otra posibilidad es que las esponjas se alimenten de este tipo de algas junto con otras como las algas verdes del Género *Chlorella* (como ya se mencionó, éstas son ricas en clionasterol), por lo que la esponja puede ser un reservorio de este compuesto. Zimmerman *et al.* (1990) en un estudio sobre el contenido esteroidal en los diferentes tipos de células de la esponja *Tethya aurantia* y dos de sus simbioses, sólo encontraron clionasterol (LXXI) en los simbioses en tanto que el colesterol (LIX) fue el compuesto mayoritario en la esponja (en cualquiera de sus tipos de células). Se ha observado que los esteroides mayoritarios son componentes de la membrana celular (Doss *et al.*, 1990) y en el caso de *Xestospongia subtriangularis*, el clionasterol (LXXI) sí es un componente mayoritario, por lo que es muy posible que sea sintetizado por la esponja.

Pero para responder con certeza a esta duda, se requiere realizar más estudios semejantes a los de Zimmerman *et al.* (1990).

◦ 7-OXOCLIONASTEROL (LXXV).

De la fracción XsFEP'-JL se obtuvo un sólido de pf. 100-105° y $[\alpha]_D -46^\circ$ que se identificó espectroscópicamente como 7-oxoclionasterol (LXXV) (registrados para el 7-oxoclionasterol: pf. 138-139°; $[\alpha]_D -105.6^\circ$ Das y Srinivas, 1995); su espectro en el IR muestra presencia de grupos -OH (3513 cm^{-1}) y carbonilo (1666 cm^{-1}). En su espectro de RMN ^1H a 200 MHz presenta el perfil clásico de un esteroide y la comparación de estos datos con los del clionasterol (Tablas 15 y 18) indica que la CL no sufre cambios; sin embargo, el hecho de que la señal para los protones del metilo angular en C_{10} (H_{19}) se localiza desplazada a campo más bajo indica que el grupo carbonilo se encuentra localizado en el núcleo esteroide.

La multiplicidad y el desplazamiento químico del protón vinílico (H_6 δ 5.69, d, $J = 2\text{ Hz}$) proponen que el grupo carbonilo debe localizarse en la posición siete, y por lo tanto, debe tratarse del 7-oxoclionasterol (LXXV). La comparación con los datos de Das y Srinivas (1992) y Notaro *et al.* (1992) para este compuesto aislado de una alga roja *Gracilaria edulis* y de la esponja marina *Cliona copiosa* respectivamente, apoyan la anterior aseveración, ya que éstos concuerdan casi perfectamente; lo mismo sucede con los datos en el IR.

En el espectro de masas por IE se confirma la presencia de un compuesto de P.M. 428 que está de acuerdo para una fórmula molecular $C_{29}H_{48}O_2$ y por lo tanto para el 7-oxoclonasterol, el patrón de fragmentación también concuerda con el publicado por Das y Srinivas (1992) y Notaro *et al.* (1992).

Una característica peculiar que presenta este compuesto es el hecho de que al revelar con una solución ácida de sulfato cérico, éste se torna de color amarillo, por lo que fue fácil su detección en otras fracciones tales como XsFEP'-JOF, XsFEP'-JN, XsFEP'-JP, XsFEP'-JQ y XsFEP'-M. De las tres últimas fracciones se purificó el material por CPP y las fracciones de interés se reunieron para diversos experimentos de RMN 1H y RMN ^{13}C . El resultado de estos estudios permitió la asignación completa de las señales en RMN 1H y RMN ^{13}C como se puede observar en las tablas 18 y 19. En estas tablas se enlistan los datos de RMN obtenidos para el 7-oxoclonasterol (LXXV) aislado en el presente trabajo y se compara con los datos de este mismo compuesto aislado de otras fuentes y del acetato correspondiente de los cuales existe poca información, así como con su epímero C_{24} -etil, el 7-oxositosterol del cual existe un poco más de información.

Como en el caso del clonasterol (LXXI) y su epímero el β -sitosterol (LXIX), la diferencia entre sus correspondientes 7-oxo derivados (7-oxoclonasterol LXXV y 7-oxositosterol) en RMN 1H radica también en el desplazamiento químico del grupo metilo 29 (H_{29}) que es poco significativo (δ 0.85 en el 7-oxoclonasterol LXXV y δ 0.84 en el 7-oxositosterol) (Notaro *et al.*, 1992 y Das y Srinivas, 1992) y como se discutió anteriormente. En la tabla 18 se encuentran algunos datos incongruentes en el desplazamiento químico registrado para H_{29} , que probablemente se deben a la pequeña diferencia entre ambos epímeros ($\Delta\delta \sim 0.007$). Así, Shoolery *et al.* (1983) y Greca *et al.* (1990) registraron un valor de 0.85 ppm para H_{29} en el 7-oxositosterol en lugar de 0.84 ppm. Por el contrario, en el caso de Guerriero *et al.* (1993), que también registra un valor de 0.85 ppm para H_{29} , pero sus datos de ^{13}C son más acordes para el 7-oxoclonasterol (LXXV) y casi idénticos a los obtenidos en este trabajo. Más aún considerando, que la fuente de origen fue la esponja marina *Corallistes undulatus*, se puede suponer que el compuesto aislado por Guerriero *et al.* (1993) haya sido el 7-oxoclonasterol (LXXV) y no 7-oxositosterol, como lo mencionan los autores. Con base en estas consideraciones también se puede sugerir que el 7-oxo-24-etilcolesterol aislado por Riccardis *et al.* (1993) de la esponja *Stelodoryx chlorophylla* debe ser también el 7-oxoclonasterol (LXXV).

Se ha sugerido que la presencia de este tipo de compuestos y de otros 7-oxiesteroles se puede deber a un proceso de oxidación con el oxígeno del aire durante el aislamiento y purificación, o bien durante el almacenaje, referido por algunos autores como proceso de auto-oxidación (Schroeder *et al.*, 1980; Das y Srinivas, 1992; Greca *et al.* 1990; 1994; Guerriero *et al.*, 1993 y Arreguín-Espinosa *et al.*, 1998).

Lo anterior está de acuerdo con las observaciones realizadas en este trabajo; por ejemplo, las fracciones XsFEP'-J y XsFEP'-M se obtuvieron de la misma columna cromatográfica a principios de marzo de 1996; la primera fracción inmediatamente de ser obtenida fue analizada por CCF revelando únicamente la presencia del clonasterol (LXXI) y esteroides con el mismo Rf. (mancha de color café-rojizo al revelar con sulfato cérico); sin embargo, al analizarse nuevamente por CCF a principios de agosto de

1996 se observaron además del clionasterol (LXXI) otros dos productos más polares (menor Rf., mancha de color amarillo y mancha de color azul), los cuales correspondieron al 7-oxoclionasterol (LXXV) y 7 α - y 7 β -hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX) lo que indica que éstos son productos de un proceso de oxidación ocurrido durante el tiempo que permaneció la muestra expuesta al aire. En cuanto a la segunda fracción XsFEP'-M, en ésta se detectó desde un inició (marzo de 1996) la presencia del 7-oxoclionasterol (mancha de color amarillo) por lo que se puede pensar que la esponja lo produce; sin embargo, el extracto de EP del cual se obtuvo esta fracción fue obtenido a principios de noviembre de 1995 y no fue hasta marzo del año siguiente que se procesó existiendo entonces la posibilidad de que se llevara a cabo el proceso de oxidación.

En el material de la segunda recolecta el 7-oxoclionasterol (LXXV) sólo se encontró en el extracto de la esponja seca y no en el extracto metanólico de la esponja húmeda y el rendimiento obtenido fue mucho menor que en el material de la primera recolecta. En este último el 7-oxoclionasterol (LXXV) correspondió al 0.24 % de la fracción de EP de la esponja fresca (XsFEP'), en tanto que en la segunda sólo correspondió el 0.014 % del extracto de la esponja seca (Xs2SEP). El hecho de que el material de la segunda recolecta fuera analizado en un periodo de tiempo más corto puede responder a estas observaciones; es decir, la obtención de la fracción Xs2SEP-J fue a mediados de febrero y ésta se procesó a mediados de marzo, por lo que el proceso de oxidación no se llevó a cabo por un periodo prolongado como en los otros casos; este hecho se observa más notoriamente para la fracción XsSEP y la obtención del 7-oxopetrosterol (LXXVII) en donde se obtuvo un rendimiento del 3.5 % ya que el tiempo en que se tardó en procesar la muestra fue de casi un año (ver discusión del 7-oxopetrosterol, pág. 120).

El tratamiento del 7-oxoclionasterol (LXXV) con Ac₂O y piridina proporcionó el acetato correspondiente (LXXVI) el cual se analizó por RMN ¹H y RMN ¹³C. Los datos confirmaron las asignaciones hechas, que se pueden observar en las tablas 18 y 19. En RMN ¹H se observa el desplazamiento del protón H₃ hacia campo más bajo por la presencia del grupo AcO en el carbono C₃ que pasó de 3.67 ppm en el 7-oxoclionasterol a 4.72 ppm en el acetato (LXXVI); otro cambio importante es la aparición de una señal simple aguda en 2.05 ppm que corresponde a los protones del metilo del grupo AcO-; los datos anteriores están de acuerdo con los registrados por Das y Srinivas (1992) para el acetato del 7-oxoclionasterol (LXXVI).

En la literatura consultada no se encontraron datos de RMN ¹³C del acetato (LXXVI), por lo que en este trabajo se presenta por primera vez la asignación completa para este compuesto. Al comparar estos datos con los del 7-oxoclionasterol (LXXV) se encontró, como era de esperarse, que la principal diferencia se encuentra en el C₃ en donde se une el grupo AcO-, observándose en el acetato un desplazamiento a campo más bajo, de 70.52 ppm a 72.27 ppm. Así mismo, los carbonos vecinos a éste tales como C₂, C₄ y C₅ se encuentran desplazados a campo más alto (de 31.18 a 27.40 ppm, 41.81 a 37.76 ppm y de 165.15 a 163.81 ppm respectivamente); se observa además, la aparición de una nueva señal en 170.26 ppm que corresponde al carbono del grupo carbonilo del acetato.

o 7α y 7β -HIDROXICLIONASTEROL (LXXVIII Y LXXX).

De la fracción Xs7HC-b se obtuvo un sólido de pf. $136-137^\circ$ y $[\alpha]_D -61.6^\circ$. Su espectro en el IR mostró la absorción característica que indica la presencia de grupos -OH en 3607 cm^{-1} . El perfil del espectro de RMN ^1H es el característico de un esteroide, de hecho semejante al del clionasterol (LXXI); en él se observaron las señales simples agudas correspondientes a los metilos angulares C_{18} y C_{19} en 0.686 y 0.996 ppm; además de las señales para los metilos secundarios C_{21} , C_{26} y C_{27} como señales dobles en 0.937 (J = 7 Hz), 0.812 (J = 7 Hz) y 0.83 ppm (J = 7 Hz); así como la señal triple para el metilo C_{29} en 0.851 ppm (J = 7.5 Hz); la presencia de esta última indica la presencia de un grupo etilo- α sobre C_{24} , o sea una configuración absoluta S en ese centro quiral, al igual que en el clionasterol (LXXI).

En la región de los protones sobre bases oxigenadas, además de la señal en 3.59 ppm, típica del protón sobre la base del alcohol secundario en C_3 , se observa otra señal en 3.88 ppm que debe corresponder a la base de otro alcohol secundario.

En la región de los protones vinílicos, se observa una señal doble de dobles en 5.60 ppm (J = 5.25 y 2 Hz) que debe corresponder a H_6 ; el desplazamiento de esta señal a campo más bajo comparativamente con el clionasterol (LXXI), así como la multiplicidad de la señal, permite suponer que el otro alcohol secundario se puede encontrar en C_7 . Esto quedó confirmado por la clara correlación que se observa entre esta señal (δ 5.60) y la señal en 3.88 ppm, en el espectro de correlación homonuclear $^1\text{H}-^1\text{H}$ en dos dimensiones (COSY); por lo tanto, esta última señal (δ 3.88) debe corresponder a H_7 . Los datos anteriores concuerdan para el 7α -hidroxiclionasterol (LXXVIII), el cual ha sido aislado anteriormente del alga roja *Gracilaria edulis* (Das y Srinivas, 1992).

La presencia de una señal triple en 5.29 ppm, sugirió la existencia de pequeñas cantidades de otro componente que se identificó como el correspondiente epímero 7β -hidroxiclionasterol (LXXX), el cual ha sido aislado recientemente de la esponja *Cliona copiosa* (Notaro *et al.*, 1992).

El punto de fusión e índice de rotación óptica obtenidos en este trabajo (pf. $136-137^\circ$ y $[\alpha]_D -61.6^\circ$) son diferentes a los registrados en la literatura para el 7β -hidroxiclionasterol (LXXX) (pf. $157-158^\circ$ y $[\alpha]_D -19.5^\circ$) y el 7α -hidroxiclionasterol (LXXVIII) (Pf. $225-226^\circ$ y $[\alpha]_D -32.7^\circ$); ya que en este caso se trabajó con la mezcla de los epímeros y no con los compuestos puros.

En las tablas 20 y 21, se compara los desplazamientos del 7α - y 7β -hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX) obtenidos en este trabajo con los de otros autores. En el trabajo de Chaurasia y Wichtl (1987) se presentan los datos totalmente inversos para el protón H_7 ; sin embargo, los datos de ^{13}C concuerdan con los de este trabajo y los de otros autores en lo que se refiere al núcleo esteroidal, por lo que se presume de que estos autores cometieron un error al redactar esta sección.

Los datos de RMN ^{13}C para los compuestos 7α y 7β -hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX), confirman la existencia de los dos epímeros, ya que se observaron señales duplicadas para la mayoría de ellas, siendo las más sobresalientes las señales para C_7

y los carbonos vecinos a éste C₆ y C₉ que se encuentran a campo más bajo en el 7β-hidroxiclionasterol (LXXX) (δ_C 123.92 y 42.29) (diferencias de 1.58, 8 y 6 ppm respectivamente); sin embargo, no se pudieron asignar todos los valores para este compuesto (LXXX), ya que la mayoría de los desplazamientos de las señales son muy similares o iguales.

En cuanto a los datos de RMN ¹³C no existen datos registrados para ninguno de los compuestos 7α y 7β-hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX); sin embargo, al comparar los datos de Chaurasia y Wichtl (1987), Fukuyama *et al.* (1988), Greca *et al.* (1990) y Guerriero *et al.* (1993) registrados para los epímeros correspondientes 7α y 7β-hidroxisitosterol, encontramos lo siguiente: los datos de los tres primeros artículos son muy similares entre sí; sin embargo, los de Guerriero *et al.* (1993), y en especial los de la cadena lateral son comparativamente similares a los de este trabajo. Como se discutió anteriormente los carbonos C₂₀, C₂₁, C₂₃, C₂₄ y C₂₉ se encuentran a campo más bajo en tanto que C₂₂, C₂₅, C₂₆ y C₂₇ se encuentran a campo más alto en el clionasterol (LXXI) comparativamente con el β-sitosterol (LXXXIV). Este mismo comportamiento se presenta en los datos de Guerriero *et al.* (1993) y en los de este trabajo. Con base en lo anterior y considerando además de que la fuente de obtención fue una esponja marina (*Corallistes undulatus*), es muy probable que el producto aislado por estos autores sea 7α- y 7β-hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX) y no 7α- y 7β-hidroxisitosterol.

El espectro de masas por IE del producto aislado mostró un ion molecular [M]⁺ de m/z 430 que es el pico base y que está de acuerdo con una fórmula molecular C₂₉H₅₀O₂. El patrón de fragmentación resultó muy similar a lo registrado por Notaro *et al.* (1992), Das y Srinivas (1992) y Guerriero *et al.* (1993). Estos últimos autores hacen una distinción en cuanto a la abundancia relativa de los picos del patrón de fragmentación de los dos epímeros y mencionan que en el espectro del 7α-hidroxiclionasterol (LXXVIII) se observa como pico base (100 %) el ion molecular m/z 412; en tanto, que en el 7β-hidroxiclionasterol (LXXX) el pico base resultó el fragmento de m/z 43 y el pico de m/z 412 tiene un porcentaje del 94 %; sin embargo, los autores no hacen ninguna referencia del porcentaje del pico de m/z 43 en el 7α-hidroxiclionasterol. En este trabajo se observan las dos señales (m/z 412 con un 100% y m/z 43 con un 6 %) ya que se trabajó con la mezcla de estos dos compuestos.

La mezcla del 7α- y 7β-hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX) también se aisló en el material de la segunda recolecta pero únicamente del extracto metanólico de la esponja fresca. Al observar su espectro de RMN ¹H a 200 MHz se puede distinguir el mismo perfil esteroideal; es importante hacer notar que la proporción de los epímeros en la mezcla, en este caso fue casi de 1:1, en tanto que en la fracción Xs7HC-b fue de 3:1 con predominio del 7α-hidroxiclionasterol.

Deshmane y Dev (1971) y Greca *et al.* (1990) también registran el aislamiento de la mezcla de los 2 epímeros 7α- y 7β-hidroxisitosterol; de hecho, los primeros autores llevaron a cabo su separación al formar los dibenzoatos correspondientes; sin embargo, por la poca cantidad de material que se obtuvo en este trabajo, ya no se realizó la separación de los dos epímeros mediante este proceso.

Con la finalidad de confirmar la estructura del 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) y su relación estructural con el 7-oxoclonasterol (LXXV), se trató una pequeña cantidad de la mezcla con cromoclorato de piridonio, para obtener el producto de oxidación, el cual fue idéntico al 7-oxoclonasterol (LXXV).

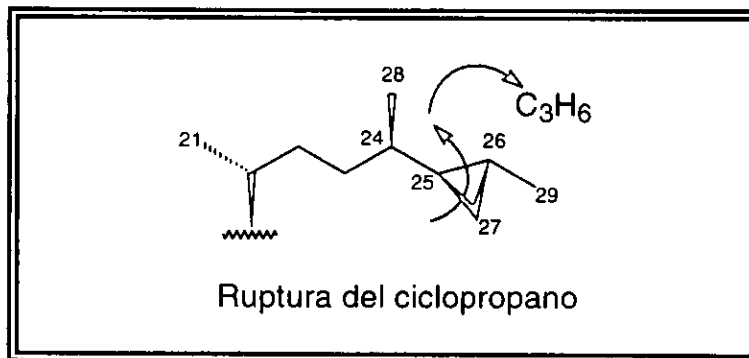
El tratamiento con Ac₂O y piridina proporcionó los diacetatos correspondientes (LXXIX y LXXXI) en cuyo espectro de RMN ¹H se observa el desplazamiento a campo más bajo de la señal asignada a los protones de los metinos base de los alcoholes secundarios (H₃ y H₇). La señal para H₃ se desplaza de 3.59 a 4.62 ppm mientras que la señal para H₇ (δ 3.88) se resolvió de tal manera que se observan dos señales, una en 5.05 ppm que debe corresponder a H_{7 α} en el diacetato del 7 β -hidroxicionasterol (LXXXI) y la otra en 4.97 ppm para el H_{7 β} en el diacetato del 7 α -hidroxicionasterol (LXXIX) que es el componente mayoritario (Das y Srinivas, 1992). Las señales para los metilos de los acetatos se observaron en 2.03 y 2.05 para el 7 α -hidroxicionasterol (LXXVIII) (Das y Srinivas, 1992 señalan para estos protones valores de 2.01 y 2.04 ppm) y en 2.04 y 2.05 ppm para el 7 β -hidroxicionasterol (LXXX). En este trabajo se presenta por primera vez los datos de RMN ¹H del acetato del 7 β -hidroxicionasterol (LXXXI) y se confirman los datos de Das y Srinivas (1992) para el 7 α -hidroxicionasterol (LXXVIII) y su acetato (LXXIX).

◦ PETROSTEROL (LXXIII).

De la fracción XsSEP-F de la esponja seca de la primera recolecta se aisló un sólido de pf. 115-117° y [α]_D -27.11 el cual fue identificado espectroscópicamente como petrosterol (LXXIII) (Registrados para el petrosterol: pf. 123-125° DNP, 1997 y [α]_D -33.4° Honda *et al.*, 1996). A diferencia del clonasterol (LXXI) y sus derivados oxidados, en el espectro de RMN ¹H se observan tres señales múltiples anchas aproximadamente en 0.08, 0.15 y 0.45 ppm, lo que indica la presencia de un ciclopropano en la molécula. Otra diferencia significativa con el clonasterol (LXXI) y sus derivados, estriba en la ausencia de la señal triple correspondiente al metilo del grupo etilo (-CH₂-H₃) en C₂₄, lo que hace suponer que este último debe estar involucrado de alguna manera en el ciclopropano; además, las señales para los tres metilos secundarios de la cadena lateral se observan como señales dobles en 0.889 (J = 7.0 Hz), 0.921 (J = 6.5 Hz) y 1.01 (J = 5.5 Hz) ppm. El resto de las señales es muy semejante a las del clonasterol (LXXI), por lo que se determinó que el núcleo esteroidal debe ser el mismo; es decir, se observó la presencia de las señales de los metilos terciarios C₁₈ y C₁₉ como señales simples agudas en 0.68 y 1.01 ppm respectivamente, así como la señal ancha en 3.52 ppm correspondiente al protón H₃ y la presencia del doble enlace 5,6 caracterizada por la señal múltiple en 5.4 ppm, debida al protón olefínico H₆.

El espectro de masas tanto por FAB⁺ como por IE muestran un ion molecular de m/z 412 el cual está de acuerdo para el petrosterol (LXXIII). El espectro de masas por IE concuerda con la presencia de una insaturación en la cadena lateral (CL) (presencia de un ciclopropano o doble enlace), ya que es característico que junto con la pérdida de ésta se pierdan 2H dando en este caso un pico de m/z 271 ([M-CL-2H]⁺, 65 %), además de que se observa el pico de m/z 370, que corresponde a la fisión de los enlaces 25-26 y 25-27 típico del ciclopropano, como se muestra en el siguiente

recuadro (Ravi *et al.*, 1978), así como picos relacionados con esta ruptura de m/z 355, 352 y 337 ($[370\text{-Me}]^+$, $[370\text{-H}_2\text{O}]^+$ y $[370\text{-Me-H}_2\text{O}]^+$).



El patrón de fragmentación del resto de la molécula concuerda con los datos referidos por Sica y Zollo (1978) para el petrosterol (LXXIII) aislado de la esponja marina *Petrosia ficiformis*.

Con el objeto de establecer la asignación completa de los desplazamientos químicos tanto de RMN ^1H como de RMN ^{13}C , se realizó una serie de experimentos que incluyen experimentos de doble resonancia ($^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$) unidimensionales (irradiaciones para establecer acoplamiento vicinales), así como experimentos de transferencia de polarización (DEPT o APT) para la determinación de la multiplicidad de las señales de ^{13}C por acoplamiento a un enlace; es decir, para establecer el grado de protonación de cada uno de los átomos de carbono en la molécula, o sea el número de metilos, metilenos metinos y carbonos totalmente sustituidos (CH_3 , CH_2 , CH y C) en la molécula. Se realizaron también experimentos bidimensionales de correlación homonuclear $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$ (COSY) y de correlación heteronuclear $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ a un enlace (HMQC) y a larga distancia (HMBC).

Los resultados de los experimentos realizados se resumen en la tabla 17; concuerdan y confirman la estructura para el petrosterol (XXIII) aislado. Son particularmente útiles los experimentos de doble resonancia $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$, que permitieron confirmar la posición relativa del ciclopropano y los metilos secundarios en la CL del petrosterol (XXIII), como se explica a continuación:

- a) La irradiación de la señal doble en 1.01 ppm, simplifica la señal en 0.45 ppm que pertenece a uno de los protones del anillo del ciclopropano, por lo tanto la señal irradiada (δ 1.01) debe de corresponder al metilo secundario sobre el anillo del ciclopropano (H_{29}) y la señal en 0.45 ppm al protón del metino 26 (H_{26}).
- b) La irradiación inversa, sobre la señal en 0.45 ppm (H_{26}), simplifica la señal en 1.01 ppm a una señal simple y afecta también la señal del metino en 0.13 ppm (H_{25}) y la señal del metileno en 0.08 y 0.15 ppm confirmando que el metino 26 soporta un grupo metilo (C_{29}) y que éste junto con C_{25} corresponden a metinos y C_{27} a un metileno del anillo del ciclopropano.

- c) La irradiación de la señal del metilo secundario en 0.889 ppm (H_{28}) afecta la señal múltiple en 0.60 ppm que debe pertenecer a H_{24} , ya que la irradiación inversa, además de simplificar la señal doble en 0.889 ppm, afecta la señal en 0.13 ppm (H_{25}) y la región de 1.24 a 1.32 ppm donde se encuentra H_{23} , lo anterior indica que C_{28} se encuentra como un metilo en C_{24} y confirma que C_{25} es un metino del ciclopropano.
- d) La irradiación de la señal del metilo en 0.921 ppm (H_{21}) afecta la región de 1.36 ppm, la irradiación inversa (sobre 1.36 ppm) simplifica la señal doble del metilo (0.921 ppm) a un singulete, confirmando la posición relativa de H_{20} con H_{21} .
- e) Las irradiaciones de los hidrógenos del metileno del ciclopropano (H_{27}) en 0.08 y 0.15 ppm, afectan las señales asignada a los metinos H_{25} y H_{26} .
- f) La irradiación del protón vinílico H_6 (δ 5.35) simplifica la señal en 1.97 y 1.48 ppm que deben pertenecer a los protones H_7 y además a la señal en 2.23 ppm asignada a H_4 axial, lo que confirma el acoplamiento a larga distancia con éste.
- g) Finalmente, la irradiación de H_3 (δ 3.52) simplifica ambas señales de H_4 y las señales de H_2 en 1.50 y 1.82 ppm.

El petrosterol (LXXI) fue aislado por primera vez de la esponja *Petrosia ficiformis* por Sica y Zollo (1978); sin embargo, la estructura inicialmente propuesta fue corregida por Mattia *et al.* (1978) con base en el análisis de difracción de rayos X del derivado *p*-bromobenzoato. Posteriormente este compuesto ha sido aislado de otras especies de esponjas, la mayoría relacionadas con el Género *Xestospongia* como los géneros *Petrosia* (*P. hebes*), *Haliclona* (*Haliclona* sp.) y *Cribrochalina* (*C. vasculum*) (Doss *et al.*, 1990 y Carballeira y Reyes, 1990) y ha sido sintetizado por Proudfoot y Djerassi (1984) y por Honda *et al.* (1996). Sin embargo, a pesar de haber sido aislado en varias ocasiones y de haber sido sintetizado, no existen datos espectroscópicos completos de RMN 1H ni RMN ^{13}C .

En lo que respecta a RMN 1H sólo existen datos de las señales más sobresalientes; además, algunos trabajos como los de Sica y Zollo (1978) y Carballeira y Reyes (1990) presentan errores y ambigüedades en la asignación de algunas de las señales, así como en los datos del acetato correspondiente (LXXIV) (Proudfoot y Djerassi, 1984).

En este trabajo se lleva a cabo por primera vez la asignación completa de los desplazamientos químicos tanto de RMN 1H como ^{13}C para el petrosterol (LXXIII); en la tabla 17, es evidente que el núcleo esteroidal es el mismo entre el cionasterol (LXXI) (Tablas 15 y 16) y el petrosterol (LXXIII); y que las diferencias se dan en la CL, más notoriamente, a partir de los carbonos C_{23} a C_{29} debido a la presencia del ciclopropano.

La acetilación del petrosterol (LXXIII) proporcionó el acetato correspondiente (LXXIV), que mostró pf. 109-110° y $[\alpha]_D -40.38^\circ$ (reportados: pf. 112-114° y $[\alpha]_D -41.5^\circ$ Sica y Zollo, 1978). Sin embargo, al llevar a cabo el análisis por CG/EM resultó, como en los casos anteriores, una mezcla donde el componente mayoritario fue petrosterol (77.80 %), seguido de otros esteroides en cantidades minoritarias como brassicasterol y/o crinosterol (2.98 %), dihidrobrassicasterol y/o campesterol (2.64 %), colesterol (2.19 %) y desmosterol (1.06 %) (Tabla 13). En este estudio también se encontraron

compuestos generados por la descomposición térmica del dihidrobrassicasterol y/o campesterol y poriferasterol y/o estigmasterol (Tabla 13).

Este es el primer registro del petrosterol en el género *Xestospongia*; sin embargo, no debe de extrañarse este hecho, ya que los Géneros *Petrosia* y *Calix* que pertenecen también al Orden Petrosida (establecido por Bergquist, 1980) se caracterizan por contener compuestos con ciclopropanos o ciclopropenos en la cadena lateral como compuestos mayoritarios, lo que apoya el establecimiento de este orden de manera quimiotaxomómica como lo establecieron Fromont *et al.* (1994):

- *Petrosia ficiformis* posee petrosterol en un 60 %.
- *Petrosia hebes* posee petrosterol y hebesteroles en un 50.6 %.
- *Calix nicaensis* posee calysterol en un 52 %.

Estos mismos autores consideran como una excepción a esta regla a varios géneros, incluyendo al Género *Xestospongia*; sin embargo en 1994 y 1996 se encontraron los compuestos llamados aragusteroles A-D obtenidos de *Xestospongia* sp. que se caracterizan por poseer un ciclopropano en la cadena lateral (compuestos 194-197, Anexo A y B) (Shimura *et al.*, 1994; Iguchi *et al.*, 1994 y Kobayashi *et al.*, 1996) y con este trabajo se hace un enriquecimiento en lo que se refiere a este punto.

Llama la atención el hecho de que este compuesto no se encontró en el material de la segunda recolecta, aunque se recolectó en el mismo sitio y en fechas similares; tampoco se encontró algún compuesto derivado que diera evidencia de que haya estado presente y que se hubiera modificado durante el proceso de extracción y/o purificación. Okano *et al.* (1982) y Fromont *et al.* (1994) han encontrado que existen cambios tanto en el contenido esteroide como de sus porcentajes en las mezclas de un individuo a otro de la misma especie a lo largo del año. Sin embargo, afirmar ésta punto requiere de mayor investigación a un nivel más detallado y no de forma general, como se hizo en este estudio, ya que todo el material recolectado se reunió sin hacer excepción de la forma, tamaño y lugar de recolecta (dentro o fuera de la laguna arrecifal) por lo que es totalmente un evento azaroso que el material que se obtuvo de la esponja seca y molida de la primera recolecta sea única y exclusivamente un individuo; por lo que dicha observación queda abierta a discusión.

◦ 7-OXOPETROSTEROL (LXXVII).

El 7-oxopetrosterol (LXXVII) se aisló de la fracción XsSEP-F1b como un sólido de pf. 116-117° y $[\alpha]_D -77.56^\circ$.

Como en el caso del 7-oxoclonasterol (LXXV), el 7-oxopetrosterol (LXXVII) se caracteriza por una mancha de color amarillo en CCF al ser revelado con una solución ácida de sulfato cérico. Esta característica permitió que este compuesto fuera detectado rápidamente en las diferentes fracciones analizadas.

El espectro de RMN ^1H a 200 MHz muestra similitud con el petrosterol (LXXIII) en lo que se refiere a las señales que corresponden al ciclopropano de la CL; sin embargo, como en el caso del 7-oxoclonasterol (LXXV), la señal aguda

correspondiente a los protones del grupo metilo angular sobre C₁₀ (H₁₉) se encuentra desplazado a campo más bajo comparado con el petrosterol (LXXIII) (de 1.01 ppm a 1.20 ppm). Si se comparan los datos del 7-oxoclonasterol (LXXV) con el 7-oxopetrosterol (LXXVII) se observa que los desplazamientos químicos son muy similares en lo que se refiere al núcleo esteroidal; sin embargo en los correspondientes a la CL existen diferencias en especial de los protones de los carbonos del C₂₂ al C₂₉; lo que confirma que el núcleo esteroidal es el mismo y que, la CL es igual a la del petrosterol (LXXIII).

El espectro de masas por IE concuerda con lo anterior; ya que en el se observa un ion molecular M⁺ de m/z 426 que corresponde a una fórmula molecular de C₂₉H₄₆O₂, de acuerdo con el 7-oxopetrosterol (LXXVII); el patrón de fragmentación es muy similar al del petrosterol; muestra la presencia de un pico a m/z 285 que corresponde a la pérdida de la CL-2H y sugiere la presencia de un ciclopropano en la cadena lateral (ya antes discutido) y los picos de m/z 384, 369 y 351 en donde el primero corresponde a la ruptura del ciclopropano entre los carbonos C₂₆-C₂₅ y C₂₇-C₂₅ y los últimos dos se relacionan con esta ruptura ([384-Me]⁺ y [384-Me-H₂O]⁺); además de los picos de m/z 205, 192, 187, 174 y 161 (Das y Srinivas, 1992).

Los diversos estudios espectrocópicos por RMN permitieron asignar todos los desplazamientos químicos tanto de ¹H como de ¹³C de este nuevo compuesto como se muestra en las tablas 18 y 19. Los experimentos de doble resonancia, como en el caso del petrosterol (LXXIII) fueron especialmente útiles en la determinación de la posición relativa de los metilos secundarios en la cadena lateral, como se explica a continuación:

- a) La irradiación de la señal doble en 1.01 ppm (H₂₉) simplifica la señal en 0.45 ppm (H₂₆).
- b) La irradiación inversa (H₂₆, δ 0.45), convierte la señal doble en 1.01 ppm a una señal simple y afecta las señales en 0.13, 0.08 y 0.15 ppm correspondientes al anillo del ciclopropano.
- c) Las irradiaciones en 1.36 (H₂₀) y 0.60 ppm (H₂₄), simplifican las señales dobles en 0.93(H₂₁) y 0.89 ppm (H₂₈) a señales simples.
- d) Las irradiaciones sobre H₃ (3.68 ppm), modifican las señales de los protones H₄ y H₂.
- e) La irradiación sobre H₆ (5.69 ppm), simplifica la señal de H₄ en 2.40 ppm comprobando la existencia del acoplamiento a larga distancia de H₆ con H₄ axial.

◦ 7α y 7β-HIDROXIPETROSTEROL (LXXXII y LXXII).

La mezcla del 7α- y 7β-hidroxiesteroles (LXXXII y LXXXIII) se aisló como un sólido de pf. 122-124° y [α]_D -7.54°.

La comparación de los datos de RMN ¹H y RMN ¹³C indican que la cadena lateral debe ser la misma con la del petrosterol (LXXII) ya que se observan señales muy semejantes para un ciclopropano en la cadena lateral en la misma posición que éste; en cambio, las señales correspondientes al núcleo esteroidal son muy

semejantes a las descritas para el 7 α - y 7 β -hidroxi-clionasterol (LXXVIII y LXXX); es decir, a campo bajo se observa la señal típica que corresponde al protón H₃ y otra señal en 3.86 ppm que debe corresponder al protón H₇.

La diferencia principal entre estos dos compuestos radica en el desplazamiento químico de H₆, en donde para el 7 α -hidroxipetrosterol (LXXXII) se localiza a campo más bajo (5.61 ppm) como una señal doble de dobles ($J = 5.5$ y 2.0 Hz), en tanto que para su epímero 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXIII), se encuentra a campo más alto (5.29 ppm), como una señal triple ($J = 2$ Hz) concordando con los desplazamientos del mismo H₆ de los otros 7 α - y 7 β -hidroxiesteros.

En cuanto al análisis de ¹³C, al comparar esta mezcla con los datos del petrosterol (LXXXIII), nuevamente encontramos que los carbonos de la CL no sufren cambios significativos; sin embargo, en el núcleo esteroidal sí los hay especialmente en el C₇ y carbonos vecinos a éste; es decir, los carbonos C₅, C₆, C₇ y C₈ se encuentran a campo más bajo, en tanto que el C₉ se encuentra a campo más alto en el 7 α - y 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII), encontrándose la mayor diferencia en el C₇ en donde de 31.92 ppm en el petrosterol (LXXXIII) se desplaza a 65.36 (7 α -hidroxipetrosterol) ó 73.37 ppm (7 β -hidroxipetrosterol). Como en el caso de la mezcla del 7 α - y 7 β -hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX), también en esta mezcla se observan señales duplicadas con desplazamientos muy similares o iguales, para la mayoría de los carbonos.

Las principales diferencias entre estos dos epímeros radica en el carbono C₇ y los carbonos vecinos a éste, ya que los carbonos C₆, C₇, C₈ y C₉ se encuentran a campo más alto en el 7 α -hidroxipetrosterol (LXXXII) en tanto que el carbono C₅ se encuentra a campo más bajo. Nuevamente la máxima diferencia se observa en el carbono C₇ (Tablas 20 y 21).

El EM-IE está de acuerdo con la estructura; presentó un ion molecular de m/z 428 que concuerda una fórmula molecular C₂₉H₄₈O₂ que fue confirmada por EM en su modalidad FAB⁺ de alta resolución; la presencia del ciclopropano en la CL queda establecido por el pico de m/z 287 [M-CL-2H]⁺ que es característico, como ya se mencionó, de estos compuestos. También está presente el pico correspondiente a la ruptura del ciclopropano (m/z 386), así como los picos relacionados a esta ruptura (m/z 371 y 353). Además, los picos de m/z 175, 161, 135, 109, 107, 95, 81, 69, 55 y 43 que corresponden al núcleo esteroidal y que son típicos de los 7 α - y 7 β -hidroxiesteros; (son las señales más sobresalientes del 7 α - y 7 β -hidroxiclionasterol, LXXVIII y LXXX).

Una observación es la proporción de los componentes de la mezcla en la cual el 7 α -hidroxipetrosterol (LXXXII) es mayor que el epímero β (LXXXIII); así tenemos que en la fracción XsSEP-FKc, la proporción 7 α y 7 β -hidroxipetrosterol fue 1:1; en las fracciones XsSEP-MAC y XsSEP-NAD de 1.5:1 y en la fracción XsSACoEt-FAD de 2:1.

El origen de estos compuestos oxigenados en la posición siete se puede atribuir en parte como en los casos discutidos anteriormente a un proceso de oxidación durante el proceso de extracción, purificación y almacenamiento de las muestras.

Es importante señalar que estos dos compuestos el 7 α - y 7 β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII), así como el 7-oxopetrosterol (LXXVII) se describen por primera vez para el Género *Xestospongia* y para el Phylum Porifera; de hecho, también dentro de la química orgánica, confirmándose una vez más que las esponjas son una fuente de nuevos y poco comunes esteroides como ya diversos autores lo han mencionado, en especial Faulkner (1984, 1986, 1987, 1988, 1990, 1991, 1992, 1993, 1994, 1995, 1996 y 1997) en sus diversos compendios de trabajos químicos en organismos marinos.

ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS.

Con la finalidad de obtener de forma paralela resultados comparativos por CG/EM de las diferentes muestras estudiadas, éstas fueron enviadas al Lab. de Química orgánica, UADY (ver método, pág. 46).

El espectrómetro de este laboratorio trabaja con un software diferente al del IQ, por lo que el primero no proporciona datos de los porcentajes de cada uno de los componentes de las diferentes mezclas, sino que especifica el porcentaje de confianza con el cual el instrumento detecta un compuesto al ser comparado con una base de datos. De este modo, aunque el contenido de la muestra, es decir su análisis cualitativo es el mismo, el cuantitativo puede no ser comparable.

Una observación que debe hacerse notar es que en el instrumento de la UADY no se produjeron compuestos por descomposición química, lo que refleja que este tipo de compuestos no se encuentran en las mezclas, sino que se forman cuando el compuesto, principalmente el mayoritario, probablemente aumenta su temperatura al recorrer la columna cromatográfica.

De este modo, se puede decir que los datos sí fueron comparables y permitieron entonces reafirmar que la elucidación fue correcta.

Otro hecho que es importante resaltar es que las muestras acetiladas muestran un mayor detalle o se resuelven de manera más satisfactoria que aquellas no acetiladas; este hecho se pudo observar en este espectrómetro ya que se analizaron ambos tipos de esteroides, lo cual no se realizó con el espectrómetro del IQ. Nuevamente, los epímeros no se pueden distinguir en esta clase de estudios, ya que en un inicio se esperaba obtener TR diferentes para el clionasterol (LXXI) y β -sitosterol (LXIX), los cuales como ya se explicó, fueron los mismos.

VALORACIÓN BIOLÓGICA (ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA)

El hecho de que todas las pruebas hallan resultado negativas para los diferentes extractos y/o fracciones utilizadas para este fin, no quiere decir que no existan compuestos en éstas que posean alguna actividad microbiológica.

Dos fenómenos son de interés, uno y el más común es el proceso de sinergismo, es decir, siempre que un compuesto se encuentra en una mezcla su poder de actividad se reduce o es inferior por la presencia de otros compuestos antagonistas, lo que repercute en muchos casos que la mezcla total no presente actividad (Vanden y Vlietink, 1991). La segunda, es el hecho de que los compuestos con actividad se encuentren en porciones tan pequeñas (minoritarias) que su efecto no sea observable (Vanden y Vlietink, 1991).

Green *et al.* (1985), ya habían registrado resultados similares al utilizar el sobrenadante del extracto metanólico de la esponja *X. suntriangularis*, que dio un resultado negativo en contra de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *S. dysenteriae*. En este trabajo se confirma esta observación de manera más amplia.

El hecho de que la mayoría de compuestos aislados e identificados se encontraron en cantidades menores a las requeridas para este tipo de estudio, conllevó a que no se realizara este tipo de valoración biológica sobre éstas. Por esta razón se realizó una revisión en la literatura para tener una mejor conceptualización de la posible actividad biológica de estos compuestos, ya sea antimicrobiana o de otra naturaleza.

◦ CLIONASTEROL (LXXI).

La actividad biológica de este compuesto en este trabajo se dirigió a un estudio sobre actividad antimicrobiana, la cual resultó ser negativa para todos los microorganismos de prueba como se puede observar en la tabla 22.

Haciendo una revisión bibliográfica, el único registro que se encontró se refiere al acetato de clionasterol (LXXII), el cual presenta actividad sobre las larvas de *Dermestes maculatus*, 20 larvas de esta especie al ser expuestas al compuesto murieron y en 25 días ninguna llegó al estado de pupa (Ikan *et al.*, 1971).

Sin embargo, nuevos estudios del epímero C₂₄, β-sitosterol, abren una puerta para el uso de este tipo de compuestos en diferentes campos: en el incremento en la actividad fibrinolítica (anticoagulante) en la sangre y tejido de pulmón y riñón en conejo (Hoffmann y Klocking, 1988); sobre actividad anti-incrustante (antifouling) contra cianofitas, crisofitas y clorofitas (Aliotta *et al.*, 1990); sobre la permeabilidad de membrana (Marsan *et al.*, 1996) y sobre el enriquecimiento en la proliferación *in vitro* de la respuesta de las células T y NK (Bovic *et al.* 1996).

◦ 7-OXOCLIONASTEROL (LXXV).

Debido a la poca cantidad que se aisló de este compuesto no pudieron realizarse las pruebas de actividad antimicrobiana. Haciendo una revisión en la literatura con respecto a este punto se encontró que este compuesto sólo ha sido aislado de fuentes marinas:

- a) De *Gracilaria edulis* (alga roja) como 3 β -hidroxiporiferasta-5-en-7-ona (Das y Srinivas, 1992).
- b) De *Cliona copiosa* (esponja marina) como 24S-3 β -hidroxi-24-etil-coles-5-en-7-ona en mezcla con su C₂₄ epímero (Notaro *et al.*, 1992).
- c) De *Corallistes undulatus* (esponja marina) como 7-oxositosterol (Guerriero *et al.*, 1993).

En este último trabajo se encontró una referencia sobre la actividad biológica: el extracto de DCM (de donde se aisló al 7-oxoclonasterol, LXXV), inhibió el crecimiento de células KB y P₃₈₈ en un 100 y 34 % respectivamente a concentración 10 μ g/ml; éste mismo extracto no presentó actividad antimicrobiana, antifúngica ni herbicida; pero, no se realizaron pruebas con los compuestos puros.

De estos compuesto no se encontró mayor información; sin embargo, otros estudios realizados sobre el epímero C₂₄ correspondiente, 7-oxositosterol y de otros 7-oxoesteroles dejan abierta la posibilidad de potencialidad de este tipo de compuesto:

a) El extracto de EP y éter de la planta terrestre *Euphorbia fischeriana* presentó actividad antitumoral contra células del hígado HTC, en donde se aislaron diversos 7-oxoesteroles en los que se incluyen el 7-oxositosterol, pero nuevamente, no se realizaron las pruebas sobre los compuestos aislados (Schroeder *et al.*, 1980).

b) El 7-oxositosterol junto con el 7-hidroxisitosterol son potencialmente activos contra algas (anti-incrustante o antifouling) (Greca *et al.*, 1990).

c) El 7-oxositosterol mostró valores significativos contra la actividad de los hongos patógenos *Puccinia striiformis* y *P. hordei* en hojas de trigo y cebada; sin embargo, los autores no dan datos precisos de su actividad (Schabdach *et al.*, 1995).

d) El 7-oxositosterol estimula la germinación y el crecimiento del tallo de la planta *Lactuca sativa* en un 4 y 22 % a concentraciones de 10⁻⁵ M y 10⁻⁹ M; así como la germinación y el crecimiento de la raíz de las plantas *Hordeum vulgare* y *Allium cepa* en un 52 y 8 % para la primera y un 4 y 8 % para la segunda a 10⁻⁹ M y 10⁻⁷ M y a 10⁻⁵ M y 10⁻⁸ respectivamente. Sin embargo, a concentraciones mayores de lo mencionado, este compuesto se comporta como agente alelopático sobre las tres plantas. Este 7-oxositosterol fue aislado de la planta *Melilotus messarensis* (Macías *et al.*, 1997).

Es así que pueden justificarse nuevos estudios y evaluaciones hacia estos campos de la investigación.

◦ 7 α - y 7 β -HIDROXICLIONASTEROL (LXXVIII Y LXXX).

En lo que respecta a la actividad biológica de la mezcla del 7 α - y 7 β -hidroxiclionasterol (LXXVIII y LXXX), en este trabajo no se pudieron realizar las pruebas de actividad antimicrobiana correspondientes, debido principalmente a que se obtuvo una pequeña cantidad de mezcla.

Sin embargo, haciendo una revisión bibliográfica se encontró que estos dos compuestos sí poseen alguna actividad biológica, éstos han sido aislados únicamente de fuentes marinas tanto como compuestos puros, así como en mezcla:

- a) De *Gracilaria edulis* (alga roja) se aisló 7 α -hidroxicionasterol (LXXVIII) (Das y Srinivas, 1992).
- b) De *Cliona copiosa* (esponja marina) se aisló 7 β -hidroxicionasterol (LXXX) (Notaro *et al.*, 1992).
- c) De *Corallistes undulatus* (esponja marina) se aisló 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) (Guerriero *et al.*, 1993).

Esta última cita es el único trabajo en donde se encontró una referencia sobre la actividad biológica: el extracto de DCM (en donde se aisló al 7 α - y 7 β -hidroxicionasterol, LXXVIII y LXXX), inhibió el crecimiento de células KB y P₃₈₈ en un 100 y 34 % respectivamente a concentración 10 μ g/ml; este mismo extracto no presentó actividad antimicrobiana, antifúngica ni herbicida; pero, no se hicieron pruebas con los compuestos puros.

Sin embargo, en cuanto a los C₂₄-etil epímeros, 7 α - y 7 β -hidroxisitosterol, existen más estudios, tales como:

a) El extracto de EP y éter de la planta terrestre *Euphorbia fischeriana* presentó actividad antitumoral contra células del hígado HTC, en donde se aislaron diversos 7 α - y 7 β -hidroxiesteroles en los que se incluyen el 7 α - y 7 β -hidroxisitosterol, pero nuevamente, no se realizaron las pruebas con los compuestos aislados (Schroeder *et al.*, 1980).

b) El 7 α -hidroxisitosterol presentó actividad fibrinolítica (inhibe la coagulación de la sangre) a concentraciones mayores de 0.1 mg/ml. Este fue extraído de la planta terrestre *Spatholobus suberetus* (Fukuyama *et al.*, 1988).

c) El 7 α - y 7 β -hidroxisitosterol junto con el 7-oxositosterol son potencialmente activos como anti-incrustante o antifouling (especialmente, contra algas) (Greca *et al.*, 1990).

d) El 7 α -hidroxisitosterol presentó actividad inductora sobre las células de leucemia humana HL-60 reduciendo en un 75 % el NBT a una concentración de 5 μ g/ml. El 7 β -hidroxisitosterol no presentó esta actividad (Rui y Lianniang, 1993).

e) El 7 α - y 7 β -hidroxisitosterol mostraron valores significativos contra la actividad de los hongos patógenos *Puccinia striiformis* y *P. hordei* en hojas de trigo y cebada con un porcentaje de resistencia de 39 a 49 % (Schabdach *et al.*, 1995).

f) El 7 α -hidroxisitosterol estimula la germinación en un 2, 44 y 10 % sobre las plantas *Lactuca sativa*, *Hordeum vulgare* y *Allium cepa* a concentraciones de 10⁻⁵ M, 10⁻⁵ M y 10⁻⁷ M y 10⁻⁷ M respectivamente. También estimula el crecimiento del tallo de la primera y tercera planta en un 13 y 5 % a 10⁻⁵ M y 10⁻⁸ M respectivamente y el crecimiento de raíz en la segunda y en la tercera planta en un 9 y 11 % a 10⁻⁵ M y 10⁻⁹ M, respectivamente. El 7 β -hidroxisitosterol estimula la germinación en las tres en un 4, 72 y 10 % a 10⁻⁸ M, 10⁻⁹ M y 10⁻⁸ M respectivamente; también estimula el crecimiento del tallo de la primera y segunda planta en un 19 y 14 % ambas a una concentración de 10⁻⁵ y el crecimiento de raíz en la segunda y en la tercera planta en un 4 y 14 % a 10⁻⁵ M y 10⁻⁹ M, respectivamente. Pero ambos compuestos a concentraciones mayores de lo mencionado, se comportan como agentes alelopáticos sobre las tres plantas. El 7 α - y 7 β -hidroxisitosterol fueron aislados de la planta *Melilotus messarensis* (Macías *et al.*, 1997).

Es así que se puede considerar al 7α - y 7β -hidroxicionasterol (LXXVIII y LXXX) como compuestos de interés potencial en estos campos de la investigación.

◦ PETROSTEROL (LXXIII).

Debido a la poca cantidad de material obtenido no se pudieron realizar las pruebas correspondientes para conocer si este compuesto presenta algún efecto antimicrobiano. Una observación que llama la atención es que existen otros compuestos con presencia de ciclopropano en la cadena lateral en 26-27 y con la misma estereoquímica, que el petrosterol (LXXIII) como es el caso de los aragusteroles A-D y de los aragusterocetales A y C también aislados del Género *Xestospongia* (compuestos 194-199, Anexo A y B); por lo que tal vez el petrosterol pueda tener una actividad similar (actividad cancerígena, antitumoral y citotóxica sobre células KB y L₁₂₁₀) (Anexo C); sin embargo, para afirmar esto se requieren de mayores estudios sobre este campo.

◦ 7-OXOPETROSTEROL (LXXVII).

Debido nuevamente a la poca cantidad que se obtuvo de este compuesto, tampoco se pudieron realizar las pruebas correspondientes a la actividad antimicrobiana. Y debido al hecho de que es el primer registro de este compuesto en la química orgánica no existe ningún antecedente de su actividad biológica como en los otros casos; sin embargo, su potencialidad queda para ser analizada ya que en su molécula conjuga dos características de interés: un grupo cetónico en el núcleo esteroidal y un ciclo propano en la CL; siendo entonces un compuesto atractivo para diferentes pruebas biológicas. De ahí se desprende el interés de conseguir más de este tipo de compuesto de una fuente natural, aunque no queda descartada la posibilidad de sintetizarlo.

◦ 7α - y 7β -HIDROXIPETROSTEROL (LXXXII Y LXXXIII).

Nuevamente, debido a la poca cantidad de material obtenido de esta mezcla del 7α - y 7β -hidroxipetrosterol (LXXXII y LXXXIII), no se pudieron realizar las pruebas de actividad microbiológica correspondientes; sin embargo, al igual que en el 7-oxopetrosterol (LXXVII), la potencialidad de estos compuestos puede ser muy interesante al observar la actividad de otros 7α - y 7β -hidroxiesterosteroles (ya mencionados anteriormente) y más aún por el hecho de que en sus moléculas se conjugan dos características de importancia, la primera la presencia del grupo -OH en C₇ y la segunda, la presencia de un ciclopropano en la cadena lateral.

CONCLUSIONES

Del presente trabajo se concluye:

- ◊ La redescrición de la esponja *Xestospongia subtriangularis* ratificó la correspondiente de Green *et al.* (1986); sin embargo, aportó nueva información en lo que se refiere a su forma, tamaño, color, características del esqueleto ectosomal y endosomal, así como de su distribución y abundancia.
- ◊ Las características morfológicas y morfométricas tanto de la parte externa de la esponja como de su esqueleto hacen a *Xestospongia subtriangularis* categóricamente inconfundible de otros miembros de la Familia Petrosiidae y por tanto, da mayor validez al estudio químico de sus componentes.
- ◊ Este es el primer registro de la especie en el arrecife Isla Verde, Veracruz, México; aunque ya había sido registrada en otros arrecifes del Sistema Arrecifal Veracruzano (SAV).
- ◊ Existen diferencias en la composición química entre el material de la primera y segunda recolecta (Junio, 1995 y Junio, 1996 respectivamente), esto dado principalmente en una mayor diversidad de compuestos dentro de un mismo grupo químico: Hidrocarburos, ésteres metílicos de ácidos grasos y ácidos grasos.
- ◊ En las mezclas de esteroides se observaron cambios en la composición tanto cualitativamente como cuantitativamente.
- ◊ Existen también diferencias en la composición química de cada una de las recolectas dependiendo del método de extracción y de la eficiencia del mismo (esponja húmeda y seca).
- ◊ De la esponja procesada húmeda (extracción con MeOH), se aislaron hidrocarburos, ésteres metílicos de ácidos grasos, ácidos grasos y esteroides (clionasterol, 7-oxoclonasterol, 7 α - y 7 β -hidroxiclonasterol, tanto de la primera como de la segunda recolecta).
- ◊ De la esponja procesada seca, se aislaron hidrocarburos, ésteres de esteroides con ácidos grasos, ácidos grasos y esteroides (1a. Recolecta: petrosterol, 7-oxopetrosterol, 7 α - y 7 β -hidroxipetrosterol; 2a. Recolecta: clionasterol y 7-oxoclonasterol).
- ◊ Se elucidaron un total de 83 estructuras en las que se incluyen algunos derivados: 25 hidrocarburos, 33 ácidos y 25 esteroides.
- ◊ Las estructuras que presentaron mayor dificultad para ser elucidadas, fueron las del clionasterol (y su diferencia con el β -sitosterol) y la del petrosterol (posición del ciclopropano en la cadena lateral).

BIBLIOGRAFIA

- AIZAWA, K.; Yoshida S. y N. Takahashi. 1974. The applicability of the defocusing technique in organic mass spectrometry. *Org. Mass Spectrom.* 9: 470-479.
- AKNIN, M.; Moeller-Nzaou R.; Kornprobst J.M.; Gaydou E.M.; Samb A. y J. Mirelles. 1992. Sterol composition of twelve Chlorophyceae from the Senegalese Coast and there chemotaxonomic significance. *Phytochemistry* 31(12):4167-4169.
- ALCOLADO, P. 1976. Lista de nuevos registros de poriferos para Cuba. *Serie Oceanológica* 36:1-11.
- ALCOLADO, P. 1981. "Guía para la identificación de algunos poriferos cubanos (Clase Demospongiae)". Informa Científico-Técnico No. 184. Academia de Ciencias de Cuba. 42pp.
- ALIOTTA, G.; Della Greca M.; Monaco P.; Pinto G.; Polio A. y L. Previtera. 1990. In vitro algal growth inhibition by phytotoxins of *Typha latifolia*. *Journal of Chemical Ecology* 16(9): 2637-2646.
- ALVI, K.A.; Rodríguez J.; Díaz M.C.; Moretti R.; Wilhelm R.S.; Lee R.H.; Slate D.L. y P. Crews. 1993. Protein-tyrosine kinase inhibitory properties of planar polycyclics obtained from marine sponge *Xestospongia* cf. *carbonaria* and from total synthesis. *Journal of Organic Chemistry* 58(18): 4871-4880.
- AMIR, Y. 1991. Sponge fauna from Genteng Besar Coral Reef, Seribu Islands. *Oceanol. Indones.* (24): 41-54.
- ARNDT, 1927. En SOEST, R.W.M. van. 1980. Marine sponges from Curacao West-Indies and other Caribbean localities. Part.2 Haplosclerida. *Uitgaven Natuurwetenschappelijke Studiering voor Suriname en de Nederlandse Antillen* (104): 1-173.
- ARREGUÍN, R.; Soriano-García M.; Hernández-Santoyo A y A. Rodríguez-Romero. 1993. Isolation and characterization of a protease from the marine sponge *Sphaciospongia vesparia*. *FEBS Letters* 320(3): 235-238.
- ARREGUÍN, R.; Arreguín B.; Hernández-Santoyo A y A. Rodríguez-Romero. 1995. Metal content and conformation of the Metalloprotease from the marine sponge *Sphaciospongia vesparia*. *Biochemistry and Molecular Biology International* 36(4): 827-833.
- ARREGUÍN-Espinosa, R.; Arreguín B.; Hernández-Santoyo A y A. Rodríguez-Romero. 1998. Sterol composition and biosynthesis in the sponge *Sphaciospongia vesparia*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 72 (En prensa).
- AYANOGLU, F.; Walkup R.D.; Sica D. y C. Djerassi. 1982. *Lipids* 17: 617. En GULAVITA, N.K. y P.J. Scheuer. 1989. Two epimeric aliphatic amino alcohols from a sponge, *Xestospongia* sp. *Journal of Organic Chemistry* 54(2): 366-369.
- BAKUS, G.; Targett N.M. y B. Schulte. 1986. Chemical ecology of marine organisms; an overview. *Journal of Chemical Ecology* 12(5): 951-987.
- BARNES, D.R. 1987. "Invertebrate zoology". Saunders College Publishing. U.S.A. 893pp.
- BAYER, F.M. y H.B. Owre. 1968. "The free-living lower invertebrates". McMillan N.Y., U.S.A. 229pp.
- BERGMANN, W. y R.J. Feeney. 1949. Contributions to the study of marine products XXIII. Sterols from sponges of the Family Halicionidae. *Journal of Organic Chemistry* (14): 1078-1084.

- BERGMANN, W.; Lyon A.M. y M.J. McLean. 1944. Contributions to the study of marine products. XVI: 7-dehydroclionasterol. *Journal of Organic Chemistry* 9: 290-292.
- BERGQUIST, P.R. 1978. "Sponges". University of California Press. U.S.A. 268pp.
- BERGQUIST, P.R. 1985. Porifera relationships. *En Morris, S.C. et.al.* "The origin an relationships of lower invertebrates". *Sysyt. Assoc. Spec. No.28* Pág. 14-27.
- BERGQUIST, P.R. Y J.J. Hogg. 1969. Free amino acid patterns in Demospongia; a biochemical approach to sponge classification. *Cahiers de Biologie Marine* 10: 205-220.
- BERGQUIST, P.R. y Warne. 1980. "The marine fauna of New Zealand: Porifera, Demospongiae, Part.3 (Haplosclerida and Nepheliospongida)". *New Zealand Oceanographic Institute Memoir* 87: 1-79.
- BERGQUIST, P.R.; Lawson M.P.; Lavis A. y R.C. Cambie. 1984. Fatty acid composition and the classification of the Porifera. *Biochemical Systematics and Ecology* 12(1): 63-84.
- BETANCOURT, L.M. 1992. Variación de la actividad antimicrobiana de la esponja *Aplysina fistularis* (Porifera: Aplysinidae) y su relación con la fauna asociada. Tesis de Mestría. CICIMAR, IPN. La Paz, BCS, México. 88 pp.
- BOHLIN, L.; Kokke W.C.M.C.; Fenical W. y C. Djerassi. 1981. 4 α -methyl-24S-methyl-5 α -cholestan-3 β -ol and 4 α -methyl-24S-ethyl-5 α -cholest-8(14)en-3 β -ol, two new sterols from a cultured marine Dinoflagellate. *Phytochemistry* 20(10): 2397-2401.
- BOURGUET-KONDRACKI, M.L.; Rakotoarisoa M.T.; Martin M.T. y M. Guyot. 1992. Bioactive bromopolyacetylenes from the marine sponge *Xestospongia testudinaria*. *Tetrahedron Letters* 33(2): 225-226.
- BOUIC, P.J.D.; Etsebeth S.; Liebenberg R.W.; Albrecht C.F.; Pegel K. y P.P. van Jaarsveld. 1996. Beta sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *Int. J. Immunopharmacol* 18(12): 693-700.
- BRAEKMAN, J.C.; Daloze D.; Macedo de Abreu P.; Piccinni-Leopardi C.; Germain G. y M. van Meerssche. 1982. A novel type of bis-quinolizidine alkaloid from the sponge *Petrosia seriata*. *Tetrahedron Letters* 23(41): 4277-4280.
- BRANTLEY, S.E.; Molinski T.F.; Preston C.M. y E.F. DeLong. 1995. Brominated acetylenic fatty acids from *Xestospongia* sp., a marine sponge-bacteria association. *Tetrahedron* 51(28): 7667-7672.
- BRUSCA, R.C. y G. Brusca. 1990. "Invertebrates". Sinauer Assoc. Inc. Publ. U.S.A. 922pp.
- BUDZIKIEWICZ, H.; Djerassi c. y D.H. Williams. 1964. "Structure alucidation of natural products by mass spectrometry. Vol. III Steroids, terpenoids, sugar and micellaneous classes". Holden-Day, Inc. San Francisco, U.S.A. Pág. 79-101.
- CALDERON, J. y M. Stud. "Espectrometría de masas Sec. 1 Química". Alhambra. México. 228pp.
- CARBALLEIRA, N.M. y L. Maldonado. 1988. The phospolipid fatty acids of the marine sponge *Xestospongia muta*. *Lipids* 23(7): 682-684.

- CARBALLEIRA, N.M. y E.D. Reyes. 1990. Identification of the new 23-methyl-5,9-pentacosadienoic acid in the sponge *Cribrochalina vasculum*. *Lipids* 25(1): 69-71.
- CARBALLEIRA, N.M.; Negrón V.; Porras B. y B.A. Díaz. 1988. On the hydrocarbon composition of caribbean sponges. A preliminary study. *Marine Chemistry* 24(2): 193-198.
- CARBALLEIRA, N.M.; Maldonado M.E.; Rivera E. y B. Porras. 1989. The fatty acid 4,8,12-trimethyltridecanoico as a comun constituyen of the phospholipids of the sponge Families Spirastrellidae and Clionidae. *Biochemistry, Systematic and Ecology* 17(4): 311-314.
- CARRICART-Gavinet, J.P. y G. Horta-Puga. 1993. Arrecifes de coral en México. En Salazar-Vallejo S.I. y N.E. González. "Biodiversidad marina y costera de México". Com. Nat. Biodiversidad y CIQRO, México. 865pp.
- CARTER, H.J. 1882. Some sponges from the West Indies and Acapulco in the Liverpool Free Museum by Capt. W.H. Cawne-Warnen. *Ann. Mag. Nat. Hist. (Ser.5)* 30:30-156.
- CHAURASIA, N. y M. Wichtl. 1987. Sterols and steryl glycosides from *Urtica dioica*. *Journal Natural Products* 50(5): 881-885.
- CHÁVEZ, E.A.; Hidalgo E. y M.L. Sevilla. 1970. Datos acerca de las comunidades bentónicas del arrecife de Lobos, Veracruz. *Sociedad Mexicana de Historia Natural* 31: 211-280.
- CONCEPCIÓN, G.P.; Foderaro T.A.; Eldredge G.S.; Lobkovsky E.; Clardy J.; Barrows L.R. y C.M. Ireland. 1995. Topoisomerase II-mediated DNA cleavage by adocia- and xestoquinones from the Philippine sponge *Xestospongia* sp. *Journal of Medicinal Chemistry* 38(22): 4503-4507.
- COVAL, S.J.; Conover M.A.; Mierzwa R.; King A.; Puar M.S.; Phife D.W.; Pai J.K.; Burrier R.E.; Ahn H.S.; Boykow G.C.; Patel M. y S.A. Pomponi. 1995. Wiedendiol A and Wiedendiol B, cholesteryl ester transfer protein inhibitors from the marine sponge *Xestospongia wiedenmayeri*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 5(6): 605-610.
- CRAFT, L.L. y R. Keller. 1976. Antibiological activity of some caribbean asponges against the sea anemone *Aiptasia tagetes*. Association of Isländ Marine Laboratories of the Caribbean. 12 Meeting Curacao, Netherlands Antilles.
- CREWS, P. y S. Naylor. 1985. Sesterterpenes: an emerging group of metabolites from marine and terrestrial organims. En Hertz E.; Grisebach H.; Kirby G.W. y C. Tamm. "Progress in the chemistry of organic natural products. Springer-Verlang. U.S.A. Pág. 203-209.
- CRUZ, S.F. 1984. Sustancias antimicrobianas de la esponja *Haliclona* sp. Tesis de Maestría en Ciencias del Mar, UNAM. México. 60pp.
- CRUZ, S.F. 1988. Aislamiento y elucidación de estructuras moleculares de metabolitos secundarios de la esponja marina *Aplysina* sp. de Puerto Escondido, Oaxaca. Tesis doctoral, UNAM. México. 74pp.
- DAS, B. y K.V.N.S. Srinivas. 1992. Studies on marine chemicals. 2. Minor C-29-sterols from the marine red alga *Gracilaria edullis*. *Phytochemistry* 31(7): 2427-2429.
- DAS, B. y K.V.N.S. Srinivas. 1992. Studies on marine chemicals. 4. Isolation of cholesterol derivates from the marine sponge *Spirastrella inconstans*. *Journal of Natural Products-Lloydia* 55(9): 1310-1312.

- DAS, B. y K.V.N.S. Srinivas. 1992. Studies on marine chemicals. 7. Transformations of clionasterol to new steroids of marine sources. *Medical Chemistry*34(3):261-263.
- DAVIDSON, B.S. 1992. Renieramycin-G, a new alkaloid from the sponge *Xestospongia caycedoi*. *Tetrahedron Letters* 33(26): 3721-3724.
- DESHMANE, S.S. y S. Dev. 1971. Higher isoprenoids. II Triterpenoids and steroids of *Saccharum officinarum*. *Tetrahedron* 27(6): 1109-1118.
- DESQUEYROUX-Faudez, R. 1981. Révision de la collection d'éponges d'Amboine (Moluques, Indonésie) constituée par Bedot et Pictet et conservée au Muséum d'histoire naturelle de Genève. *Evue suisse Zool.* 88(3):749-750.
- DESQUEYROUX-Faudez, R. 1987. Distinctive characters within the O. Petrosida (= Nepheliospongida). NATO Series Vol. G13. En Vacelet J. y N. Boury-Esnault. 1987. "Taxonomy of Porifera". Springer-Verlang Berlin Heidelberg. Pág. 64-72.
- DICCIONARIO de productos naturales (DNP). 1996. Chapman y Hall rn CD-ROM.
- DICCIONARIO de productos naturales (DNP). 1997. Chapman y Hall rn CD-ROM.
- DOSS, G.A.; Proudfoot J.R.; Silva C.J. y C. Djerassi. 1990. Biosynthetic studies of marine lipids. 24. Experimental demonstration of a unprecedented cyclopropane to cyclopropane rearrangement in the biosynthesis of the sponge sterol petrosterol. *Journal of the American Chemistry Society* 112: 305-310.
- DUCHASSAING, 1850. En Soest R.W.M. van. y Stentoft. 1988. Barbados deep-water sponges. Studies on the fauna of Curacao and other Caribbean island. No. 215. 175pp.
- DUCHASSAING y Michelotti. 1864. En Soest R.W.M. van. y Stentoft. 1988. Barbados deep-water sponges. Studies on the fauna of Curacao and other Caribbean island. No. 215. 175pp.
- DUPERON, R.; Thiersault M. y P. Duperon. 1983. Occurrence of steryl glycosides and acylates steryl glycosides in some marine algae. *Phytochemistry* 22(2): 535-538.
- EDRADA, R.A. 1996. Four new bioactive Manzamine-type alkaloids from the Philippine marine sponge *Xestospongia ashmonica*. *Journal Natural Products* 59(11): 1056-1060.
- EDRADA, R.A.; Proksch P.; Wray V.; Christ R.; Witte L. y R.W.M. van Soest. 1996. Bioactive isoquinoline quinone from an undescribed Philippine marine sponge of the Genus *Xestospongia*. *Journal Natural Products* 59(10): 973-976.
- ENCARNACIÓN, D.R. y G.S. Kerr. 1992. Compuestos con actividad antimicrobiana de organismos marinos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 22(6): 33-41.
- ERDMAN, T.R. y R.H. Thompson. 1972. Sterols the sponges *Cliona celata* Grant and *Hymeniacidon perleve* Montagu. *Tetrahedron* 28: 5163-5173.
- FAULKNER, D.J. 1977. Interesting aspects of marine natural products chemistry. *Tetrahedron* 33: 1421-1443.
- FAULKNER, D.J. 1984. Marine natural products. *Natural Product Reports* 1(3): 251-280.
- FAULKNER, D.J. 1984. Marine natural products. *Natural Product Reports* 1(6): 551-598.

- FAULKNER, D.J. 1986. Marine natural products. *Natural Product Reports* 3: 1-33.
- FAULKNER, D.J. 1987. Marine natural products. *Natural Product Reports* 4: 539-576.
- FAULKNER, D.J. 1988. Marine natural products. *Natural Product Reports* 5: 613-663.
- FAULKNER, D.J. 1990. Marine natural products. *Natural Product Reports* 7: 269-309.
- FAULKNER, D.J. 1981. Marine natural products. *Natural Product Reports* 8: 97-147.
- FAULKNER, D.J. 1994. Marine natural products. *Natural Product Reports* 11(4): 355-394.
- FAULKNER, D.J. 1996. Marine natural products. *Natural Product Reports* 13(2): 75-125.
- FAULKNER, D.J. 1997. Marine natural products. *Natural Product Reports* 14(3): 259-302.
- FERRERE-D'Amare, A.R. 1985. Coral reefs of the mexican Atlantic: a review. *Proc. 5o. Int. Symp. Coral Reef Tahiti*. 6:349-354.
- FÉURIER, A.; Barbier M. y A. Saliot. 1975. "Molécules organiques dissoutes dans l'eau de mer: capture par les invertébrés marins". *CR Hebd. Seances Acad. Sci. Ser. D*. 281: 239-241.
- FRINCKE, J.M. y D.J. Faulkner. 1982. Antimicrobial metabolites of the sponge *Reniera* sp. *Journal of the American Chemical Society* 104: 265-269.
- FROMONT, J. 1991. Descriptions of species of the Petrosida Porifera Demospongiae occurring in the tropical waters of the great barrier reef. *Beagle* 8(1): 73-96.
- FROMONT, J.; Kerr S.; Kerr R.; Riddle M. y P. Murphy. 1994. Chemotaxonomic relationships within, and comparosons orders Haplosclerida and Petrosida (Porifera, Demospongiae) using sterol complements. *Biochemical Systematics and Ecology* 22(7): 735-752.
- FUJIMOTO, Y. y N. Ikekawa. 1979. Covenient preparation of the C-24 stereoisomers of 24-ethyl and 24-methylcholesterols. *Journal of Organis Chemistry* 44(6): 1011-1012.
- FUJIMOTO, Y.; Kinura M.; Khalifa F.A.M. y N. Ikekawa. 1984. Side chain structural requeriment for utilization of sterols by the silkworm for growth and development. Non-stereoslective utilization of the 24-stereisomeric parus of 24-alkylsterols. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 32(11): 4372-4381.
- FUKUYAMA, Y.; Nakano Y.; Geng P.W.; Wang R.; Sumitomo J.; Bao J. y K. Nakagawa. 1988. *Planta Médica* 54(1):34-36.
- FUSETANI, N.; Li H.Y.; Tamura K. y S. Matsunaga. 1993. Antifungal brominated C₁₈ acetylenic acids from the marine sponge, *Petrosia volcano* Hoshino. *Tetrahedron* 49(6): 1203-1210.
- GOLBERG, E.D. 1974. "The sea". John Willey y Sonds, N.Y. 5:679-714.
- GÓMEZ, P. Y G. Bakus. 1992. *Aplysina gerardogreeni* y *Aplysina aztecus* (Porifera: Demospongiae) new species from the mexican Pacific. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. UNAM. 19(2): 175-180.

- GRECA, M.; Monaco P. y L. Previtera. 1990. Stgmasterols from *Typha latifolia*. *Journal Natural Products* 53(6): 1430-1435.
- GRECA, M.; Fiorentino A.; Molinaro A.; Monaco P. y L. Previtera. 1994. Hydroperoxysterols in *Arum italicum*. *Natural Products Letters* 5: 7-14.
- GREEN, G. 1977. Sinopsis taxonómica de trece especies de esponjas del arrecife La Blanquilla, Veracruz, México. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología*. UNAM. 4(1): 79-98.
- GREEN, G. 1977. Ecology of toxicity in marine sponges. *Marine Biology* 40: 207-215.
- GREEN, G. y P. Gómez. 1984. Sistemática de las esponjas de Puerto Morelos, Quintana Roo, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. UNAM. 11(1): 65-90.
- GREEN, G. y P. Gómez. 1986. Estudio taxonómico de las esponjas de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. UNAM. 13(3): 273-300.
- GREEN, G.; Gómez.P. y G. Bakus. 1985. Antimicrobial and ictiotoxic properties of marine sponges from Mexican waters. *Mem. 3d. Int. Sponge. Conf.* Pág. 109-114.
- GREEN, G.; Fuentes-Velázquez L.E. y P. Gómez-López. 1986. Nuevos registros de Porifera del arrecife La Blanquilla, Veracruz, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. UNAM. 13(3): 127-146.
- GREEN, K.D. y G. Bakus. 1994. "Taxonomic atlas of the benthic fauna of the Santa Maria Basin and Western Santa Barbara Channel Vol. 2 The Porifera". Santa Barbara Museum of Natural History. California, U.S.A. Pág. 1-13.
- GRIVEL-Piña, F. 1979. Variaciones del nivel medio del mar. Puertos del Golfo de México y Mar Caribe. Datos geofísicos. *Serie A. Oceanografía* 5, UNAM.
- GUERRERO, R.B. 1997. "Aislamiento y elucidación estructural de un peracetiltaxano y otros constituyentes del tejo mexicano *Taxus globosa* Schledl (taxacea)". Tesis de Licenciatura de la Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F. 72pp.
- GUERRIERO, A.; D'Ambrssio M.; Pietra F.; Debitus C. y O Ribes. 1993. Pteridines, sterols and indole derivates from the lithistid sponge *Corallistes undulatus* of the Coral Sea. *Journal Natural Products* 56(11): 1962-1970.
- GULAVITA, N.K. y P.J. Scheuer. 1989. Two epimeric aliphatic amino alcohols from a sponge, *Xestospongia* sp. *Journal of Organic Chemistry* 54(2): 366-369.
- GUNASEKERA, S.P.; Cranick S, y S.A. Pomponi. 1991. New sterol ester from a deep water marine sponge *Xestospongia* sp. *Journal Natural Products* 54(4): 1119-1122.
- HALSTEAD, B.W., 1965. Poisonous and venomous marine animals of the world: Invertebrates. Vol. 1 U.S Government Printing Office, Wash. D.C.
- HARADA, N.; Uda H.; Kobayashi M.; Shimizu N. e I. Kitagawa. 1989. Absolute stereochemistry of the halenaquinol family, marine natural products with a novel pentacyclic skeleton, as determined by the theoretical calculation of circular dichroism spectra. *Journal of the American Chemical Society* 111(15): 5668-5674.

- HARRISON, B.; Talapatra S.; Lobkovsky E.; Clardy J. y P. Crews. 1996. The structure and biogenetic origin of (-)-halicyclamine B from a *Xestospongia* sponge. *Tetrahedron Letters* 37(51): 9151-9154.
- HECHTEL, G.J. 1965. "A systematic study of the Demospongiae of Port Royal, Jamaica". Peabody Museum of Natural History. Bull. 20: 18.
- HESSE, M.; Meier H. y B. Zeeh. 1997. "Spectroscopic methods in organic chemistry". Alemania Offizin Andersen Nexö, Leipzig. 365pp.
- HINDE, R.; Pironer F. y M.A. Borowitzka. 1994. Isolation of *Oscillatoria spongelliae*, the filamentous cyanobacterial symbiont of the marine sponge *Dysidea herbacea*. *Marine Biology* 119: 99-104.
- HIRSH, S.; Carmely S. y Y. Kashman. 1987. Brominated unsaturated acids from the marine sponge *Xestospongia* sp. *Tetrahedron* 43(14): 3257-3261.
- HOFFMANN, A. y H.P. Locking. 1988. Influence of beta-sitosterol on the fibrinolytic potential in rabbits. *Folia Haematol Int. Mag Klin Morphol Blutforsch* 115 (1-2): 189-196.
- HOLLAND, H.L.; Diakow P.R.P. y G.J. Taylor. 1978 ¹³C nuclear resonance spectra of some C₁₉ hydroxy, C-5,6-epoxy, C₂₄ ethyl and C₁₉ norsteroids. *Canadian Journal of Chemistry* 56: 3121-3127.
- HONDA, T.; Miho K. y S. Yamane. 1996. Stereoselective synthesis of petrosterol and a formal synthesis of aragusterols. *Journal Chemical Society Perkin Trans. 1*: 2291-2296.
- HOOPER, J.N.A. y F. Wiedenmayer. 1994. "Porifera". Zoological Catalogue of Australia. 624pp.
- HORIBE, Y.; Nakai H.; Sato T.; Seo S. y K Takeda. 1989. Stereoselective synthesis of the C₂₄ and C₂₅ stereoisomeric pairs of 24-ethyl-26-hydroxy- and 24-ethyl-[26-²H]sterols and their Δ²²-derivates: reassignment of ¹³C NMR signals of the *pro-R* and the *pro-S* methyl groups at C₂₅ of 24-ethylsterols. *Journal Chemical Society Perkin Trans. 1*: 2291-2296.
- ICHIBA, T.; Scheuer P.J. y M. Kelly-Borges. 1993. Sponge-derived polyunsaturated C₁₆ di- and tribromocarboxylic acids. *Helvetica Chimica Acta* 76(8): 2814-2816.
- ICHIBA, T.; Corgiat J.M.; Scheuer P.J. y M. Kelly-Borges. 1994. 8-hydroxymanzamine A, a β-carboline alkaloid from a sponge *Pachypellina* sp. *Journal of Natural Products* 57(1): 168-170.
- ICHIBA, T.; Sakai R.; Kohmoto S.; Saucy G. y T. Higa. 1988. New manzamine alkaloids from a sponge of the Genus *Xestospongia*. *Tetrahedron Letters* 29(25): 3083-3086.
- IGUCHI, K.; Fujita M.; Nagaoka H.; Mitome H. y Y. Yamada. 1993. Aragusterol A: a potent antitumor marine steroid from the Okinawan sponge of the Genus *Xestospongia*. *Tetrahedron Letters* 34(39): 6277-6280.
- IGUCHI, K.; Shimura H.; Taira S.; Yokoo C.; Matsumoto K. y Y. Yamada. 1994. Aragusterol B and D, new 26,27-cyclosterols from the Okinawa marine sponge of the Genus *Xestospongia*. *Journal of Organic Chemistry* 59(24): 7499-7502.
- IKAN, R.; Markus A. y E. Bergmann. 1971. Synthesis of beta-sitosterol acetate [(24*R*)-24-ethyl-3β-acetoxycholest-5-ene] and its 24*S* epimer. *Journal of Organic Chemistry* 36(25): 3944-3945.
- JÍMENEZ, C. y P. Crews. 1990. Novel marine sponge amino acid, 10. Xestoaminols from *Xestospongia* sp. *Journal of Natural Products* 53(4): 978-982.

- KALIDINDI, R.S.H.S.N.; Rao B.; Akihisa T.; Tamura T. y T. Matsumoto. 1988. Sterols of *Spirastrella inconstans* (Dendy) and *Axinella* sp. of the Indian Ocean. *Indian Journal of Chemistry* 27B: 160-162.
- KELLY-BORGES, M. y P.R. Bergquist. 1988. Sponge from Motupore Island, Papua New Guinea. *Indon-Malayan Zoology* 5(2): 121-159.
- KERR, R.G.; Kerr S.L. y C. Djerassi. 1991. Biosynthetic studies of marine lipids. 26. Elucidation of the biosynthesis of mutasterol, a sponge sterol with a quaternary carbon in its side chain. *Journal of Organic Chemistry* 56(1): 63-66.
- KERR, R.G.; Kerr S.L.; Pettit G.R.; Herald D.L.; Groy T.L. y C. Djerassi. 1991. Sterols of marine invertebrates. 63. Isolation and structure elucidation of sutinasterol, the major sterol of the marine sponge *Xestospongia* sp. *Journal of Organic Chemistry* 56(1): 58-62.
- KINE, O. 1977. "Marine ecology. Vol. III Part. 2 Cultivation". John Wiley y Sons. London. Pág. 627-640.
- KITAGAWA, I. y M. Kobayashi. 1993. Pharmacochemical investigation of marine sponge products. *Gazzetta Chimica Italiana* 123(6): 321-327.
- KOBAYASHI, J.; Hirase T.; Shigemori H.; Ishibashi M.; Bae M.; Tsuji T. y T. Sasaki. 1992. New pentacyclic compounds from the Okinawan marine sponge *Xestospongia sapra*. *Journal of Natural Products* 55(7): 994-998.
- KOBAYASHI, J. Ishida K.; Naitoh K.; Shigemori H.; Mikami Y. y T. Sasaki. 1993. Xestokerols A, B and C, new C₂₉ steroids with a cyclopropane ring from the Okinawan marine sponge *Xestospongia* sp. *Journal of Natural Products* 56(8): 1350-1355.
- KOBAYASHI, J.; Naitoh K.; Ishida K.; Shigemori H. y M. Ishibashi. 1994. Nepheliosyne A, new C₄₇ acetylenic acid from the Okinawan marine sponge *Xestospongia* sp. *Journal of Natural Products* 57(9): 1300-1303.
- KOBAYASHI, J.; Tsuda M.; Kawasaki N.; Matsumoto K. y T. Adachi. 1994. Keramaphidin B, a novel pentacyclic alkaloid from a marine sponge *Amphimedon* sp. : a plausible biogenetic precursor of manzamine alkaloids. *Tetrahedron Letters* 35(25): 4383-4386.
- KOBAYASHI, J.; Shinonaga H.; Shigemori H.; Umeyama A.; Shoji N. y S. Arihara. 1995. Xestobergsterol C, a new pentacyclic steroid from the Okinawan marine sponge *Ircinia* sp. and absolute stereochemistry of xestobergsterol A. *Journal of Natural Products* 58(2): 312-318.
- KOBAYASHI, M.; Ishizaka T. y H. Mitsuhashi. 1983. *Chem. Pharm. Bull.* 32: 1803. En GULAVITA, N.K. y P.J. Scheuer. 1989. Two epimeric aliphatic amino alcohols from a sponge, *Xestospongia* sp. *Journal of Organic Chemistry* 54(2): 366-369.
- KOBAYASHI, M.; Shimizu N.; Kitagawa I.; Kyogoku Y.; Harada N. y H. Uda. 1985. Absolute stereostructures of halenaquinol and halenaquinol sulfate, pentacyclic hydroquinones from the Okinawan marine sponge *Xestospongia sapra* as determined by theoretical calculation of CD spectra. *Tetrahedron Letters* 26(32): 3833-3836.
- KOBAYASHI, M.; Shimizu N.; Kyogoku Y. y I. Kitagawa. 1985. Halenaquinol and halenaquinol sulfate, pentacyclic hydroquinones from the Okinawan marine sponge *Xestospongia sapra*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 33(3): 1305-1308.

- KOBAYASHI, M.; Kawazoe K. y I. Kitagawa. 1989. Aragupetrosine A, a new vasodilative macrocyclic quinolizidine alkaloid from an Okinawan marine sponge *Xestospongia* sp. *Tetrahedron Letters* 30(31): 4149-4152.
- KOBAYASHI, M.; Kawazoe K. y I. Kitagawa. 1989. Araguspongines B, C, D, E, F, G, H, y J, new vasodilative bis-1-oxaquinolizidine alkaloids from an Okinawan marine sponge *Xestospongia* sp. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 37(6): 1676-1678.
- KOBAYASHI, M.; Chen Y.J. y S. Aoki. 1996. Four new β -carboline alkaloids isolated from two Okinawan marine sponges of *Xestospongia* sp. and *Haliclona* sp. *Tetrahedron* 51(13): 3727-3736.
- KOBAYASHI, M.; Chen Y.J.; Higuchi K.; Aoki S. e I. Kitagawa. 1996. Marine natural products. XXXVII. Aragusteroketals A y C, two novel cytotoxic steroids from a marine sponge of *Xestospongia* sp. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 44(10): 1840-1842.
- KOKKE, W.C.M.C.; Tarchini C.; Stierle D.B. y C. Djerassi. 1979. Isolation, structure elucidation and partial synthesis of xestosterol, a biosynthetically significant sterol from the sponge *Xestospongia muta*. *Journal of Organic Chemistry* 44(19): 3385-3388.
- KONG, F.M. y R.J. Andersen. 1994. Madangamine A, a novel cytotoxic alkaloid from the sponge *Xestospongia ingens*. *Journal of the American Chemical Society* 116(13): 6007-6008.
- KONG, F.M. y R.J. Andersen. 1995. Ingenamine alkaloids isolated from the sponge *Xestospongia ingens*: structures and absolute configurations. *Tetrahedron* 51(10): 2895-2906.
- KONG, F.M.; Andersen R.J. y T.M. Allen. 1994. Ingenamina, a novel pentacyclic alkaloid from the marine sponge *Xestospongia ingens*. *Tetrahedron Letters* 35(11): 1643-1646.
- KONG, F.M.; Andersen R.J. y T.M. Allen. 1994. Ingamine-A and ingamine-B, new cytotoxic alkaloids from the marine sponge *Xestospongia ingens*. *Tetrahedron* 50(21): 6137-6144.
- KUBO, A.; Kitahara Y. y S. Nakahara. 1989. Synthesis of new isoquinolinequinone metabolites of a marine sponge, *Xestospongia* sp. and nudibranch *Jorunna funebris*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 37(5): 1384-1386.
- LAUBENFELS, M.W. De. 1930. The sponges of California. *Stanford Univ. Bull.* 98: 24-29.
- LAUBENFELS, M.W. De. 1932. The marine and fresh water sponges of California. *Proceeding of the U.S. National Museum* 81: 1-140.
- LAUBENFELS, M.W. De. 1936. A comparison of the shallow-water sponges near the Pacific end of the Panama Canal with those at the Caribbean end. . *Proceeding of the U.S. National Museum* 83(2993): 1-458.
- LAUBENFELS, M.W. De. 1936. "Sponges of the Dry Tortugas, in particular and the West Indies in general, with material for a revision of Families and Orders of the Porifera". Carnegie Institution of Wshington Publ. Washington, U.S.A. 30(467): 225pp.
- LAUBENFELS, M.W. De. 1949. "Sponges of the Western Bahamas". The American Museum of Natural History. N.Y., U.S.A. Pág. 10-11
- LAUBENFELS, M.W. De. 1950. The sponges of Kaneohe Bay. Oahu. *Pacific Science* 4: 3-36.

- LAUBENFELS, M.W. De. 1953a. "A guide to the sponges of Eastern North America". University of Miami Press. U.S.A. 32pp.
- LAUBENFELS, M.W. De. 1953b. Sponges from the Gulf of Mexico. *Bulletin of marine Science of the Gulf and Caribbean* 2(3): 511-557.
- LAUBENFELS, M.W. De. 1954. The sponges of the West-Central Pacific. *Oregon State College*. 320pp.
- L.N. y C. Djerassi. 1981. Minor and trace sterols in marine invertebrates 23. Xestospongesterol and isoxestospongesterol: First examples of quadruple of biomethylation of the sterol side-chain. *Journal of the American Chemical Society* 103: 3606-3608.
- L.N.; Sjöstrand U. y C. Djerassi. 1981. Minor and trace sterols in marine invertebrates 19. Isolation structure elucidation and partial synthesis of 24-methylene-25-ethyl cholesterol (Mutasterol): First example of sterol side-chain bioalkylation al position 25. *Journal of the American Chemical Society* 103(1): 115-119.
- L.N.; Sjöstrand U. y C. Djerassi. 1981. Minor and trace sterols in marine invertebrates 27. Isolation, structure, elucidation and partial synthesis of 25-methylxestosterol, a new sterol arising from biomethylation in the side-chain. *Journal of Organic Chemistry* (46): 3867-3870.
- LÓPEZ, H.M. 1992. "Diagnosis taxonómica de las esponjas de las estructuras arrecifales de Antón Lizardo y Puerto de Veracruz". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 88pp.
- MACÍAS, F.A.; Simonet A.M. y J.C.G. Galindo. 1997. Bioactive steroids and triterpenes from *Melilotus messanensis* and their allelopathic potential. *Journal of Chemical Ecology* 23(7): 1781-1803.
- MARSAN, M.P.; Muller I. y A. Milon. 1996. Ability of clionasterol and poriferasterol (24-epimers of sitosterol and stigmasterol) to regulate membrane lipid dynamics. *Chemistry and Physics of Lipids* 84(2): 117-121.
- MATSUMOTO, T.; Shigemoto T. y T. Itoh. 1983. Ocurrance 24-ethyl- Δ^5 - and 24-ethyl- Δ^7 -sterols as C-24 epimeric mixtures in seeds of *Cucumis sativus*. *Phytochemistry* 22(11): 2622-2624.
- MATTIA, C.A.; Mazzarella L.; Puliti R.; Sica D. y F. Zollo. 1978. X-Ray crystal structure determination of petrosterol *p*-bromobenzoate a revision. *Tetrahedron Letters* (41): 3953-3954.
- McCLINTOCK, J.B. y J.J. Gautier. 1992. Antimicrobial activities of Antarctic sponges. *Antartic Science* 4(2): 179-183.
- McKEE, T.C. y C.M. Ireland. 1987. Cytotoxic and antimicrobial alkaloids from the Fijian sponge *Xestospongia caycedoi*. *Journal of Natural Products* 50(4): 754-756.
- MINALE, L. 1976. Natural product chemistry of the marine sponges. *Pure and Applied Chemistry* 48: 7-23.
- MITOME, H.; Miyaoka H.; Nakano M. y Y. Yamada. 1995. Synthesis of antitumor marine steroid Aragusterols. *Tetrahedron Letters* 36(45): 8231-8234.
- MORRIS, S.A.; Northcote P.T. y R.J. Andersen. 1991. Triterpenoid glycosides from the northeastern Pacific marine sponge *Xestospongia vanilla*. *Canadian Journal of Chemistry* 69(9): 1352-1364.

- MOTHESS, B. y M.C.K.A. Bastian. 1993. Sponges from the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil (Porifera, Demospongiae). *Iheringia* 75: 15-31.
- NAKAGAWA, M.; Endo M.; Tanaka N. y L. Gen-Pei. 1984. Structures of xestospongins A, B, C and D, novel vasodilative compounds from marine sponge, *Xestospongia exigua*. *Tetrahedron Letters* 25(30): 3227-3230.
- NAKAMURA, H.; Kobayashi J.; Kobayashi M.; Ohizumi Y. y Y. Hirata. 1985. Xestoquinone. A novel cardiotoxic marine natural product isolated from the Okinawan sea sponge *Xestospongia sapra*. *Chemistry Letters* : 713-716.
- NAKAMURA, H.; Deng S.; Kobayashi J.; Mitsubishi-Kasei O.; Tomokate Y.; Matsuzaki T. y Y. Hirata. 1987. Keramamine A and B, novel antimicrobial alkaloids from the Okinawan marine sponge *Pellina* sp. *Tetrahedron Letters* 28(6): 621-624.
- NORTHCOOTE, P.T. y R.J. Andersen. 1987. Xestodiol, a new apocarotenoid from the sponge *Xestospongia vanilla*. *Journal of Natural Products* 50(6): 1174-1177.
- NORTHCOOTE, P.T. y R.J. Andersen. 1988. Xestenone, a new bicyclic C₁₉ terpenoid from the marine sponge *Xestospongia vanilla*. *Tetrahedron Letters* 29(35): 4357-4360.
- NORTHCOOTE, P.T. y R.J. Andersen. 1989. Xestolide and secoxestenone, degraded triterpenoids from the sponge *Xestospongia vanilla*. *Canadian Journal of Chemistry* 67(8): 1359-1362.
- NORTHCOOTE, P.T. y R.J. Andersen. 1989. Xestovanin A and secoxestovanin A, triterpenoid glycolides with new carbon skeletons from the sponge *Xestospongia vanilla*. *Journal of the American Chemical Society* 111(16): 6276-6280.
- NOTARO, G.; Piccialli V. y D. Sica. 1992. New steroidal hydroxyketones and closely related diols from the marine sponge *Cliona copiosa*. *Journal of Natural Products* 55(11): 1588-1594.
- OKANO, M.; Fukamiya N.; Mizui F. y T. Aratani. 1982. Seasonal variation of sterol, hydrocarbon and fatty acid fractions in *Cladophora densa* Harvey. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 48(6): 815-819.
- OSORIO, T.B.F. 1945. Sobre las esponjas comerciales de Quintana Roo y una enfermedad que las destruye. *Ciencia* 6(1): 25-31.
- PAOLETTI, C.; Pushparaj B.; Florenzano G.; Capella P. y G. Lercker. 1976. Unsaponifiable matter of green and blue-green algal lipids as a factor of biochemical differentiation of their biomasses. Part. 2 Terpenic alcohol and sterol fractions. *Lipids* 11(4): 266-271.
- PATIL, A.C.; Kokke W.H.; Cochran S.; Francis T.A.; Tomszek T. y J.W. Westley. 1992. Brominated polyacetylenic acids from the marine sponge *Xestospongia muta*: Inhibitors of HIV protease. *Journal of Natural Products* (Lloydia) 55(9): 1170-1177.
- PATTERSON, G.W. 1972. Sterols of *Nitella flexilis* and *Chara vulgaris*. *Phytochemistry* 11: 3481-3483.
- PETTIT, G.R.; Collins J.C.; Herald D.L.; Doubek D.L.; Boyd M.R.; Schmidt J.M.; Hooper J.N.A. y L.P. Tackett. 1992. Isolation and structure of cribrostatin-1 and cribrostatin-2 from the blue marine sponge *Cribrochalina* sp. *Canadian Journal of Chemistry* 70(4): 1170-1175.
- PINTO, W.J. Y W.R. Nes. 1983. Stereochemical specificity for sterols in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biochemical Chemistry* 258(7): 4472-4476.

- PREMUZIC, E. 1971. Chemistry of natural products derivated from marine sources. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* 29: 417-488.
- PROUDFOOT, J.R. Y C. Djerassi. 1984. Stereochemical effects in cyclopropane rings openings: synthesis and isomerization of petrosterol and all three of its trans cyclopropane distereomers. *Journal of the American Chemical Society* 106: 5613-5622.
- PULITZER-Finali, G. 1981. Some new or little known sponges from the Great Barrier Reef of Australia. *Bull. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova* 48-49:127-129.
- PULITZER-Finali, G. 1986. Acolection of marine sponges from East Africa. *Annali del Museo Civico de storia naturale "Giacomo Doria"* 89: 247-350.
- PULITZER-Finali, G. 1992-93. A colection of West Indian Demospongiae (Porifera). In appendix a list of Demospongiae hitherto recorded from the West Indies. *Annali del Museo Civico de storia naturale "Giacomo Doria"* 86: 65-216.
- QUINN, R.J. y D.J. Tucker. 1985. A brominated bisacetylenic acid from the marine sponge *Xestospongia testudinaria*. *Tetrahedron Letters* 26(13): 1671-1672.
- QUINN, R.J. y D.J. Tucker. 1991. Further acetylenic acids from the marine sponge *Xestospongia testudinaria*. *Journal of Natural Products* 54(1): 290-294.
- QUIÑOIA, E. y P. Crews. 1988. Melynes, polyacetylene constituents from a Vanuatu marine sponge. *Tetrahedron Letters* 29(17): 2037-2040.
- QUIÑOIA, E.; Kho E.; Manes L.V. y P. Crews. 1986. Heterocycles from the marine sponge *Xestospongia* sp. *Journal of Organic Chemistry* 51(22): 4260-4264.
- QUIRION, J.C.; Sevenet T.; Husson H.P.; Weniger B. y C. Debitus. 1992. Two new alkaloids from *Xestospongia* sp. a new Caledonian sponge. *Journal of Natural Products (Lloydia)* 55(10): 1505-1508.
- RAO, B. y K. Pullaiah. 1982. Chemical examination of marine algae off Visakhapatnam coast: constituents of *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C. Agardh. *Indian Journal of Chemistry* 21B: 264-265.
- RAVI, B.N.; Kokke W.C.M.C.; Delseth C. y C. Djerassi. 1978. Isolation and structure of 26,27-cycloaplysterol (petrosterol) a cyclopropane-containing marine sterol. *Tetrahedron Letters* (45): 4379-4380.
- RICCARDIS, F. De; Minale C.; Lorizzi M.; Debitus C. y C.Levi. 1993. Marine sterols. Side-chain-oxygenated sterols, possible of abiotic origin from the new Caledonian sponge *Stelodoryx chlorophylla*. *Journal of Natural Products* 56(2): 2282-2287.
- RIGBY, J.K. y W.G. McIntyre. 1967. The Isla de Lobos and associated reefs, Veracruz, México. *Brigham Young Univ. Stud.* 13: 3-46.
- RISTAU, D.A. 1978. Six new of the shallow-water marine demosponges from California. *Procceding of the Biological Society of Washington* 91(3): 569-589.
- RODRÍGUEZ, J. y P. Crews. 1994. Revised structure of xestocyclamine A and description of a new analogue. *Tetrahedron Letters* 35(27): 4719-4722.

- RODRÍGUEZ, J.; Peters B.M.; Kurz L.; Schatzman R.C.; McCarley D.; Lou L. y P. Crews. 1993. An alkaloid protein kinase C inhibitor, xestocyclamine A, from the marine sponge *Xestospongia* sp. *Journal of the American Chemical Society* 115(22): 10436-10437.
- ROLL, D.M.; Scheuer P.J.; Matsumoto G.K. y J. Clardy. 1983. Halenaquinone, a pentacyclic polyketide from marine sponge. *Journal of the American Chemical Society* 105(19): 6177-6178.
- ROWE, J.W. 1965. The sterols of pine bark. *Phytochemistry* 4: 1-10.
- RUBINSTEIN, I.; Goad L.J.; Clague A.D.H. y L.J. Mulheirn. 1976. The 220 MHz NMR spectra of phytosterols. *Phytochemistry* 15:195-200.
- RUI, T. y L. Lianniang. 1993. Studies on differentiations inducers: partial synthesis of 7 α and 7 β -hydroxy- β -sitosterol. *Chin. J. Mar. Drugs/Zhongguo Haiyang Yaowu* 12(1):1-2.
- SAKAI, R.; Higa T.; Jefford C.W. y G. Bernardinelli. 1986. Manzamine A, a novel antitumor alkaloid from a sponge. *Journal of the American Chemical Society* 108: 6404-6405.
- SAKAMOTO, H.; Furukawa K.I.; Matsunaga K.; Nakamura H. y Y. Ohizumi. 1995. Xestoquinone activates skeletal muscle actomyosin ATPase by modification of the specific sulfhydryl group in the myosin head probably distinct from sulfhydryl group SH₁ and SH₂. *Biochemistry* 34(39): 12570-12575.
- SAKEMI, S.; Totton L.E. y H.H. Sun. 1990. Xestamines A, B and C, three new long-chain methoxylamine pyridines from the sponge *Xestospongia wiedenmayeri*. *Journal of Natural Products* 53(4): 995-999.
- SCHABDACH, H.; Johne S.; Steiner U. y K. Seifert. 1995. Plant disease resistance inducing of 7-oxo- and 7-hydroxysterols. *Z. Naturforsch. Sect. C.* 50(3-4): 257-262.
- SCHEUER, P.J. 1973. "Chemistry of marine natural products". Academic Press. N.Y. 201pp.
- SCHMIDT, 1870. *En SOEST*, R.W.M. van. 1980. Marine sponges from Curacao West-Indies and other Caribbean localities. Part.2 Haplosclerida. *Uitgaven Natuurwetenschappelijke Studicring voor Suriname en de Nederlandse Antillen* (104): 1-173.
- SCHMITZ, F.J. y Y. Gopichand. 1978. (7E,13E,15Z)-14,16-dibromo-7,13,15-hexadeca-trien-5-ynoic acid. A novel dibromo acetylenic acid from the marine sponge *Xestospongia muta*. *Tetrahedron Letters* (39): 3637-3640.
- SCHMITZ, F.J. y S.J. Bloor. 1988. Xesto- and halenaquinone derivates from a sponge, *Adocia* sp., from Truk Lagoon, *Journal of Organic Chemistry* 53: 3922-3925.
- SCHROEDER, G.; Rohmer M.; Beck J.P. y R. Anton. 1980. 7-oxo-, 7 α -hidroxi and 7 β -hidroxi-sterols from *Euphorbia fischeriana*. *Phytochemistry* 19: 2213-2215.
- SECRETARÍA de Marina. 1980. Carta SM-823, México-Costa Este: Veracruz y proximidades. Dirección General de Oceanografía. México.
- SELDES, A.; Romero M.; Gros E.; Dariars J.; Rovirosa J. y A. San Matin. 1990. Steroids from Antarctic sponge *Cinachyra barbata* Sollas and *Xestospongia* sp. *Ser. Cient. Inst. Antart. Chil.* (40): 81-97.

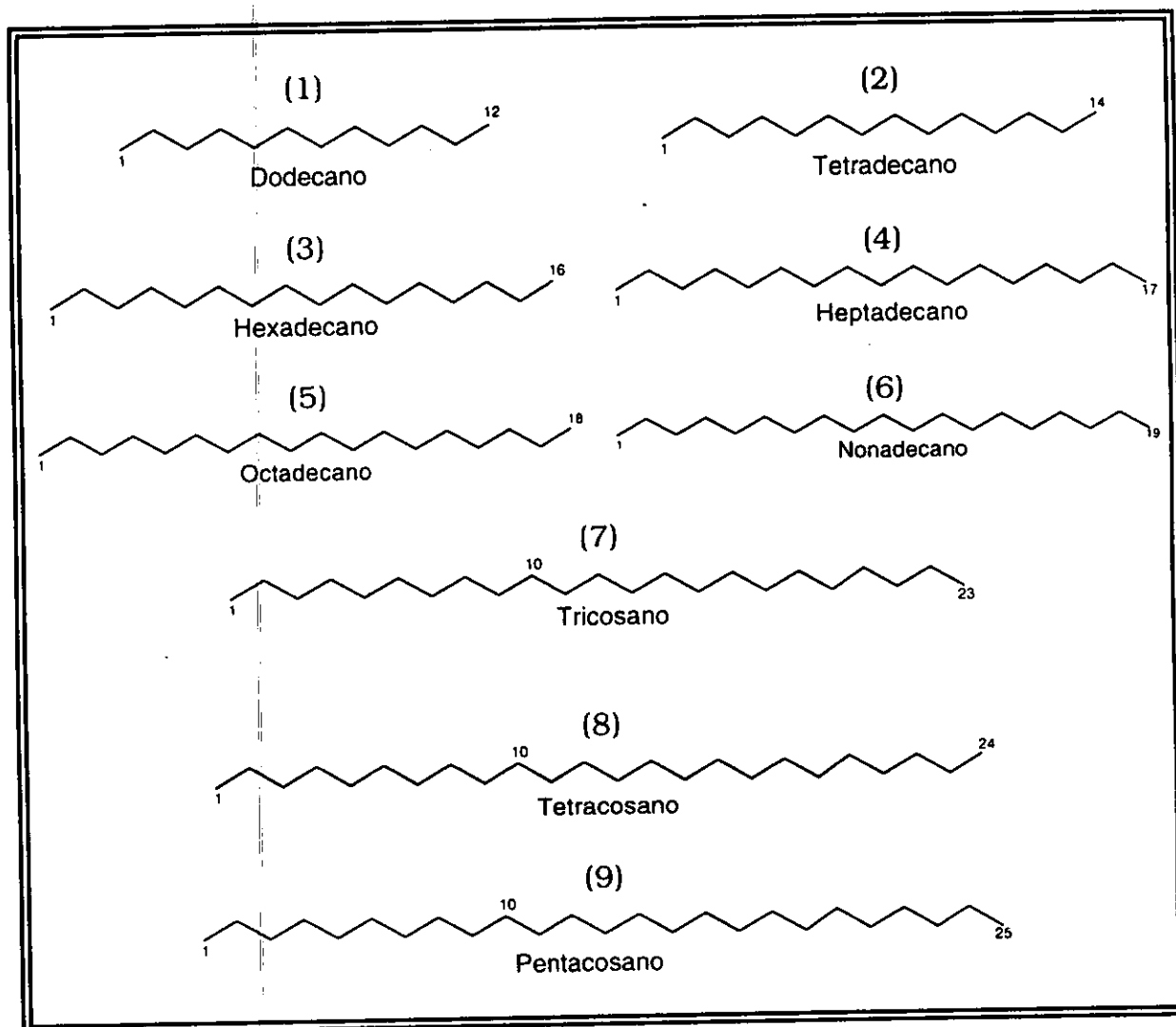
- SEO, S.; Sankawa U.; Seto H.; Uomori A.; Yoshinura Y.; Ebizuka Y.; Noguchi H. y K. Takeda. 1986. Biosynthesis of sitosterol in tissue cultures of *Rabdosia japonica* Hara and ergosterol in yeast from [2-¹³C,2-²H₃] acetate! *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*: 1139-1141.
- SHIMURA, H.; Iguchi K.; Yamada Y.; Nakaike S.; Yamagishi T.; Matsumoto K. y C. Yokoo. 1994. Aragusterol C: a novel halogenated marine steroid from an Okinawan sponge, *Xestospongia* sp., possessing potent antitumor activity. *Experientia* 50(2): 134-136.
- SHOJI, N.; Umeyama A.; Shin K.; Takeda K.; Arihara S.; Kobayashi J. y M. Takei. 1992. Two unique pentacyclic steroids with cis C/D ring junction from *Xestospongia bergquistia* Fromont, powerful inhibitors of histamina-release. *Journal of Organic Chemistry* 57(11): 2996-2997.
- SHOOLERY, J.N.; Pradhan B.P. y A. Hassan 1983. Use of two-dimensional NMR spectroscopy for structure elucidation of sepesteonol. *Indian Journal of Chemistry* 22B: 727-728.
- SICA; D. y F. Zollo.1978. Petrosterol, the major sterol with a cyclopropane side chain in the sponge *Petrosia ficiformis*. *Tetrahedron Letters* (9): 837-838.
- SICA; D.; Picaalli V. y A. Masullo. 1984. Configuration at C-24 of sterols from the marine Phanerogames *Posidonia ocanica* and *Cymodocea nodosa*. *Phytochemistry* 23(11): 2609-2611.
- SOEST, R.W.M. van. 1980. Marine sponges from Curacao West-Indies and other Caribbean localities. Part.2 Haplosclerida. *Uitgaven Natuurwetwenschappelijke Studicring voor Suriname en de Nederlandse Antillen* (104): 1-173.
- SOEST, R.W.M. van. 1981. "A checklist of the Curacao sponges (Porifera Demospongiae) including a pictorial key to the more common reef-forms". *Verlagen en Technische Gegevens* No. 31. 39pp.
- SOEST, R.W.M. van. 1984. Marine sponges from Curacao and other Caribbean localities. Part. 3 Poecilosclerida. *Uitgaven Natuurwetwenschappelijke Studicring voor Suriname en de Nederlandse Antillen* (112): 1-167.
- SOEST, R.W.M. van. 1989. The Indonesian sponge fauna a status report. *Netherlands Journal of Sea Research* 23(2): 223-230.
- SOEST, R.W.M. van. y Stentoft. 1988. Barbados deep-water sponges. Studies on the fauna of Curacao and other Caribbean island. No. 215. 175pp.
- STEMPIEN, M.F.; Ruggieri G.D.; Nigrelli R.F. y J.T. Cecil. 1973. Physiologically active substances from extracts of marine sponges. *Food Drugs Sea Procceding (Conf. 3rd)* 1972.
- STORR, F.J. 1964a. Ecological factors contolling sponges distribution in the Gulf of Mexico and the resulting zonation. *En Harrison F.W. y R.R. Cowden. 1976. "Aspects of sponges biology, taxonomy and ecology". Acad. Press. N.Y. U.S.A. Pág. 261-276.*
- TAKEI, M.; Umeyama A.; Shoji N.; Arihara S. y K. Endo. 1993. Mechanism of inhibition of IgE-depent histamine release from rat mast cells by xestobergsterol A from the Okinawan marine sponge *Xestospongia bergquistia*. *Experientia* 49(2): 145-149.
- UNSON, M.D.; Holland N.D. y D.J. Faulkner. 1994. A brominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of the marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Marine Biology* 119: 1-11.

- VALLS, R.; Artaud J.; Archaulis A.; Vicente N. y L. Piouetti. 1994. Composition stérolique de l'extrait de *Caulerpa taxifolia* récemment introduit en Méditerranée. *Oceanologica Acta* 17(2): 223-226.
- VANDEN, D.A. y A.J. Vlietinck. 1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. En Dey P.M. y J.B. Harborne. "Methods in plant biochemistry". Academic Press London, England. Pág. 47-69.
- VASSAS, A.; Bourdy G.; Paillard J.J.; Lavyre J.; Païs M.; Quirion J.C. y C. Debitus. 1996. Naturally occurring somatostatin and vasoactive intestinal peptide inhibitors. Isolation of alkaloids from two marine sponges. *Planta Medica* 62(1): 28-30.
- VÁZQUEZ, M.L.E. 1994. "Estudio taxonómico y distribución de las esponjas del Pacífico Mexicano de los estados de Nayarit, Michoacán y Guerrero, México". Tesis de Licenciatura. UABCS. La Paz, B.C.S. 164pp.
- VENKATESWARLU, Y.; Reddy M.V.R. y J.V. Rao. 1994. Bis-1-oxaquinolizidines from the sponge *Haliclona exigua*. *Journal of Natural Products* 57(9): 1283-1285.
- VILLALOBOS, A. 1971. Estudios ecológicos en un arrecife coralino en Veracruz, México. UNESCO and FAO. *Symposium on Investigations and Resources of the Caribbean Sea and Adjacent Regions*: 531-545.
- WIEDENMAYER, F. 1977. Shallow-water sponges of the Western Bahamas. *Experientia supplementum (Basel)* 28: 1-287.
- WIEDENMAYER, F. 1977. The Nepheliospongiidae Clarke 1900 (Demospongiae, upper Devonian to recent), an ultraconservative, chiefly shallow-marine sponge family. *Eclogae. Geol. Helv.* 70(3): 885-948.
- WRIGHT, J.L.C.; McInnes A.G.; Shimizu S.; Smith D.G.; Walter J.A.; Idler D. y W. Khalil. 1978. Identification of C₂₄ alkyl epimers of marine sterols by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Canadian Journal of Chemistry* 56: 1898-1903.
- YOUNGKEN, H.W. y Y. Shimizu. 1974. Marine drugs and pharmacological aspects. En Ridley J.P. y G. Skirrow. "Chemical oceanography". 2a. Ed. Academic Press, London, England. Pág. 269-316.
- ZEA, S. 1987. "Esponjas del Caribe Colombiano". Catálogo Científico. 286pp.
- ZEA, S. y R.W.M. van Soest. 1986. Three new species of sponges from the Colombian Caribbean. *Bulletin of Marine Science* 38(2): 355-365.
- ZIMMERMAN, M.P. y C. Djerassi. 1991. Biosynthetic studies of marine lipids. 34. Stereochemical features of the enzymatic C-methylation on the path to isofucoesterol and fucoesterol. *Journal of the American Chemical Society* 113(9): 3530-3533.
- ZIMMERMAN, M.P.; Hoberg M.; Ayanoglu E. y C. Djerassi. 1990. Cell separation of *Tethya aurantia*, an analytical study of embryonic and differentiated sponge cells. *Lipids* 25(7): 383-390.

ANEXO A

I. HIDROCARBUROS OBTENIDOS EN EL GENERO *Xestospongia*

I.A. SATURADOS LINEALES



I.B. SATURADOS RAMIFICADOS

C₁₅, C₁₆, C₁₈, Y C₂₀

I.C. SATURADOS DE CADENA INUSUAL (NOTA: No se especifica de que tipo).

II. ÁCIDOS ORGANICOS Y ÉSTERES DE ÁCIDOS OBTENIDOS EN EL GENERO *Xestospongia*

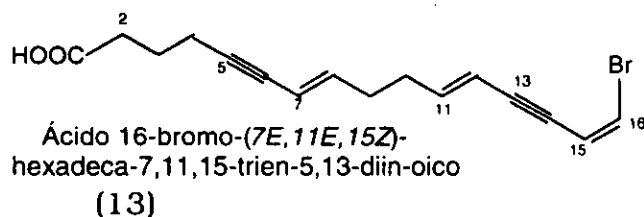
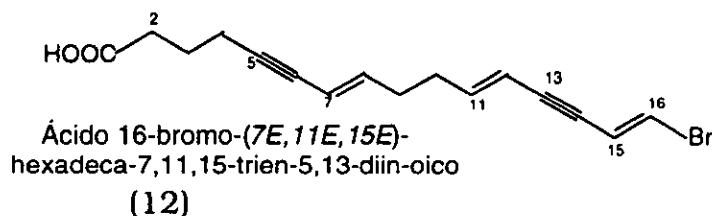
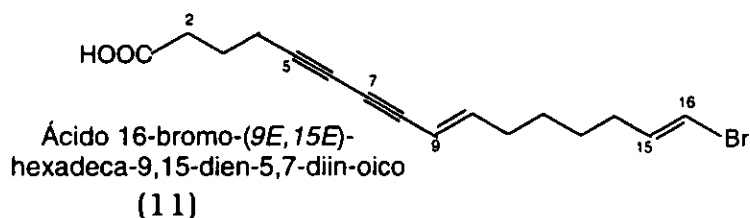
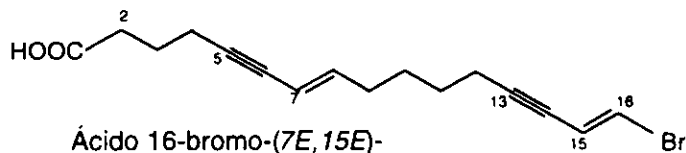
II.A. ÁCIDOS GRASOS DE CADENA LINEAL (saturados e insaturados):

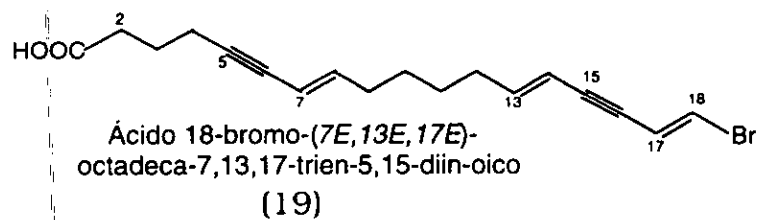
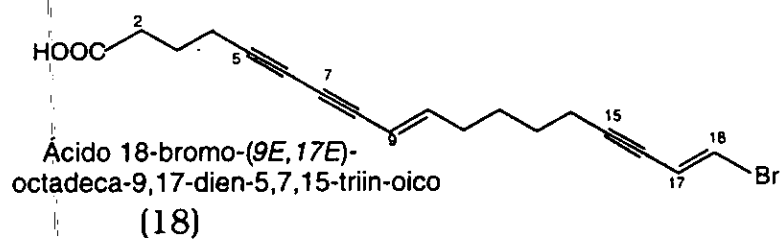
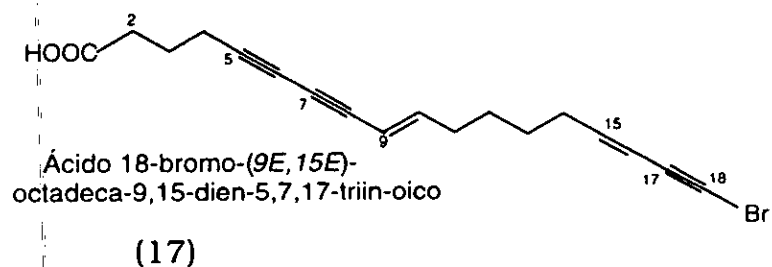
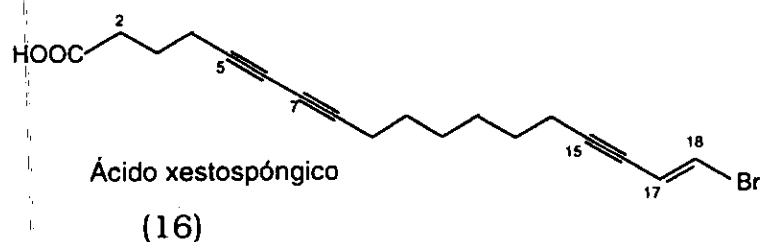
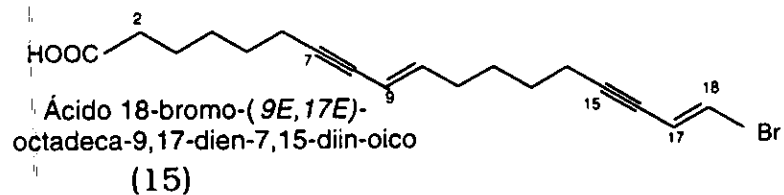
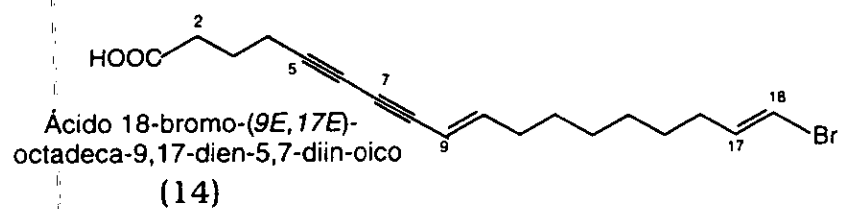
C₁₄, C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₁, C₂₂, C₂₃, C₂₄, C₂₅, C₂₆, C₂₇ Y C₂₈

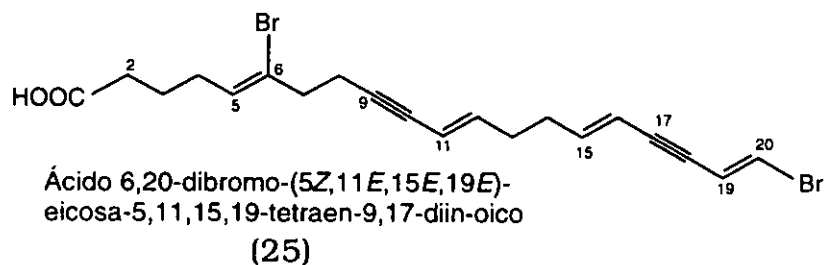
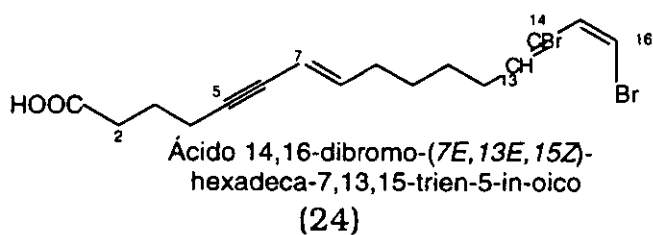
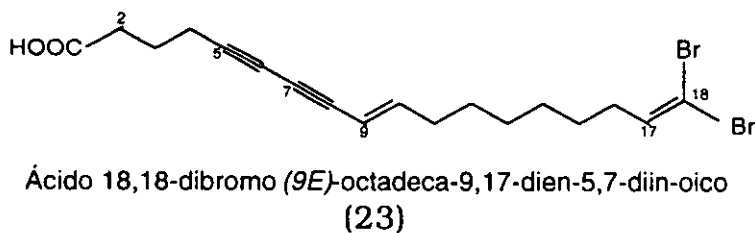
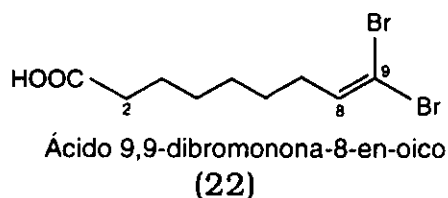
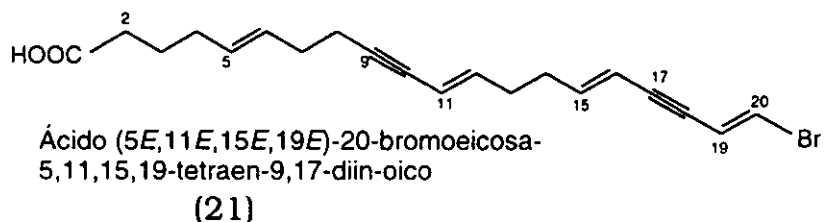
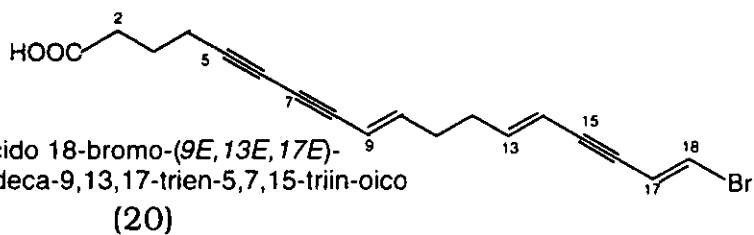
II.B. ÁCIDOS GRASOS DE CADENA RAMIFICADA (saturados e insaturados):

C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₂, C₂₃, C₂₄, C₂₇ Y C₂₈

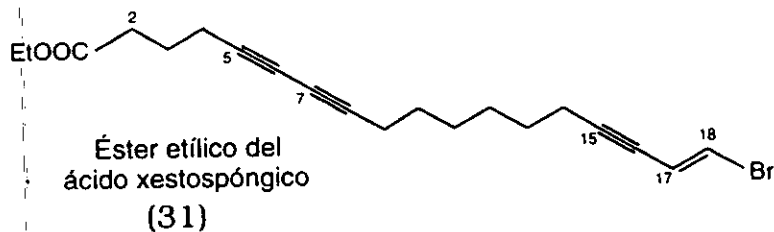
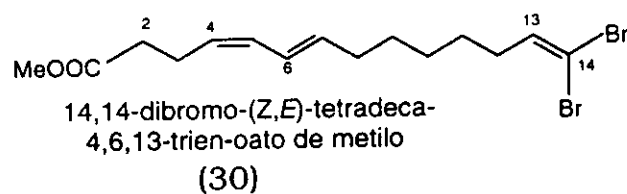
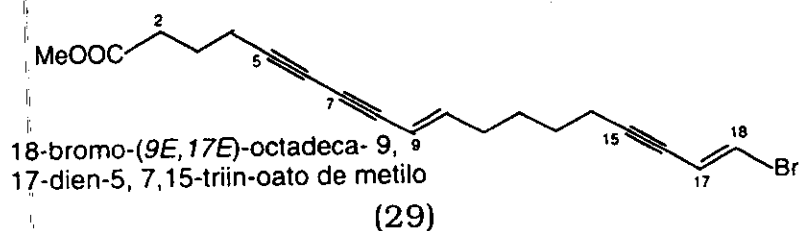
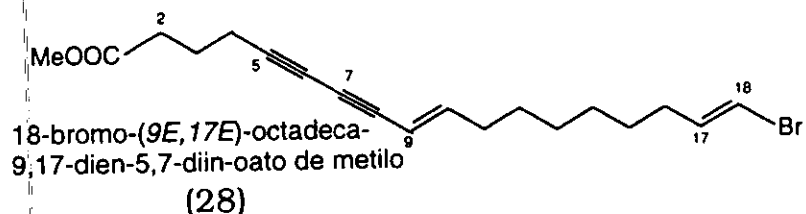
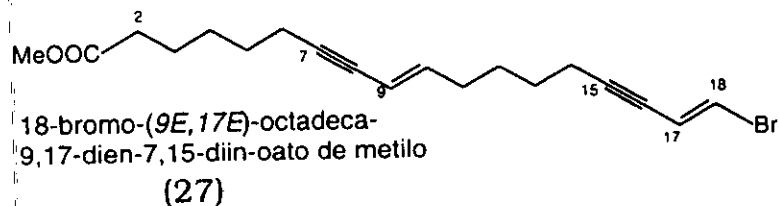
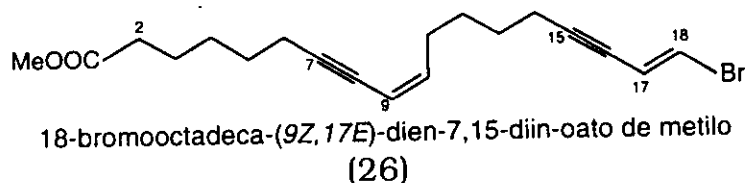
II.C. ÁCIDOS BROMADOS



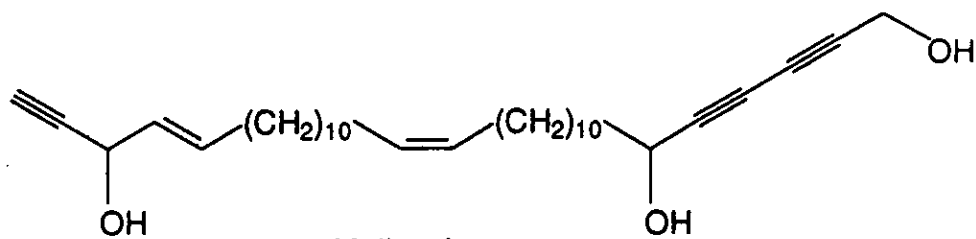




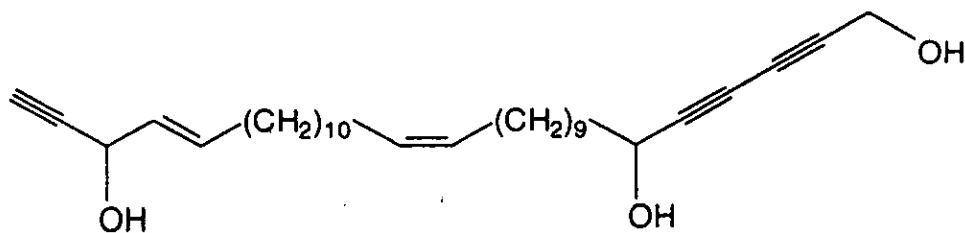
II.D ÉSTERES DE ÁCIDOS BROMADOS



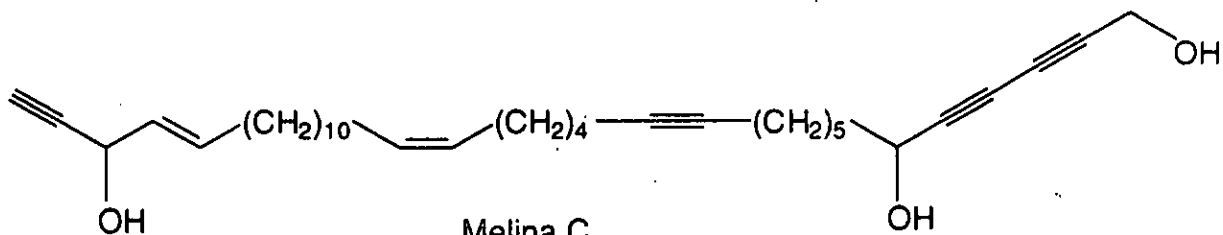
III. ALCOHOLES OBTENIDOS EN EL GENERO *Xestospongia*



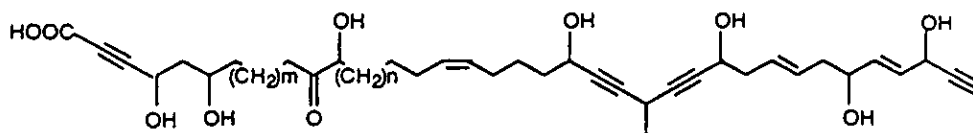
Melina A
(32)



Melina B
(33)

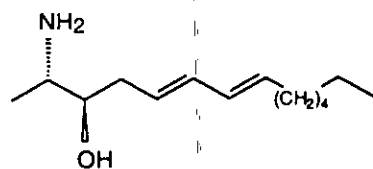


Melina C
(34)

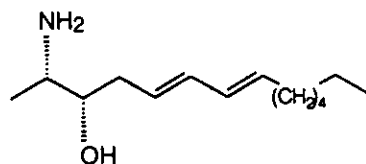


Nefeliosina A
 $m + n = 13$
(35)

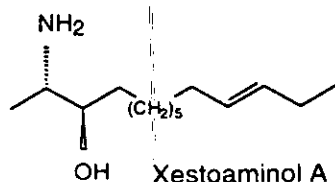
IV. AMINAS Y COMPUESTOS RELACIONADOS
OBTENIDOS DEL GENERO *Xestospongia*



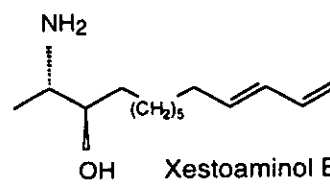
2(S)-aminotetradeca-5,7-dien-3(R)-ol
(36)



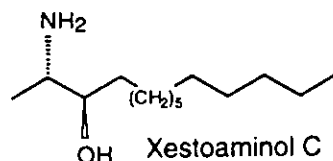
2(S)-aminotetradeca-5,7-dien-3(S)-ol
(37)



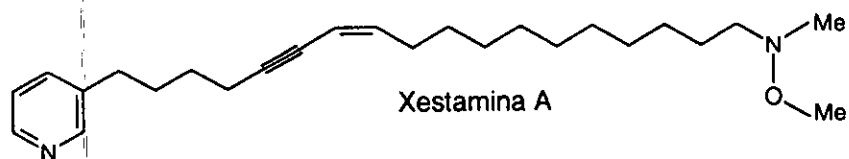
Xestoaminol A
(38)



Xestoaminol B
(39)

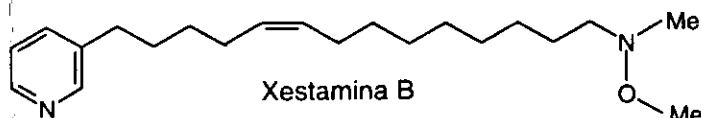


Xestoaminol C
(40)



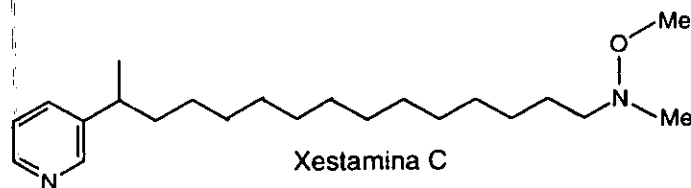
Xestamina A

(41)



Xestamina B

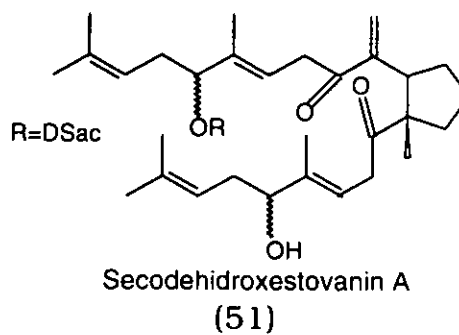
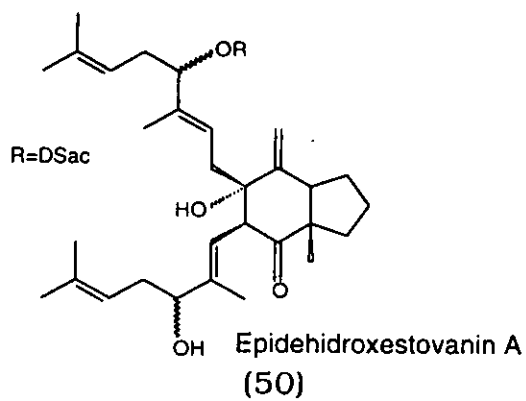
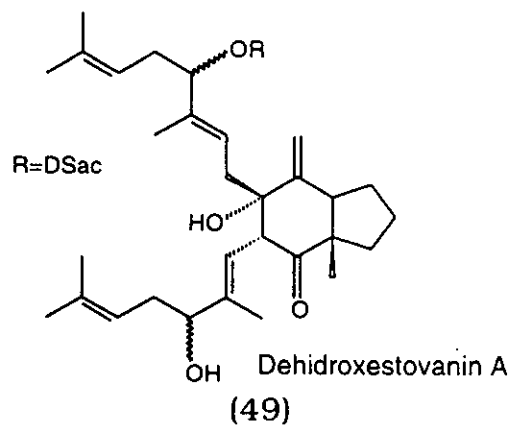
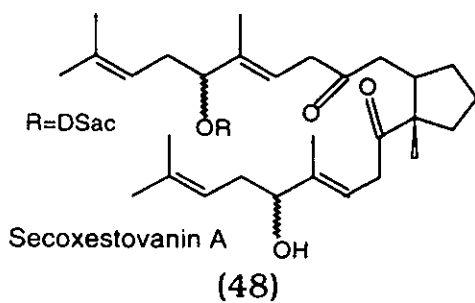
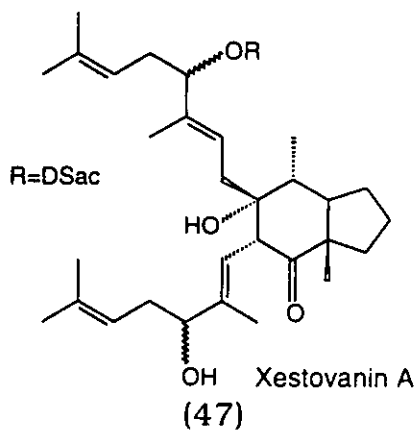
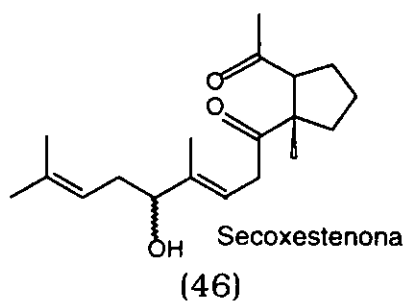
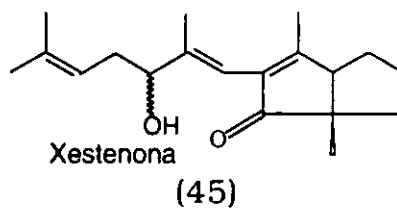
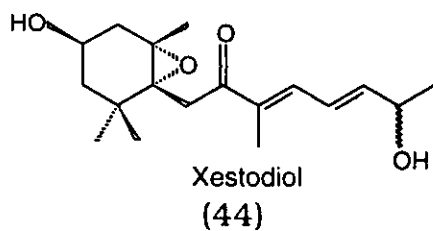
(42)

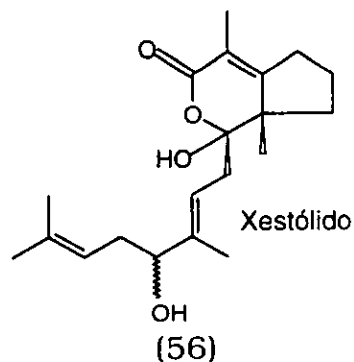
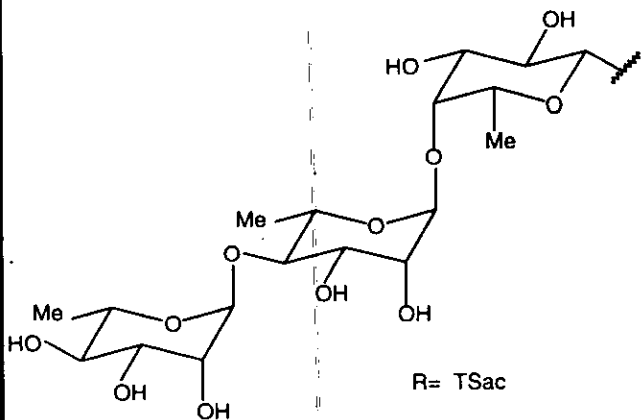
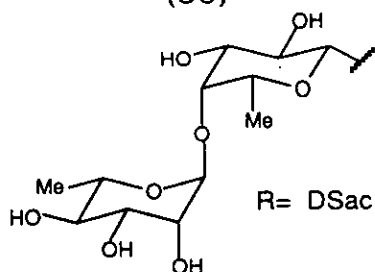
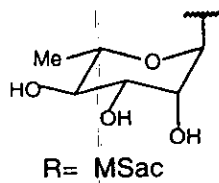
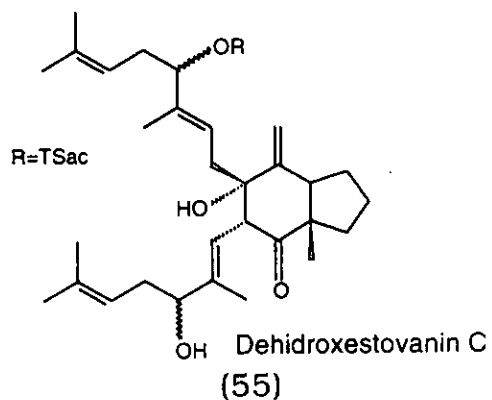
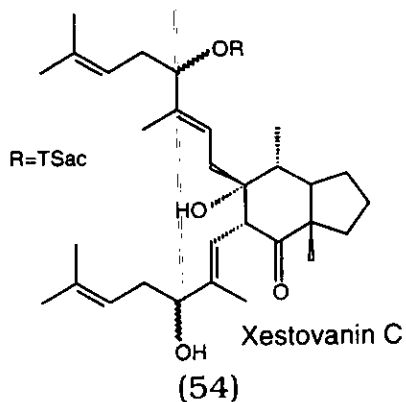
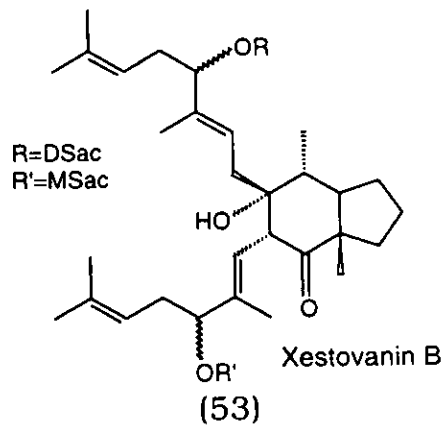
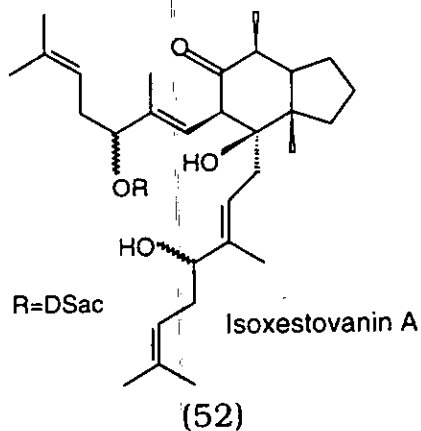


Xestamina C

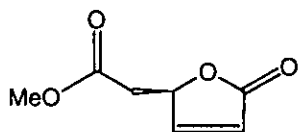
(43)

V. COMPUESTOS TERPENOIDES OBTENIDOS DEL GENERO *Xestospongia*



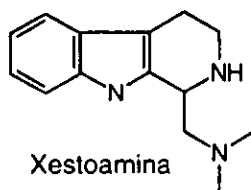


VI. COMPUESTOS HETEROCICLICOS OBTENIDOS
EN EL GENERO *Xestospongia*



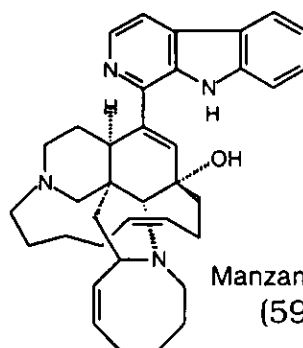
Ester metílico del ácido 3-en-
2-oxo-2,5-dihidrofurano-acético

(57)



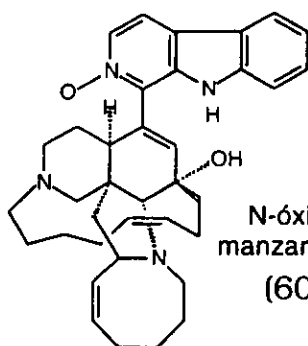
Xestoamina

(58)



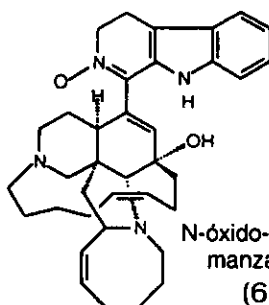
Manzamina A

(59)



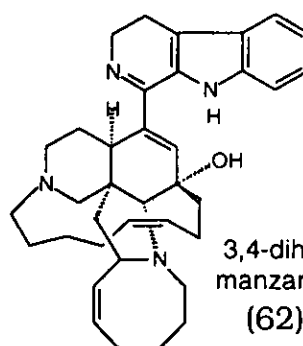
N-óxido-
manzamina A

(60)



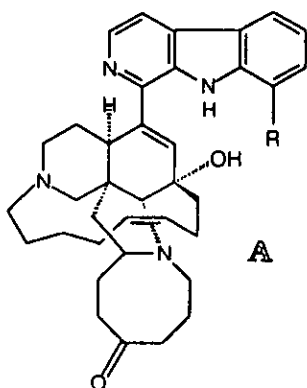
N-óxido-3,4-dihidro-
manzamina A

(61)

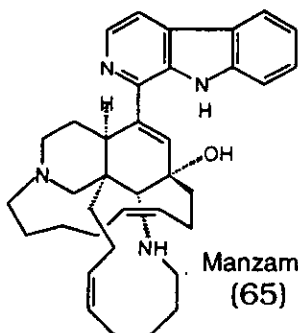


3,4-dihidro-
manzamina A

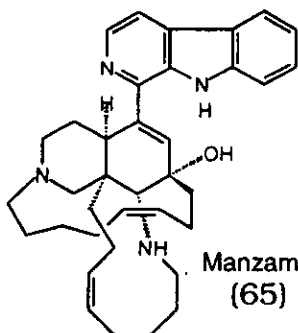
(62)



(63) R = H Manzamina E

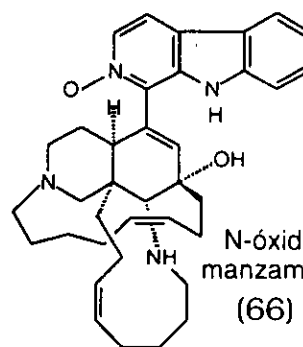


(64) R = OH Manzamina F



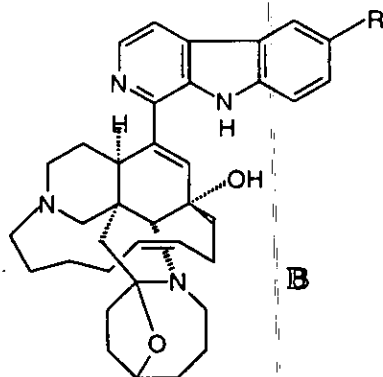
Manzamina J

(65)

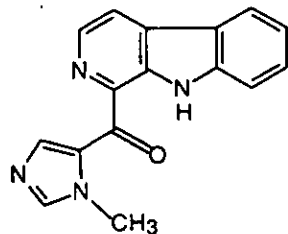


N-óxido-
manzamina J

(66)

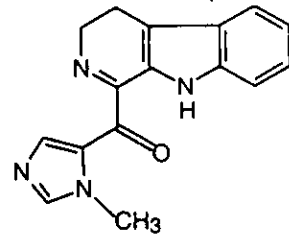


B



Xestomanzamina A

(69)

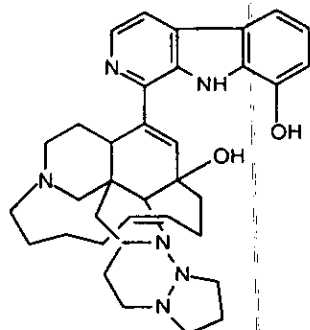


Xestomanzamina B

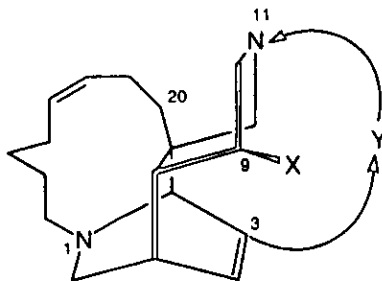
(70)

(67) R = H 6-deoximanzamina X

(68) R = OH Manzamina X

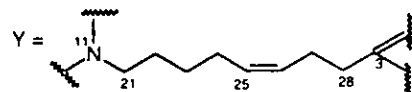


Keramina B
(71)



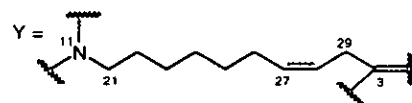
C

X = OH,



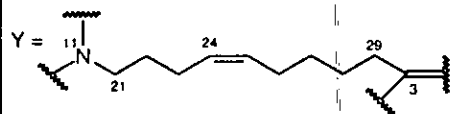
Ingenamina
(72)

X = OH,



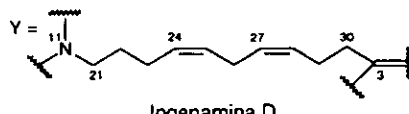
Ingenamina B
(73)

X = OAc,



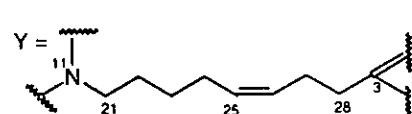
Acetato de ingenamina C
(74)

X = OH,

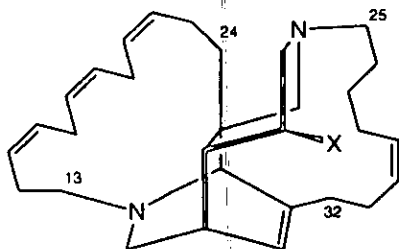


Ingenamina D
(75)

X = H,



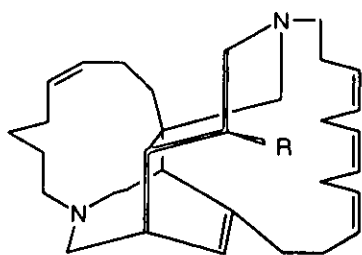
Keramafidin B
(76)



D

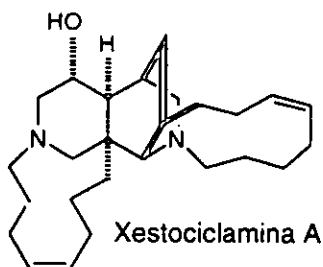
(77) X = OH Ingenamina E

(78) X = H Ingenamina F

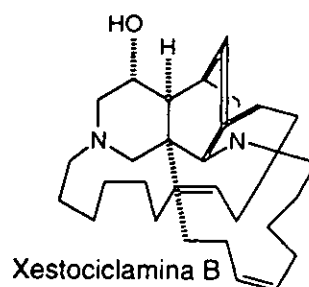


E

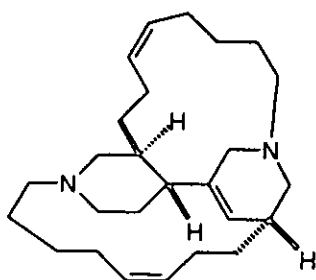
- (79) R= OH Ingamina A
 (80) R= H Ingamina B



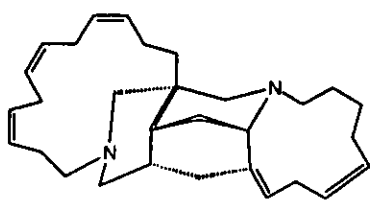
(81)



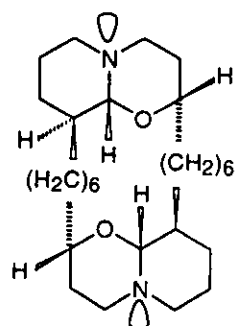
(82)



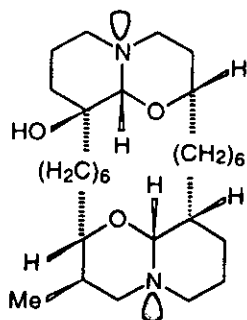
Haliciclamina B
 (83)



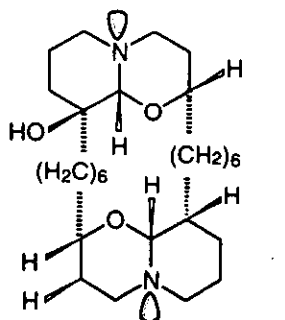
Madangamina A
 (84)



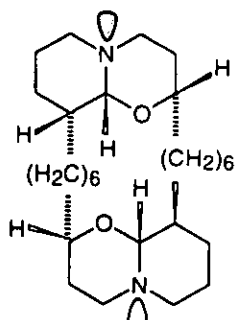
Xestospongina A
 (85)



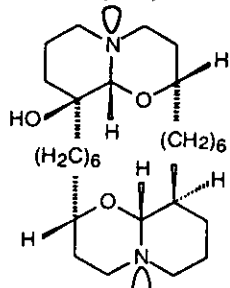
Xestospongina B
 (86)



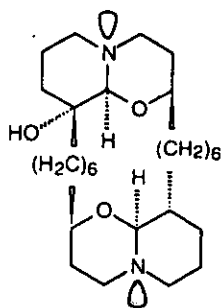
Demetilxestospongina B
 (87)



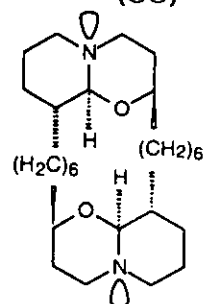
Xestospongina C
 (88)



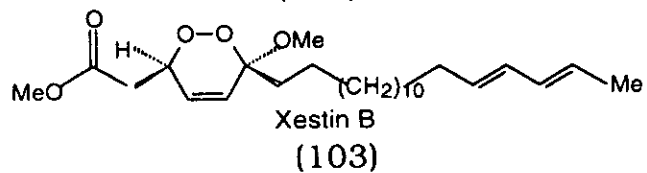
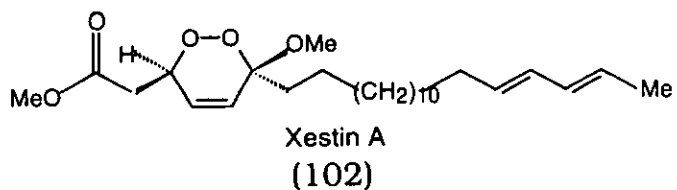
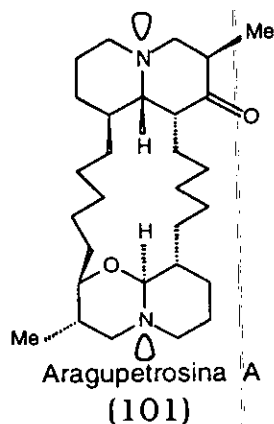
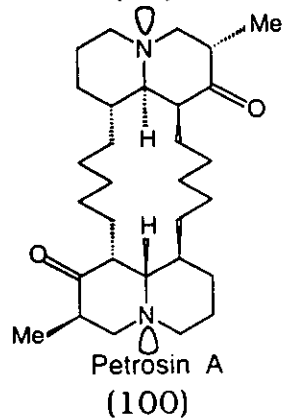
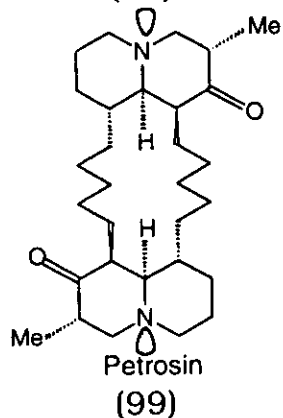
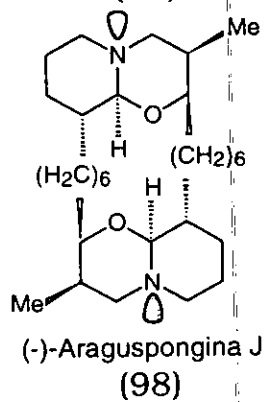
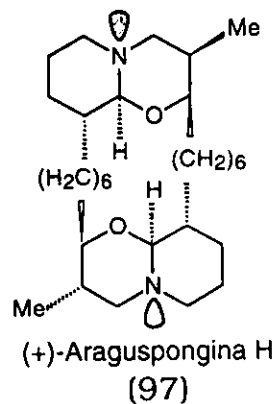
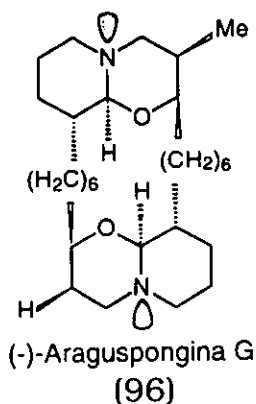
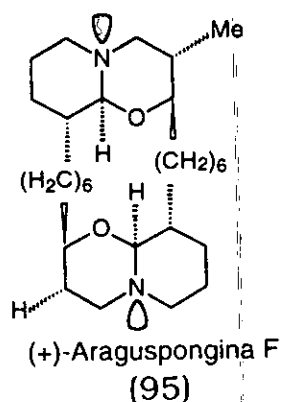
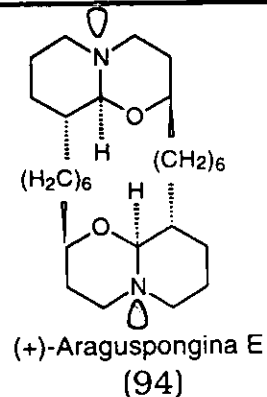
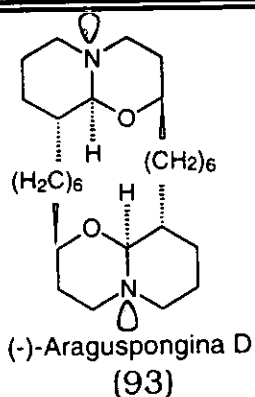
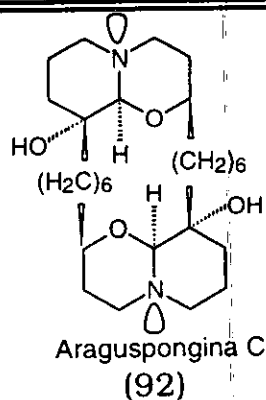
Xestospongina D
 (89)



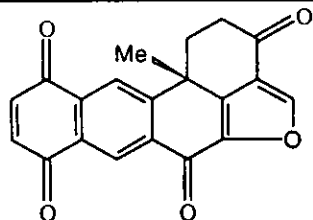
Araguspangina A
 (90)



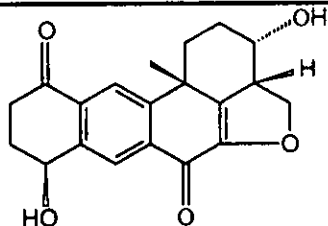
(+)-Araguspangina B
 (91)



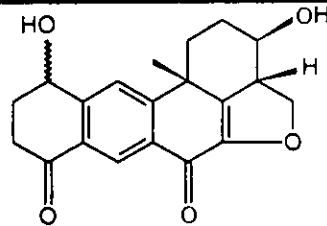
VII. QUINONAS Y COMPUESTOS RELACIONADOS
OBTENIDOS DEL GENERO *Xestospongia*



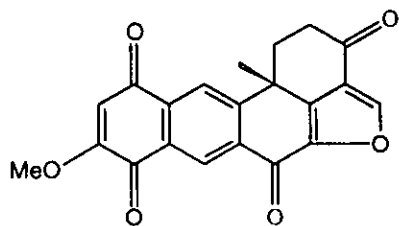
Halenaquinona
(104)



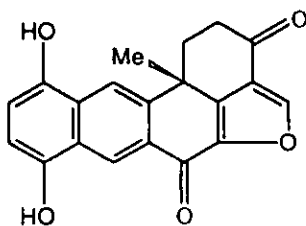
Tetrahidrohalenaquinona A
(105)



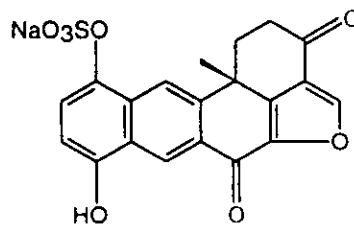
Tetrahidrohalenaquinona B
(106)



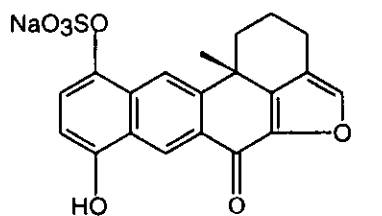
14-metoxihalenaquinona
(107)



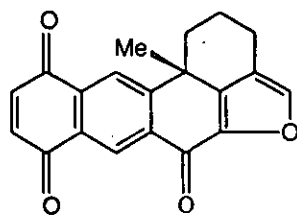
Halenaquinol
(108)



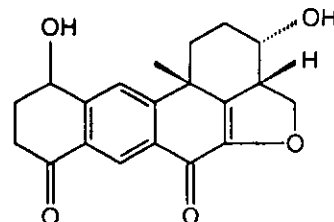
Sulfato sódico de halenaquinol
(109)



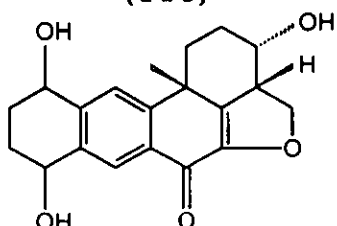
Sulfato sódico de Xestoquinol
(110)



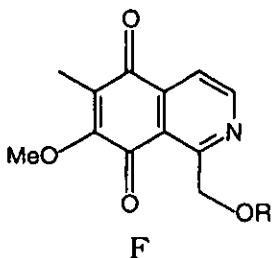
Xestoquinona
(111)



Xestosaprol A
(112)

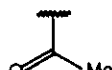


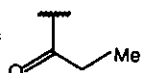
Xestosaprol B
(113)

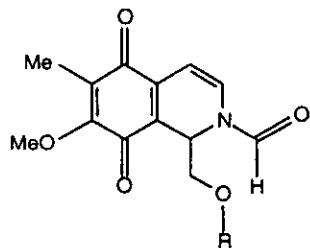


F

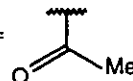
R= H Renierol (114)

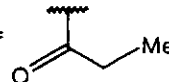
R=  Acetato de Renierol
(115)

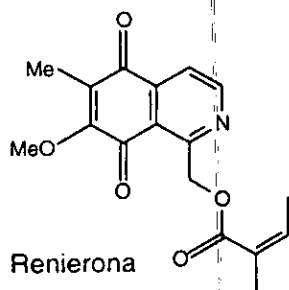
R=  Propionato de Renierol
(116)



G

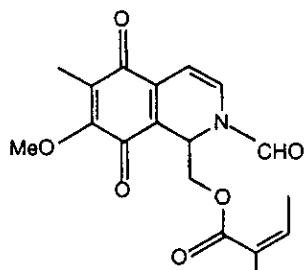
R=  Acetato N-formil-
1,2-dihidrorenierol
(117)

R=  Propionato N-formil-1,2-dihidro-
renierol (118)



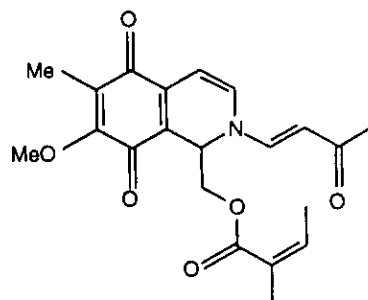
Renierona

(119)



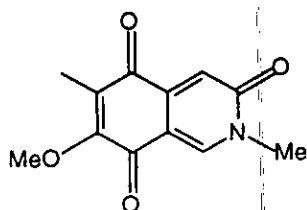
N-formil-1,2-dihidro-
renierona

(120)



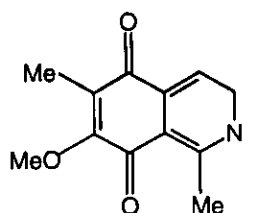
N-(3-oxo-1-butenil)-renierona

(121)



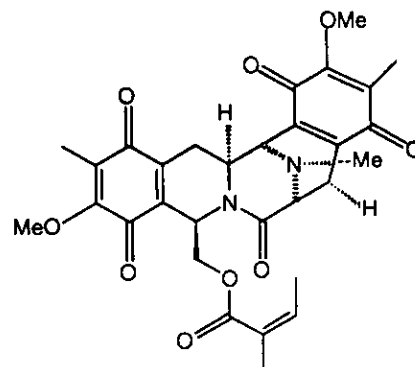
Mimosamicin

(122)



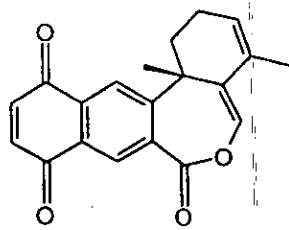
1,6-dimetil-7-metoxi-
5,8-dihidro-
isoquinolina-5,8-dione

(123)



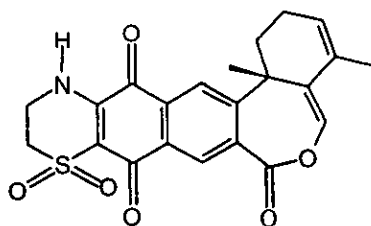
Renieramicina G

(124)



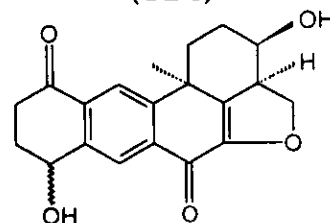
Xestoquinólido A

(125)



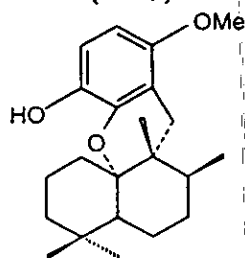
Xestoquinólido B

(126)



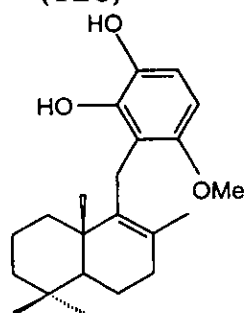
3,13-dideoxo-1,2,14,15-tetrahidro-
3,13-dihidroxi-halenaquinona

(127)



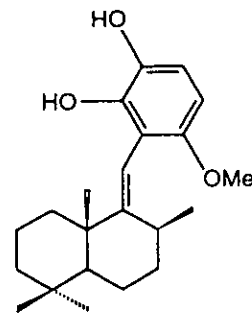
Estrongilin A

(128)



Wiedendiol A

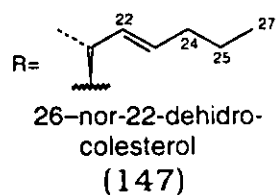
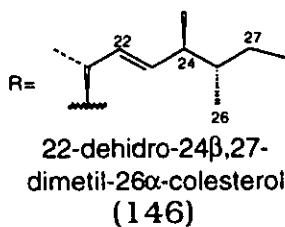
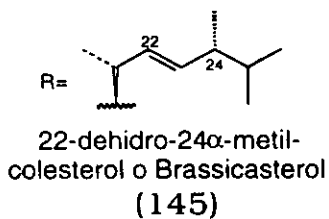
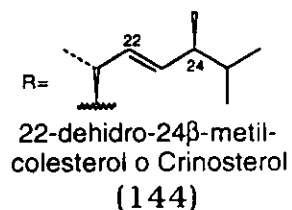
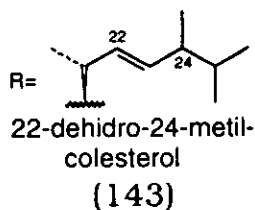
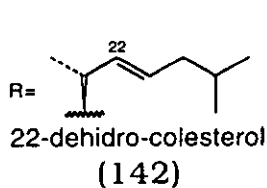
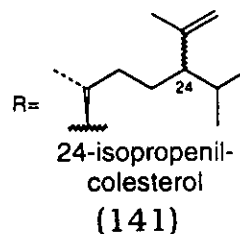
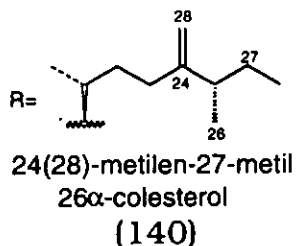
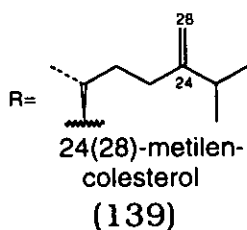
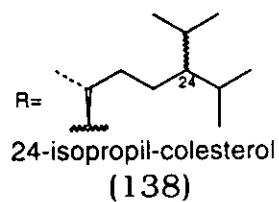
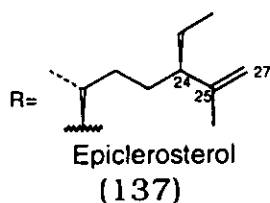
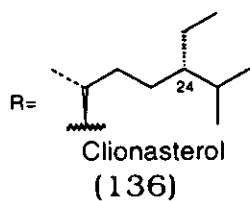
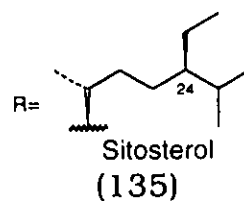
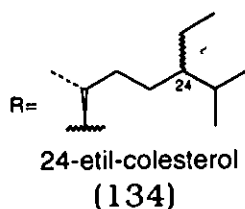
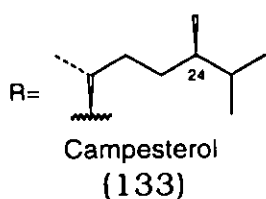
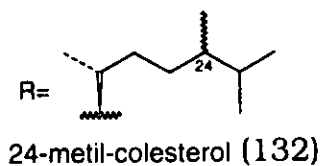
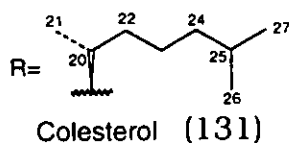
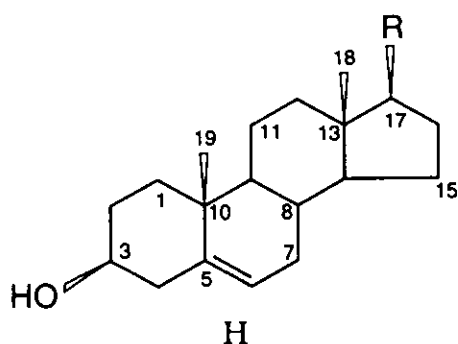
(129)

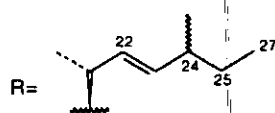


Wiedendiol B

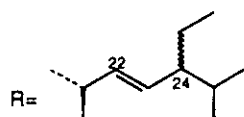
(130)

VIII. ESTEROLES OBTENIDOS DEL GENERO *Xestospongia*

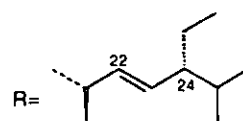




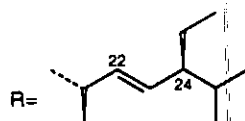
26-nor-22-dehidro-
24-metil-colesterol
(148)



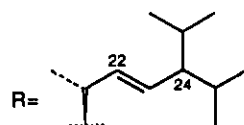
22-dehidro-24-etil-
colesterol
(149)



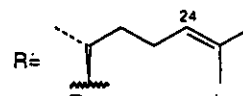
Poriferasterol
(150)



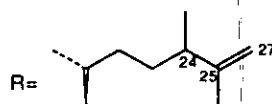
Estigmasterol
(151)



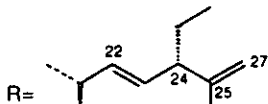
22-dehidro-24-
isopropil-colesterol
(152)



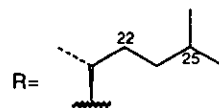
Desmosterol
(153)



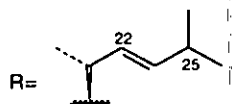
25(27)-dehidro-24-
metil-colesterol
(154)



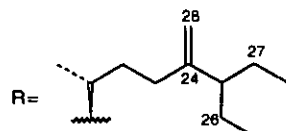
22,25-didehidro-24α-
etil-colesterol
(155)



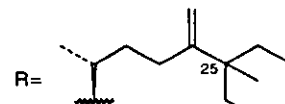
24-nor-colesterol
(156)



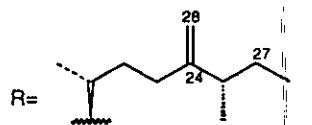
24-nor-22-dehidro-
colesterol
(157)



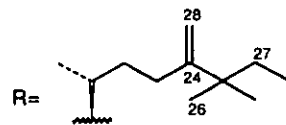
Xestosterol
(158)



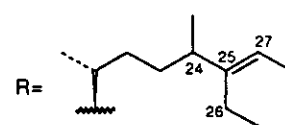
25-metil-xestosterol
(159)



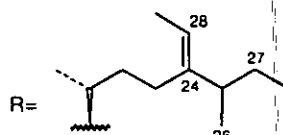
24(28)-dehidro-aplysterol
(160)



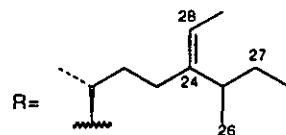
Mutasterol
(161)



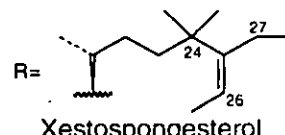
Verongulasterol
(162)



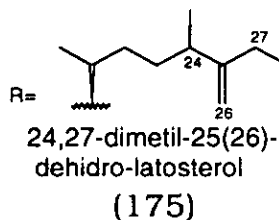
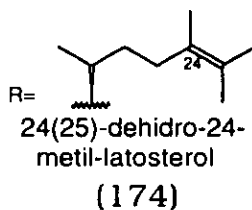
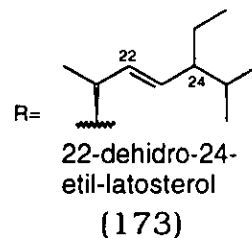
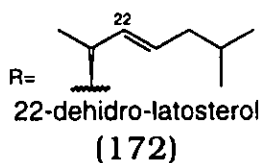
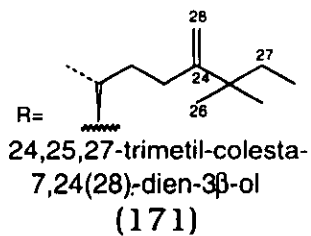
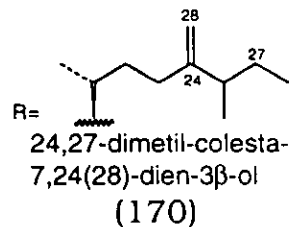
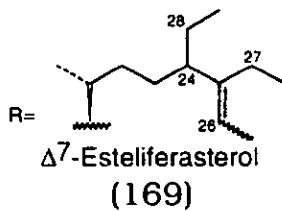
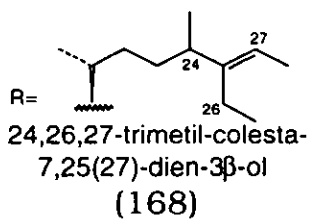
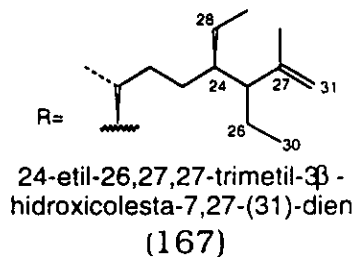
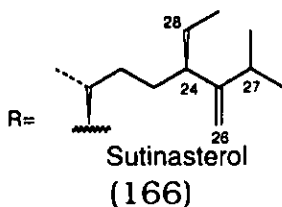
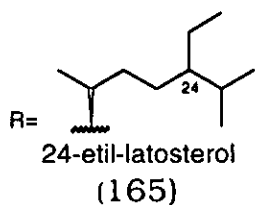
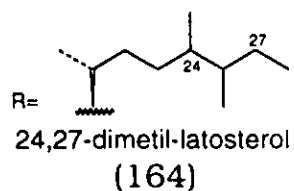
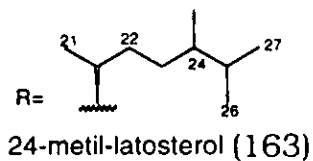
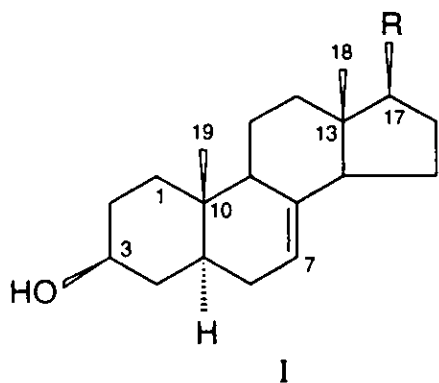
Fucosterol
(163)

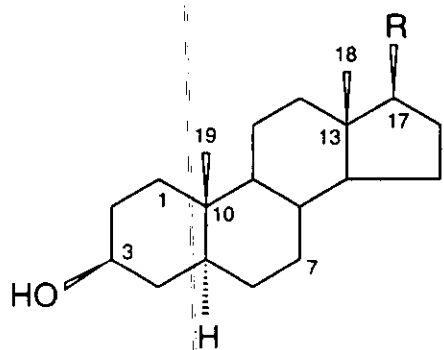


Isofucosterol
(164)

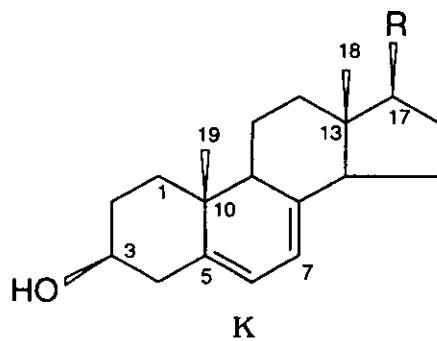
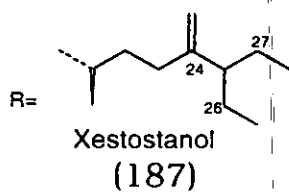
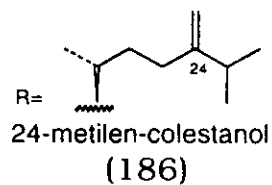
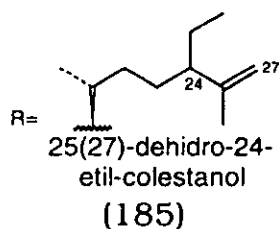
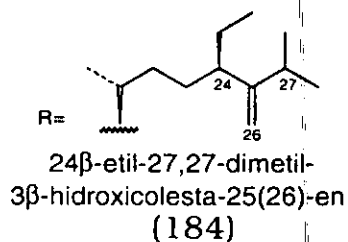
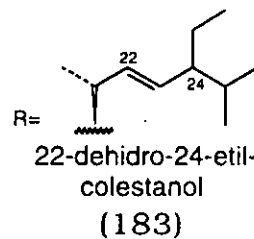
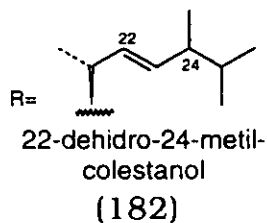
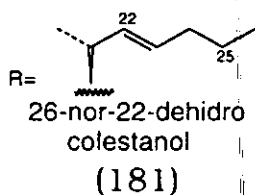
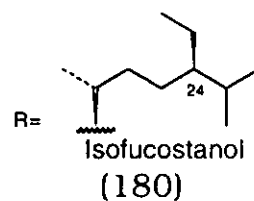
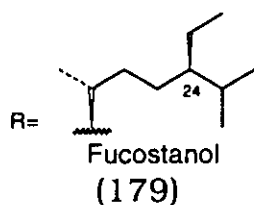
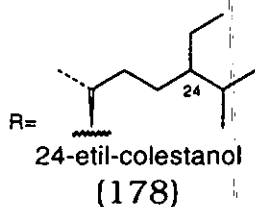
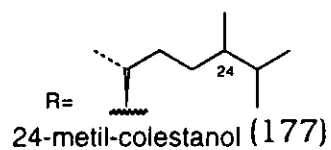
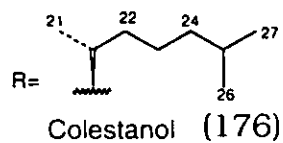


Xestospongesterol
(165)

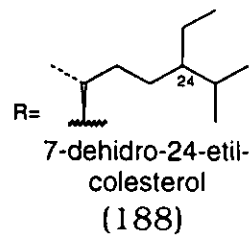


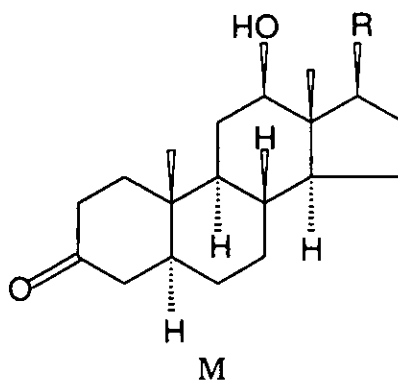
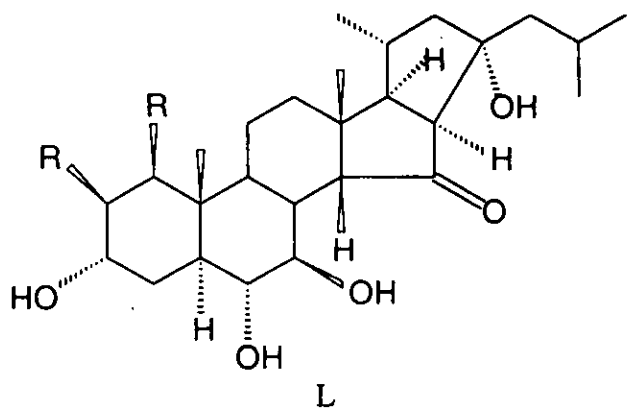


J



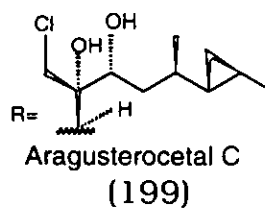
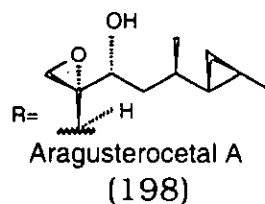
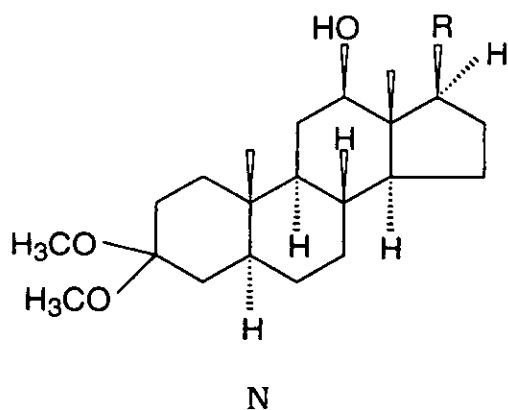
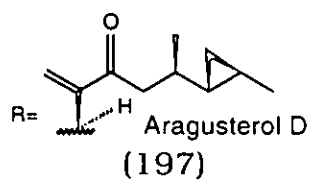
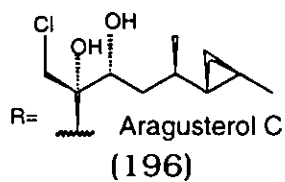
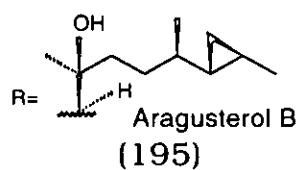
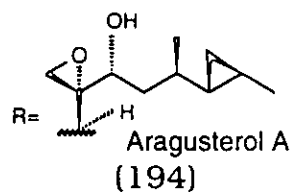
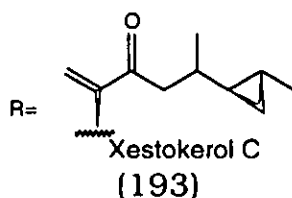
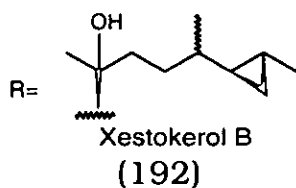
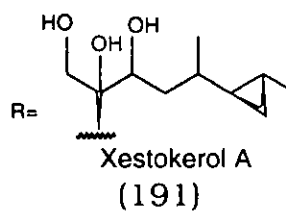
K





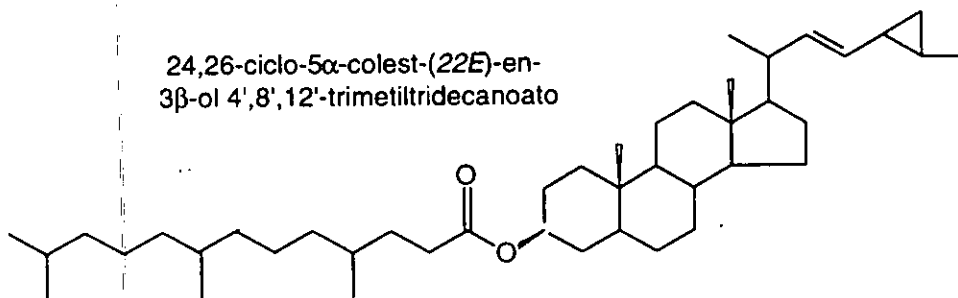
R= H Xestobergsterol A (189)

R= OH Xestobergsterol B (190)



CONTINUACIÓN

24,26-ciclo-5 α -colest-(22*E*)-en-
3 β -ol 4',8',12'-trimetiltridecanoato



(200)

ANEXO B

I. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS
DE OTRAS ESPECIES DEL GÉNERO *Xestospongia*

ESPECIE	AREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
<i>Xestospongia ashmorica</i>	Canal Manila, Isla Mindoro, Filipinas. Prof. = 25-30 m. Abril, 1994.	59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68	Esponja seca-congelada, extracción con A y MeOH sucesivamente, el residuo fue fraccionado con <i>n</i> -BuOH. La fracción de <i>n</i> -BuOH se sometió a CC Sílica-Gel (DCM-MeOH 9:1). De ésta las fracciones más polares se les quitó la Chi y se disolvieron en un mínimo de MeOH; el sobrenadante fue secado y cromatografiado en Sílica-60 (DCM- <i>n</i> PrOH-0.5 % NH ₄ OH) dando compuestos de interés; lo que no disolvió precipitó. Las fracciones más polares se analizaron por HPLC y uv.	Edrada. 1996. J.Nat. Prod. 59(11):1056-1060
<i>Xestospongia bergquistia</i>	Okinawa	192, 193	El extracto MeOH- ϕ -CH ₃ de la esponja fue fraccionado con AcOEt, <i>n</i> -BuOH y fracción acuosa. Las dos primeras fracciones se reunieron y se sometieron a CC Sílica-Gel seguido de CC Sephadex LH-20, seguido de HPLC fase reversa.	Shoji <i>et al.</i> , 1992. J.Org.Chem. 57: 2996-2997
	Okinawa Isla Orfeus e Islas Bajas (Arrecife de la Gran Barrera). Australia. Prof. = 15 m	192, 193 131, 132, 134, 139, 141, 142, 143, 144, 149, 158, 163, 164, 179, 180, 185, 190	Esponja seca-congelada, extracción con CHCl ₃ . El extracto se trató con carbón, se concentró y se sometió a una CC Florisil/Sílica-Gel (Hex-dietiléter 7:3), obteniéndose la fracción lipídica. Esta se sometió a HPLC fase normal y fase reversa en serie y cada fracción obtenida fue analizada por CG.	Takei <i>et al.</i> , 1993. Experientia 49: 145-149 Fromont <i>et al.</i> , 1994 Biochem.Syst.Ecol. 22 (7): 735-752
<i>Xestospongia caycedoi</i>	Isla Sand, Suva Harbor e Isla Fiji Prof. = 2 m	114, 122	Esponja congelada, liofilizada y extraída con MeOH. El extracto se fraccionó con Hex, CCl ₄ , CHCl ₃ y MeOH. La fracción de CHCl ₃ se sometió a CC Sephadex LH-20 (MeOH-CHCl ₃ 1:1), seguido por HPLC.	Mckee e Ireland. 1987. J. Nat.Prod. 50(4): 754-756
	Isla Sand, Suva Harbor e Isla Fiji Prof. = 5 m	114, 120, 122, 124	Esponja congelada, liofilizada y extraída con MeOH. El extracto se fraccionó con Hex, CCl ₄ , CHCl ₃ y MeOH. La fracción de CHCl ₃ se sometió a cromatografía Flash Sílica-Gel (MeOH-CHCl ₃ 1:1), de ésta, la fracción lipofílica se recromatografió en Flash fase reversa C ₁₈ , y las fracciones más polares se sometieron a CC Sephadex LH-20 (MeOH-CHCl ₃ 1:1), seguido de CC Flash fase reversa C ₁₈ y luego HPLC.	Davidson. 1992. Tetrahedron Lett. 33(26): 3721-3724
<i>Xestospongia coraloides</i>	Nueva Zelanda Ptor. = 30 m	131, 132, 134, 139, 142, 143, 147, 149, 153, 156, 154, 157, 179, 180, 181, 184, 185, 189	Esponja seca-congelada, extracción con CHCl ₃ . El extracto se trató con carbón, se concentró y se sometió a una CC Florisil/Sílica-Gel (Hex-dietiléter 7:3), obteniéndose la fracción lipídica. Esta se sometió a HPLC fase normal y fase reversa en serie y cada fracción obtenida fue analizada por CG.	Fromont <i>et al.</i> , 1994 Biochem.Syst.Ecol. 22 (7): 735-752

CONTINUACIÓN

ESPECIE	AREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
<i>Xestospongia wiedenmayeri</i>	Al suroeste de la isla Acklin, Bahamas. Prof. = 21-27 m	41, 42, 43	Esponja congelada, extracción con MeOH-CHCl ₃ (2:1). El extracto fue concentrado y la fracción de suspensión acuosa se extrajo con AcOEt. El extracto de AcOEt se cromatografió en un contador centrífugo (Hept-DCM-MeCN 10:3:7). Las fracciones 3 y 4 se reunieron, se sometieron a HPLC fase reversa C ₁₈ (MeOH) y en columna amino. La fracción 5 se purificó en HPLC fase reversa C ₁₈ , sucesivamente en cromatografía Sílica-Gel (Hept-AcOEt 1:1).	Sakemi <i>et al.</i> , 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 995-999
<i>Xestospongia cf. carbonaria</i>	Vanuatú Marzo, 1990	107, 126	Esponja fresca, extracción con MeOH (45 %). El extracto acuoso-metanólico fue fraccionado en Hex, CCl ₄ y DCM y los remanentes solubles en H ₂ O se extrajeron con BuOH. La fracción de DCM se sometió a CC Flash (DCM-MeOH). La fracción 1 se purificó y la fracción 2 se sometió a HPLC fase reversa (MeOH 70 %).	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
<i>Xestospongia cf. carbonaria</i>	Laguna Benga, Isla Fiji Prof. = 24-33 m Enero, 1991	104, 105, 106, 107, 108, 109, 111, 125, 127	Esponja fresca, extracción con MeOH (45 %). El extracto acuoso-metanólico fue fraccionado en Hex, CCl ₄ y DCM y los remanentes solubles en H ₂ O se extrajeron con BuOH. La fracción de DCM se sometió a CC Flash (Hex-AcOEt). Las fracciones 2-5 se sometieron a HPLC (Hex-AcOEt 1:1); las fracciones 8-10 se sometieron a HPLC fase normal (Hex-AcOEt 1:1); las fracciones 6-7 se sometieron a placa circular (MeOH-DCM 0.5:9.5) y la fracción 1 también se sometió a placa circular Hex-AcOEt 9:1). La fracción de BuOH también se purificó.	Ani <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
<i>Xestospongia cf. wiedenmayeri</i>	Al noroeste de la Isla Crooked, Bahamas. Prof. = 37 m	128, 129, 130	Esponja congelada, liofilizada y pulverizada; extracción en un soxhlet con EP durante 24 hrs. El extracto se concentró y se sometió a una CC Sílica-Gel (Hept-Hept/CHCl ₃ 1:4). La fracción 1 y 2 se obtuvieron ya puras; la fracción 3 se recromatografió en las mismas condiciones, y la fracción 4 se recromatografió (Hept-CHCl ₃ 1:1 hasta CHCl ₃ -MeOH 9:1).	Coval <i>et al.</i> , 1995 Bioorg.Med. Chem.Lett. 5(6): 605-610

II. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS EN LA ESPONJA MARINA *Xestospongia exigua*

AREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Mar del Sur de China, Provincia de Kuang-xi	131, 132, 134, 139, 142, 144, 145, 148, 149, 150, 157, 163, 177	Espónja seca, extracción con A en un extractor soxhlet. El extracto de A se sometió a CC en Sílica. La fracción de esteroides se sometió a TLC-preparativa obteniéndose los diferentes esteroides.	Li <i>et al.</i> , 1981. J.Am.Chem. Soc. 103: 115-119
Palau y oeste de las Islas Carolina. Agosto, 1977 y 1981.	104	Espónja liofilizada, extracción a temperatura ambiente con Hex, benceno, DCM y EtOH. El extracto bencénico fue cromatografiado sobre Bio-Beads S-X ₆ , seguido de Bio-Sil A y luego HPLC.	Roll <i>et al.</i> , 1983. J.Am.Chem.Soc. 105: 6177-6178
Palau y Nueva Guinea (dragado o buceo)	Ácidos grasos totales: C ₁₄ , C ₁₅ , C ₁₆ , C ₁₈ , C ₁₉ , C ₂₀ , C ₂₄ , C ₂₅ Y C ₂₆ . Ramificados: C ₁₅ , C ₁₆ , C ₁₈ Y C ₂₀ . Otros de cadena inusual.	Espónja congelada: 1) 50 g macerada con CHCl ₃ -MeOH (2:1), filtrada, lavada con KCl (0.05 N) y secada con Na ₂ SO ₄ . 2) 71 g percolación con DCM. 3) 50 g percolación gradual DCM, MeOH y DCM-MeOH, lavados con KCl (0.05 N). Cada lote fue concentrado y metilado por el método de Carreau-Dubacq. Los ésteres metílicos fueron purificados con disolventes de diferente polaridad, seguido de un análisis por HPLC y CG. Para obtener el grado de saturación se hizo reacción de hidrogenación seguido del análisis por CG.	Bergquist <i>et al.</i> , 1984. Biochem.Syst. Ecol. 12(1): 63-84
Australia	85, 86, 88, 89	No mencionan nada con respecto a este punto.	Nakagawa <i>et al.</i> , 1984. Tetrahedron Lett. 25(30): 3227-3230
Hawai	104	No mencionan nada con respecto a este punto.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1985. Tetrahedron Lett. 26(32): 3833-3836
Australia	85	No mencionan nada con respecto a este punto.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1989. Chem. Pharm. Bull. 37(6): 1676-1678
Isla Magnetic (5 m); Arrecife Britomart (12 m), Isla Orfeus (5 m) y Darwin, Australia.	131, 132, 134, 143, 149, 164, 168, 177, 181, 188	10 g de la esponja seco-congelada, extracción con CHCl ₃ . El extracto se trató con carbón, se concentró y se sometió a una CC Florisil/Sílica-Gel (Hex-dietiléter 7:3), obteniéndose la fracción lipídica. Ésta se sometió a HPLC fase normal y fase reversa en serie y cada fracción obtenida fue analizada por CG/EM.	Fromont <i>et al.</i> , 1994 Biochem.Syst. Ecol. 22(7): 735-752

III. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS
EN LA ESPONJA MARINA *Xestospongia ingens*

ÁREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Cerca de Sek Point, Madang, Papúa, Nueva Guinea Prof. = 15-20 m	72	Esponja fresca, extracción con MeOH . Repetida fraccionación del extracto metanólico por Sephadex LH-20 (AcOEt-MeOH-H ₂ O 40:10:4).	Kong <i>et al.</i> , 1994 Tetrahedron Lett. 35(11): 1643-1646
Cerca de Sek Point, Madang, Papúa, Nueva Guinea	79, 80	Esponja congelada, extracción con MeOH y fraccionación con solución acuosa de Hex-AcOEt. La fracción de Hex se somete a cromatografía Flash (AcOEt-Hex- <i>i</i> -Pr ₂ NH 50:50:1 a AcOEt-Hex 1:1). La fracción de AcOEt se sometió a cromatografía Sephadex LH-20 (AcOEt-MeOH-H ₂ O 40:10:4) seguido de cromatografía Flash (AcOEt) y luego su purificación en TLC (AcOEt- <i>i</i> -Pr ₂ NH 92:8).	Kong <i>et al.</i> , 1994 Tetrahedron 50(21): 6137-6144
Cerca de Sek Point, Madang, Papúa, Nueva Guinea	84	Esponja congelada, extracción con MeOH y fraccionación con solución acuosa de Hex-AcOEt. La fracción de Hex se somete a cromatografía Flash Sílica-Gel (AcOEt-Hex 1:9 a AcOEt-Hex 1:1), seguido de HPLC fase normal (AcOEt-Hex- <i>i</i> -Pr ₂ NH 98.4:1.5:0.1).	Kong y Andersen. 1994 J.Am.Chem.Soc. 116: 6007-6008
Cerca de Sek Point, Madang, Papúa, Nueva Guinea En 1992.	72, 73, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 84	Esponja congelada, extracción con MeOH y fraccionación con solución acuosa de Hex-AcOEt. La fracción de Hex se somete a cromatografía Flash Sílica-Gel (AcOEt-Hex 1:9 a AcOEt-Hex 1:1) obteniéndose 3 fracciones. La fracción de AcOEt se sometió a cromatografía Sephadex LH-20 (AcOEt/MeOH-MeOH-H ₂ O 40:10:4) obteniéndose 3 fracciones: la primera en estado puro; la segunda se purificó por recromatografía Sephadex LH-20 (AcOEt/MeOH-MeOH-H ₂ O 40:5:2), seguido de TLC Sílica-preparativa (AcOEt-MeOH 75:25); y la tercera se purificó por recromatografía en las mismas condiciones seguido de HPLC fase normal (AcOEt-Hex- <i>i</i> -Pr ₂ NH y/o MeOH) y recristalización con MeOH. El residuo de la cristalización fue acetilado.	Kong y Andersen. 1995 Tetrahedron. 51(10): 2895-2906

IV. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS
EN LA ESPONJA MARINA *Xestospongia muta*

AREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Summerland Key, Florida	24	Esponja fresca, macerada con <i>i</i> PrOH, se concentró y se disolvió en H ₂ O extrayéndose con DCM. El extracto de DCM se fraccionó de acuerdo a Kupchan y la fracción de CCl ₄ se cromatografió en Sílica-Gel dando un ácido inestable el cual se esterificó con CH ₂ N ₂ .	Schmitz y Gopichand. 1978. Tetrahedron Lett. (39): 3637-3640
Arrecife Lighthouse, Belice	131,158,187	Esponja congelada, macerada con MeOH. El extracto metanólico se concentró y se fraccionó en éter y H ₂ O, aislándose la fracción de esteroides, la cual se purificó en cromatografía Sílica-Gel, se acetiló y se trató por TLC-argéntica y por HPLC fase reversa.	Kokke <i>et al.</i> , 1979. J.Org.Chem. 44(19): 3385-3388
Barbados	131, 132, 134, 139, 140, 141, 142, 144, 145, 146, 148, 149, 155, 160, 161, 162, 164, 176, 177	Esponja congelada, homogenizada. Extracción con CHCl ₃ , MeOH y H ₂ O. El extracto de CHCl ₃ se sometió a una CC Sílica-Gel; la fracción de Hex-Éter (1:1) contenía los esteroides libres, los cuales fueron acetilados y separados por TLC-argéntica (Hex-φ-CH ₃ 3:2) y saponificados con NaOH-MeOH.	Li <i>et al.</i> , 1981. J.Am.Chem. 103: 115-119
Cerca de la Parguera, Puerto Rico Marzo, 1986	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, Hidrocarburos ramificados y de cadena inusual (IB e IC)	Esponja fresca macerada con CHCl ₃ -MeOH (1:1), obteniéndose una fracción total de lípidos la cual se sometió a una cromatografía con NH ₄ -OH tratado con ácido silícico (100-200 de malla). La fracción de lípidos neutros se sometió a CC (Hex-Éter 1:1), en donde las primeras fracciones fueron analizadas por CG/EM.	Carballeira <i>et al.</i> , 1988. Mar.Chem. 24: 193-198
Cerca de la Parguera, Puerto Rico Marzo, 1986	Ácidos grasos totales C ₁₄ -C ₂₁ y C ₂₈ . De cadena ramificada C ₁₅ -C ₁₉ . Insaturada C ₁₈ y C ₂₈	Esponja fresca macerada con CHCl ₃ -MeOH (1:1), obteniéndose una fracción total de lípidos la cual se sometió a una cromatografía con NH ₄ -OH tratado con ácido silícico (100-200 de malla). La fracción de acil-grasos se obtuvieron como metil ésteres por reacción con metanol y cloro-hidrogenado seguido por una CC (Hex-Éter 9:1), en donde los ésteres metílicos resultantes fueron analizados por CG/EM. Para localizar dobles enlaces se llevaron a cabo los derivados N-acilpirrolididos seguidos de una extracción etérea por CCF.	Carballeira y Maldonado. 1988. Lipids 23(7):682-684
Isla Magueyes, al suroeste de Puerto Rico Prof. = 30 m	131, 132, 134, 140, 141, 146, 147, 154, 157, 158,159, 160, 171	Obtención y análisis de la fracción esteroidal. (No dan más detalle)	Kerr <i>et al.</i> , 1991 J.Org.Chem. 56: 63-66
Isla Columbus, Bahamas En 1988.	11, 12, 14, 17, 18, 19, 20, 28	Esponja seca-congelada, extracción con AcOEt y MeOH. La fracción de AcOEt se somete a una CC Sílica-Gel (Me ₂ CO-Hex 2:8 a MeOH-DCM 5:95) y luego en HPLC fase reversa.	Patil <i>et al.</i> , 1992 J. Nat.Prod. 55 (9): 1170-1177
Puerto Rico Prof. = 27 m	131, 132, 134, 139, 142, 143, 147,149, 158, 160, 161, 162, 163,164, 166, 167, 171, 174, 175,176, 179, 181, 182, 183,185, 187	Esponja seca-congelada, extracción con CHCl ₃ . El extracto se trató con carbón, se concentró y se sometió a una CC Florisil/Sílica-Gel (Hex-dietiléter 7:3) , obteniéndose la fracción lipídica. Esta se sometió a HPLC fase normal y fase reversa en serie y cada fracción obtenida fue analizada por CG.	Fromont <i>et al.</i> , 1994 Biochem.Syst.Ecol. 22 (7): 735-752

V. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS
EN LA ESPONJA MARINA *Xestospongia sapra*

ÁREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Zamamijima, Okinawa, Japón Julio	108, 109	El extracto acetónico de la esponja fue fraccionado por partición en una mezcla de H ₂ O/AcOEt y la fracción acuosa se fraccionó con-BuOH. La fracción de AcOEt y BuOH, cada una por separado se sometió a CC.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1985 Chem.Pharm.Bull. 33(3): 1305-1308
Kerama Rettó, Okinawa, Japón Prof.= 10-20 m	111	Esponja fresca, extracción con MeOH y fraccionación por partición. La fracción de benceno se somete a CC Sílica-Gel (CHCl ₃), en donde las fracciones de interés se recromatografiaron en Sílica-Gel (AcOEt-Hex 2:3).	Nakamura <i>et al.</i> , 1985 Chemistry Lett.: 713-716
Islas Kerama, Okinawa, Japón	104, 105, 109, 110, 111, 112, 113	Esponja congelada, extracción con MeOH y fraccionación con AcOEt-H ₂ O. La fase acuosa fue extraída con BuOH. La fracción de AcOEt se sometió a CC Sílica-Gel (Hex-Me ₂ CO), seguido de HPLC. La fracción de BuOH se sometió a CC fase reversa C ₁₈ (MeOH 40 %-AcOH 0.1 %) seguida de cromatografía Gel-Toyopearl HW-40F (MeOH).	Kobayashi <i>et al.</i> , 1992 J.Nat.Prod. 55(7): 994-998
Isla Zamami, Okinawa, Japón	108, 109	Esponja fresca, extracción con MeOH y fraccionación por partición. La fracción de benceno se somete a CC Sílica-Gel (CHCl ₃), en donde las fracciones de interés se recromatografiaron en Sílica-Gel (AcOEt-Hex 2:3).	Kitagawa y Kobayashi. 1993 Gazz.Chim.Italiana 123: 321-327
Okinawa, Japón	111	Esponja fresca, extracción con MeOH . El extracto metanólico fue cromatografiado sucesivamente en CC Sílica-Gel hasta obtener el compuesto de interés.	Sakamoto <i>et al.</i> , 1995 Biochem. 34: 12570-12575

VI. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS
EN EL GÉNERO *Xestospongia*: *Xestospongia* sp.

AREA DE RECOLECTA	DESCRIPCIÓN	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Caribe	No mencionan nada con respecto a este punto.	158, 165	Obtención de la fracción esteroideal. Análisis por CG capilar, las fracciones se sometieron a HPLC (MeOH).	Li y Djerassi, 1981. J. Am. Chem. Soc. 103: 3606-3608
		159	Mismo método de extracción, análisis y purificación.	Li <i>et al.</i> , 1981. J. Org. Chem. 46: 3867-3870
Papúa; Nueva Guinea	No mencionan nada con respecto a este punto.	Ácidos grasos totales C ₁₄ a C ₂₈ . De cadena ramificada C ₁₅ , C ₁₇ , C ₁₈ , C ₂₀ , C ₂₂ , C ₂₃ , C ₂₄ , C ₂₇ , C ₂₈ . De cadena inusual.	Esponja congelada. 1) Macerada con CHCl ₃ -MeOH (2:1), filtrada y lavada con KCl (0.05 N) y secada con Na ₂ SO ₄ . 2) Percolada gradualmente con DCM, MeOH y DCM-MeOH y lavada con KCl (0.05 N). Cada muestra fue concentrada y metilada por el método de Carreau-Dubacq; la purificación de los ésteres metílicos se realizó con disolventes de diferente polaridad, seguido de un análisis por CG. Para grado de saturación se realizaron reacciones de hidrogenación seguido de CG.	Bergquist <i>et al.</i> , 1984. Biochem. Syst. Ecol. 12 (1): 63-84
Isla de Viti Levu, Fiji. Prof. = 30 m Agosto, 1984	Forma incrustante (5 cm de diámetro por 1 cm de espesor). Color café oscuro al exterior más claro en el endosoma. Espículas óxreas ligeramente curvas de 120 X 4 μm con rugosidades en el centro tendiendo a centrotíloles.	57, 102, 103	Esponja fresca, extracción DCM. El extracto de DCM fue fraccionado por partición con MeOH, CCl ₄ y DCM. Las fracciones de DCM y CCl ₄ se sometieron a cromatografía Flash seguido de HPLC cada una por separado.	Quiñoa <i>et al.</i> , 1986. J. Org. Chem. 51: 4260-4264
Estrecho del Golfo de Eilat, Mar Rojo. Julio, 1984.	No mencionan nada con respecto a este punto.	10, 15, 22	Esponja seco-congelada, extracción con EP(caliente)-DCM. El extracto se sometió a repetidas cromatografías Flash Sílica-Gel. Las fracciones obtenidas se trataron con CH ₂ N ₂ en EP. Los ésteres metílicos se cromatografiaron y se separaron por HPLC.	Hirsh <i>et al.</i> , 1987. Tetrahedron 43(14): 3257-3261
		10, 12, 13, 15, 22, 23	Mismo modo de extracción. El extracto obtenido se sometió a repetidas CC Flash Sílica-Gel (EP-AcOEt) y luego a Sephadex LH-20 (CHCl ₃ -Hex 7:3).	
Isla Miyako, Okinawa, Japón. Junio, 1986.	No mencionan nada con respecto a este punto.	63, 64, 71	Extracción con MeOH, fraccionación. La fracción de AcOEt se concentró y se cromatografió en Sílica-Gel (CHCl ₃ -Hept-2Pr-Sol. Acuosa-amoniacal 25:5:1:1 a CHCl ₃ -MeOH 20:1). Esta última se sometió a CC Sílica-Lobar 60 (CHCl ₃ -MeOH 25:1). Las fracciones con alcaloides se sometieron a HPLC (CHCl ₃ -MeOH 30:1).	Ichiba <i>et al.</i> , 1988. Tetrahedron Lett. 29(25): 3083-3086
Bahía Mélé, República de Vanuatu	No mencionan nada con respecto a este punto.	32, 33, 34	Esponja fresca, extracción con MeOH. El extracto se fraccionó con Hex, CCl ₄ o DCM; esta última fracción se purificó.	Quiñoa y Crews. 1988. Tetrahedron Lett. 29(17): 2037-2040

CONTINUACIÓN

AREA DE RECOLECTA	DESCRIPCIÓN	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Papúa, Nueva Guinea. Prof. = 7 m En 1985	Esponja suave, color rojo-naranja brillante	36, 37	Esponja seco-congelada, extracción con MeOH. El extracto de MeOH se cromatografió en Sephadex LH-20 (CHCl ₃ -MeOH 1:1), seguido de una recromatografía en celulosa. La fracción de interés se acetiló seguido de una purificación en HPLC.	Gulavita y Scheuer. 1989. J.Org.Chem. 54: 366-369
Aragasuku-jima, Okinawa, Japón. Julio.	No mencionan nada con respecto a este punto.	90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 85	Esponja fresca, extracción con A, fraccionación con AcOEt- H ₂ O y la fracción acuosa con BuOH. El soluto de BuOH se disolvió en solución acuosa de un diácido y se extrajo con AcOEt; la fase acuosa fue tratada con NH ₄ OH y extraída con AcOEt obteniéndose la fracción alcaloide. Esta se sometió a una CC Sílica-Gel (Benceno, A, NH ₄ OH), seguido de HPLC.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1989 Chem.Pharm.Bull. 37(6): 1676-1678
		99, 100, 101	Extracción con A, fraccionación con AcOEt-H ₂ O. La fracción de AcOEt se disolvió en solución acuosa de COOH ₂ y se extrajo con AcOEt. La fase acuosa se trató con solución acuosa de NH ₄ OH y se extrajo con AcOEt obteniéndose la fracción alcaloide. Ésta se sometió a una CC Sílica-Gel (Benceno, A, NH ₄ OH), seguido de HPLC y TLC-preparativa.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1989. Tetrahedron Lett. 30(31): 4149-4152
Fiji y Tonga	Forma incrustante, gruesa. Color naranja; consistencia quebradiza y compresible. Superficie irregular. Ectosoma desprendible. Reticulación más uniespicular que poli-espicular (arreglo isodictial). Óxeas fusiformes 170-200 X 2-5 µm.	38, 39, 40	Esponja fresca, extracción con MeOH. El extracto se fraccionó con Hex, CCl ₄ , DCM y BuOH. La fracción de BuOH se sometió a cromatografía en Sephadex LH-20 (MeOH) seguido de HPLC fase reversa y la recromatografía de la fracción de interés en HPLC fase reversa.	Jiménez y Crews. 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 978-982
Antártida	No mencionan nada con respecto a este punto	139	No mencionan nada con respecto a este punto	Seldes <i>et al.</i> , 1990. Ser.Cient.Inst.Antart. Chil. (40):81-97
Fiji	Color naranja-rojizo.	Mezcla de alcoholes poli-insaturados, ramificados y lipídicos.	No mencionan nada con respecto a este punto.	Jiménez y Crews. 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 978-982
Bahamas Prof. = 52 m (sumergible)	Esponja amorfa, gruesamente incrustante. Color café claro a rojizo en el exterior, endosoma castaño. Consistencia quebradiza; superficie lisa. Ectosoma difícil de desprender. Endosoma con reticulación confusa con gruesos estronquiles de varios tamaños.	200	Esponja fresca, extracción con MeOH-φ-CH ₃ (3:1). El extracto se fraccionó con AcOEt y H ₂ O. La fracción de AcOEt se sometió a cromatografía Sílica-Gel (Hex, DCM, MeOH). La fracción de esteroides fue recromatografiada en HPLC (DCM-Hex), seguido de un HPLC fase reversa C ₁₈ , obteniéndose un éster de esteroide, el cual fue hidrolizado en KOH-EtOH. Posteriormente metilado con CH ₂ N ₂ en Et ₂ O y purificado por CC Si-Gel.	Gunasekera <i>et al.</i> , 1991. J.Nat.Prod. 54(4): 1119-1122
Arrecife Ahogado, Puerto Rico. Prof. = 7-8 m	No mencionan nada con respecto a este punto.	131, 169, 170, 172, 184	Esponja seca-congelada, macerada con CHCl ₃ . El extracto se sometió a una CC Sílica-Gel obteniéndose la fracción esteroide, la cual fue purificada en HPLC fase normal (AcOEt-Hex 6 %) y recromatografiada en HPLC fase reversa (MeOH).	Kerr <i>et al.</i> , 1991. J.Org.Chem. 56: 58-62

CONTINUACIÓN

AREA DE RECOLECTA	DESCRIPCIÓN	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Bahía de Prony, Nueva Caledonia. Prof. = 6-10 m Agosto, 1989.	No mencionan nada con respecto a este punto.	58, 86, 87, 89, 95	Esponja seca-congelada, extracción con AcOEt. La fase orgánica fue extraída con HCl, la fase acuosa fue basificada con una solución acuosa de NH ₄ OH y extraída con AcOEt. La fracción con alcaloides se sometió a una CC Flash Sílica-Gel.	Quinon <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(10): 1505-1508
Prof. = 10 m			Mismo método de extracción y aislamiento. La fracción alcaloide se sometió a una CC Flash Sílica-Gel (Hex-Et ₂ O-MeOH- NH ₄ OH 20:70:10:0.5).	Vassas <i>et al.</i> , 1996. Planta Méd. 62: 28-30
Isla Aragusuku, Japón Mayo, 1992.	No mencionan nada con respecto a este punto.	194	Esponja fresca, extracción con MeOH, fraccionación con AcOEt y H ₂ O. La fracción de AcOEt se sometió a repetidas cromatografías.	Iguchi <i>et al.</i> , 1993. Tetrahedron Lett. 34(39): 6247-6280
Isla Aragusuku, Japón Mayo, 1992	No mencionan nada con respecto a este punto.	194, 196	Esponja fresca, extracción con MeOH, fraccionación con AcOEt y H ₂ O. La fracción de AcOEt se sometió a una CC Sílica-Gel. La fracción #2 (Hex-AcOEt 1:1) se recromatografió en columna de carbón activado; de ésta, la fracción #2 (AcOEt) y #3 (CHCl ₃) se unieron y se sometieron a una CC Sílica-Gel.	Shimura <i>et al.</i> , 1994. Experientia 50: 134-136
		194, 196, 197	Mismo método de extracción y purificación. La fracción #3 (CHCl ₃) de la columna de carbón activado se sometió a una CC Sílica-Gel.	Iguchi <i>et al.</i> , 1994. J.Org.Chem 59: 7499-7502
Isla Aragusuku, Japón	No mencionan nada con respecto a este punto.	90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101	Esponja seca-congelada, extracción con A, fraccionación con AcOEt y H ₂ O. La fracción de AcOEt se acidificó extrayéndose con AcOEt y H ₂ O, esta última se neutralizó extrayendo con AcOEt. Todas las fracciones se sometieron a una CC SiO ₂ seguido de HPLC. Las fracciones acuosas se extrajeron con <i>n</i> -BuOH, de igual modo se acidificó y se extrajo con AcOEt-H ₂ O. La fracción de AcOEt se sometió a una CC y luego a un análisis por HPLC.	Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim.Italiana 123: 321-327
Isla Ishigaki, Okinawa, Japón	Esponja suave, compresible, quebradiza. Superficie firme; color naranja grisáceo (preservada). Superficie con muchos y pequeños ósculos. Malla redondeada, reticulación en mallas paralelas a la superficie. Gran abundancia de espículas intersticiales, estrogilóxeas 270-300-341 X 9-10-11 μm.	191, 192, 193	Esponja seca-congelada, extracción con MeOH, fraccionación con AcOEt y H ₂ O. La fracción de AcOEt sometió a una CC Sílica-Gel (CHCl ₃ -MeOH 96:4) y se recromatografió (Hex-AcOEt 1:2) y seguido de un análisis por HPLC fase reversa (MeOH- H ₂ O 8:2).	Kobayashi. <i>et al.</i> , 1993. J.Nat.Prod. 56 (8): 1350-1355
		35	Mismo método de extracción. La fracción de AcOEt se sometió a una CC Sílica-Gel (CHCl ₃ -MeOH). La fracción CHCl ₃ -MeOH 1:1 se recromatografió (CHCl ₃ -MeOH 65:35) y luego en Sep-Pak C ₁₈ (MeOH 70 %) para purificación.	Kobayashi. <i>et al.</i> , 1994. J.Nat.Prod. 57 (9): 1300-1303
Bahía Milne, Papúa, Nueva Guinea.	Esponja masiva, suave. Color café.	81	Un extracto semipuro se le sometió a HPLC, las fracciones de interés se sometieron a cromatografía de partición centrifugada (BuOH-H ₂ O 1:1) dando del compuesto puro.	Rodríguez <i>et al.</i> , 1993. J.Am.Chem.Soc. 115: 10436-10437
Bahía Milne, Papúa, Nueva Guinea.	Esponja masiva, suave. Color café.	82	Un extracto semipuro se le sometió a HPLC, las fracciones de interés se sometieron a recromatografía en HPLC fase normal (Hex-A-Et ₂ NH 84:16:2).	Rodríguez y Crews. 1994. Tetrahedron Lett. 35(27): 4719-4722

VII. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS
EN LA ESPONJA MARINA *Xestospongia testudinaria*

AREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Arrecife Pandora, Queensland, Australia.	15	Esponja seca, extracción con DCM. El extracto fue cromatografiado en Sílica (AcOEt- CHCl ₃ 10 %) y se sometió a HPLC. El ácido obtenido se recristalizó en solución de H ₂ O-MeOH.	Quinn y Tucker. 1985. Tetrahedron Lett. 26(13):1671-1672
Arrecife Pandora, Queensland, Australia. Prof. = 5 m 2-julio-85	26,27	Esponja seca-congelada, extracción con CHCl ₃ por percolación. El extracto se fraccionó, la fracción soluble en MeOH se sometió 2 veces a una columna MPIC fase reversa (MeOH y MeOH 80 %), la fase más retenida se sometió a HPLC fase reversa.	Quinn y Tucker. 1991. J.Nat. Prod. 54(1): 290-294
	29	Esponja seca-congelada, extracción con DCM-MeOH (1:1). El extracto fue corrido con MeOH y Cl-TMS bajo argón. La fracción soluble en DCM fue cromatografiada en columna MPLC fase normal.	
Arrecife John Brewer (región central de la Gran Barrera), Australia Prof. = 14 m.	133, 135, 136, 137, 139, 142, 144, 145, 150, 151, 153, 163, 164, 176	Se obtuvo la fracción esteroidal y se purificó por HPLC fase reversa (MeOH); para obtener los esteroides mayoritarios. Y los minoritarios se recromatografiaron nuevamente en HPLC fase reversa.	Zimmerman y Djerassi. 1991. J. Am.Chem.Soc. 113: 3530-3533.
No dan información .	18	No mencionan nada con respecto a este punto.	Patil <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(9): 1170-1177
Mayotte	16, 31	Esponja fresca, extracción con DCM-MeOH, fraccionación con CHCl ₃ y CHCl ₃ -MeOH (9:1). La fracción de CHCl ₃ se cromatografió en Sílica-Gel (Hex-AcOEt 9:1); en tanto que la fracción más polar se metiló y se sometió a separaciones sucesivas por CC Sílica-Gel y LH-20.	Bourguet-Kondracki <i>et al.</i> , 1992. Tetrahedron Lett. 33(2): 225-226
Isla Orfeus, Islas Bajas, Arrecife Pandora, Cabo Tribulation, Australia. Prof. = 6-15 m.	131, 132, 134, 139, 142, 143, 147, 149, 153, 154, 157, 163, 164, 176, 177, 179, 180, 181, 183, 185, 186,	Esponja seca-congelada, extracción con CHCl ₃ . El extracto se trató con carbón, se concentró y se sometió a una CC Florisil/Sílica-Gel (Hex-dietiléter 7:3), obteniéndose la fracción lipídica. Esta se sometió a HPLC fase normal y fase reversa en serie y cada fracción obtenida fue analizada por CG.	Fromont <i>et al.</i> , 1994 Biochem.Syst.Ecol. 22 (7): 735-752

VIII. ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS
EN LA ESPONJA MARINA *Xestospongia vanilla*

AREA DE RECOLECTA	COMPUESTOS OBTENIDOS	MÉTODO DE OBTENCIÓN	REFERENCIA
Grupo de Islas Deer, British Columbia (Pacífico)	44	Esponja fresca sumergida en MeOH, homogenizada. El extracto metanólico se sometió a cromatografía en Sephadex LH-20, seguido de una cromatografía Flash Silica-Gel y HPLC.	Northcote y Andersen. 1987. J.Nat.Prod. 50(6): 1174-1177
Grupo de Islas Deer, British Columbia (Pacífico)	45	Esponja fresca sumergida en MeOH, homogenizada. El extracto metanólico se sometió a cromatografía en Sephadex LH-20 (MeOH/DCM 9:1), seguido de una cromatografía Flash Silica-Gel (DCM y MeOH/H ₂ O 8:2), TLC (Et ₂ O) y TLC fase reversa (MeOH/H ₂ O 8:2).	Northcote y Andersen. 1988 Tetrahedron Lett. 25(35): 4357-4360
Grupo de Islas Deer, British Columbia (Pacífico) Enero, 1988	46,56	Esponja fresca homogenizada con MeOH,. El extracto metanólico se concentró obteniéndose una suspensión acuosa y se realizó una extracción con DCM. El extracto de DCM se fraccionó en una columna Gel-Filtración y posteriormente se sometió a CC Flash Sílica-Gel, seguido de CPP (AcOEt) y luego de CPP fase reversa C ₁₈ (MeOH/H ₂ O 8:2).	Northcote y Andersen . 1989 Can.J.Chem. 67: 1359-1362
Grupo de Islas Deer, British Columbia (Pacífico) Mayo y Junio, 1988	47,48	Esponja fresca, homogenizada con MeOH,. El extracto metanólico se concentró obteniéndose una suspensión acuosa y se realizó una extracción con DCM. El extracto de DCM se sometió a una cromatografía Sephadex LH-20 (MeOH/DCM 9:1). Las primeras fracciones se sometieron a cromatografía fase reversa C ₁₈ (MeOH/H ₂ O y A/H ₂ O).	Northcote y Andersen . 1989 J.Am.Chem.Soc. 111: 6276-6280
Grupo de Islas Deerr y grupo de Islas Charlotte Queen, British Columbia (Pacífico)	47,48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55	Esponja fresca, homogenizada con MeOH,. El extracto metanólico se concentró obteniéndose una suspensión acuosa y se realizó una extracción con DCM. El extracto de DCM se sometió a una cromatografía Sephadex LH-20 (MeOH/DCM 9:1). Las primeras fracciones se sometieron a cromatografía fase reversa C ₁₈ (MeOH/H ₂ O y A/H ₂ O) seguido de HPLC.	Morris <i>et al.</i> , 1991 Can.J.Chem. 69: 1352-1364

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ALGUNOS DE LOS COMPUESTOS
OBTENIDOS EN EL GÉNERO *Xestospongia*

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Ácido 16-bromo-(7E,11E,15E)-hexadeca-7,11,15-trien-5,13-diin-oico (12)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antimicrobiana: <i>Bacillus subtilis</i> MIC = 25 µg / mL	Hirsh <i>et al.</i> , 1987. Tetrahedron 43(14): 3257-3261
Ácido 18-bromo-(9E,17E)-octadeca-9,17-dien-5,7-diin-oico (14)	<i>Xestospongia muta</i>	Actividad antiviral: Inhibe a la proteasa VIH IC ₅₀ = 12 µM	Patil <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(9): 1170-1177
Ácido xestospóngico (16)	<i>Xestospongia testudinaria</i>	Actividad antibiótica: <i>Staphylococcus aureus</i> 100 µg / disco, halo de inhibición de 12 mm	Bourguet-Kondracki <i>et al.</i> , 1992. Tetrahedron Lett. 33(2): 225-226
	<i>Petrosia volcano</i>	Actividad fungicida: <i>Mortierella ramannianus</i> Muy potente	Fusetani <i>et al.</i> , 1993. Tetrahedron 49(6): 1203-1210
Ácido 18-bromo-(9E,15E)-octadeca-9,15-dien-5,7,17-triin-ioco (17)	<i>Xestospongia muta</i>	Actividad antiviral: Inhibe a la proteasa VIH IC ₅₀ = 10 µM	Patil <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(9): 1170-1177
Ácido 18-bromo-(9E,17E)-octadeca-9,17-dien-5,7,15-triin-oico (18)	<i>Xestospongia muta</i>	Actividad antiviral: Inhibe a la proteasa VIH IC ₅₀ = 8 µM	Patil <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(9): 1170-1177
Ácido 18-bromo-(7E,13E,17E)-octadeca-7,13,17-trien-5,15-diin-oico (19)	<i>Xestospongia muta</i>	Actividad antiviral: Inhibe a la proteasa VIH IC ₅₀ = 10 µM	Patil <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(9): 1170-1177
Ácido 18-bromo-(9E,13E,17E)-octadeca-9,13,17-trien-5,7,15-triin-oico (20)	<i>Xestospongia muta</i>	Actividad antiviral: Inhibe a la proteasa VIH IC ₅₀ = 6 µM	Patil <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(9): 1170-1177
Ácido 14,16-dibromo-(7E,13E,15Z)-hexadeca-7,13,15-trien-5-in-oico (24)	<i>Xestospongia muta</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células PS , ED ₅₀ = 24 mcg / mL Inhibe a células L ₁₂₁₀ , ED ₅₀ = 34 mcg / mL	Schmitz y Gopichard. 1978. Tetrahedron Lett. 39: 3637-3640
	<i>Oceanapia</i> sp.	Constituyente activo del Sistema Nervioso Central Actividad citotóxica: Inhibe a células KB, débilmente a [2 a 10 µg / mL]	Ichiba <i>et al.</i> , 1993. Helv.Chim.Acta 76: 2814-2816
18-bromo-(9E,17E)-octadeca-9,17-dien-5,7-diin-oato de metilo (28)	<i>Xestospongia muta</i>	Actividad antiviral: Inhibe a la proteasa VIH IC ₅₀ = 7 µM	Patil <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(9): 1170-1177

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
18-bromo-(9E,17E)-octadeca-9,17-dien-5,7,15-triin-oato de metilo (29)	<i>(Xestospongia testudinaria)</i> <hr/> <i>Petrosia volcano</i>	Actividad fungicida: <i>Mortierella ramannianus</i>	Fusetani <i>et al.</i> , 1993 Tetrahedron 49(6): 1203-1210
Éster etílico del ácido xestospongíco (31)	<i>Xestospongia testudinaria</i>	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> ; 500 µg / disco, halo de inhibición de 15 mm ; siendo débilmente activo. Inhibe la acción de la Na ⁺ / K ⁺ -ATPasa con un ID ₅₀ = 10 ⁻¹⁴ - 10 ⁻³ M	Bourguet-Kondracki <i>et al.</i> , 1992. Tetrahedron Lett. 33(2): 225-226
Melina C (34)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad antimicrobiana: Protozoario <i>Giardia</i>	Quiñoa y Crews. 1988. Tetrahedron Lett. 29(17): 2037-2040
Nefeliosina A (35)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₁₂₁₀ en un 40 % a [20 µg / cm ³] Inhibe a células KB en un 14 % a [20 µg / cm ³] Citotoxicidad débil.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1994. J.Nat.Prod. 57(9): 1300-1303
2(S)-aminotetradeca-5,7-dien-3(F)-ol (36) y 2(S)-aminotetradeca-5,7-dien-3(S)-ol (37)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> y <i>Candida albicans</i> ; 19 µg de la mezcla / disco, halo de inhibición de 8 mm.	Gulavita <i>et al.</i> , 1989. J.Org.Chem. 54: 366-369
Xestoaminol A (38)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i> y <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ; 100 µg / disco. Inhibe a la Transcriptasa-reversa en un 97 % a [1 mg / mL] Actividad antihelmíntica: <i>Nippostrongylus brasiliensis</i> a [50 µg / mL] inhibe en un 100 % los 4 edos. larvarios en viabilidad y motilidad y en un 90 % el proceso de metamorfosis.	Jiménez y Crews. 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 978-982
Xestoaminol C (40)	<i>Xestospongia sp.</i>	Inhibe a la Transcriptasa-reversa en un 95 % a [1 mg / mL]	Jiménez y Crews. 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 978-982
Xestamina A (41)	<i>Xestospongia wiedenmayeri</i>	Inactividad contra células P-388 (<i>in vitro</i>)	Sakemi <i>et al.</i> , 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 995-999
Xestamina B (42)	<i>Xestospongia wiedenmayeri</i>	Inactividad contra células P-388 (<i>in vitro</i>)	Sakemi <i>et al.</i> , 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 995-999
Xestamina C (43)	<i>Xestospongia wiedenmayeri</i>	Inactividad contra células P-388 (<i>in vitro</i>)	Sakemi <i>et al.</i> , 1990. J.Nat.Prod. 53(4): 995-999
Xestovanin A (47)	<i>Xestospongia vanilla</i>	Actividad fungicida: <i>Pythium ultimum</i> , a [< 50 µg / disco] <hr/> Actividad fungicida: <i>Pythium ultimum</i> , a [200 µg / disco]	Northcote y Andersen. 1989. J. Am. Chem. Soc. 111: 6276-6280 <hr/> Morris <i>et al.</i> , 1991. Can. J. Chem. 69: 1352-1364

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Dehidroxestovanin A (49)	<i>Xestospongia vanilla</i>	Actividad fungicida: <i>Pythium ultimum</i>	Morris <i>et al.</i> , 1991. Can.J.Chem. 69: 1352-1364
Epidehidroxestovanin A (50)	<i>Xestospongia vanilla</i>	Actividad fungicida: <i>Pythium ultimum</i>	Morris <i>et al.</i> , 1991. Can.J.Chem. 69: 1352-1364
Dehidroxestovanin C (55)	<i>Xestospongia vanilla</i>	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>C. albicans</i> , a [150 µg / disco]	Morris <i>et al.</i> , 1991. Can.J.Chem. 69: 1352-1364
Ester metílico del ácido 3-en-2-oxo-2,5-dihidrofurano-acético (57)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe a células P-388 en un 50 % a [50 µg / mL] inactivo a [5 µg / disco]	Quiñoa <i>et al.</i> , 1986. J.Org.Chem. 51: 4260-4264
Xestoamina (58)	<i>Xestospongia</i> sp.	Inactivo contra células KB y L ₁₂₁₀	Quiñón <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(10): 1505-1508
Manzamina A (59)	<i>Haliclona</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe a células P-388, IC ₅₀ = 0.07 µg / mL	Sakai <i>et al.</i> , 1986. J.Am.Chem. Soc. 108: 6404-6405
	<i>Pellina</i> sp.	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> , MIC = 25 µg / mL	Nakamura <i>et al.</i> , 1987. Tetrahedron Lett. 28(6): 621-624
	<i>Pachypellina</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe a células P-388, IC ₅₀ = 0.07 µg / mL ; inhibe a células KB, IC ₅₀ = 0.05 µg / mL ; inhibe a células LoVo, IC ₅₀ = 0.15 µg / mL y a células IHSV-II, IC ₅₀ = 0.05 µg / mL	Ichiba <i>et al.</i> , 1994. J.Nat.Prod. 57(1): 168-170
	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> y <i>B. subtilis</i> , 100 µg / disco, halo de inhibición de 7 mm ; inactivo contra <i>E. coli</i> Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₅₁₇₈ , ED ₅₀ = 1.8 µg / mL Actividad insecticida: <i>Spodoptera littoralis</i> (crecimiento de larvas), ED ₅₀ = 35 ppm	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat.Prod. 59(10): 973-976
N-óxido-manzamina A (60)	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₅₁₇₈ , ED ₅₀ = 1.6 µg / mL	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976
N-óxido-3,4-dihidro-manzamina A (61)	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad anticancerígena: inhibe a células L ₅₁₇₈ , ED ₅₀ = 1.6 µg / mL	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976
3,4-dihidro-manzamina A (62)	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₅₁₇₈ , ED ₅₀ = 25 µg / mL (inactivo)	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Manzamina E (63)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe células P-388, $IC_{50} = 5 \mu\text{g} / \text{mL}$	Ichiba <i>et al.</i> , 1988. Tetrahedron Lett. 29(25):3083-3086
	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₅₁₇₈ , $ED_{50} = 6.6 \mu\text{g} / \text{mL}$	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976
Manzamina F (64)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe células P-388, $IC_{50} = 5 \mu\text{g} / \text{mL}$	Ichiba <i>et al.</i> , 1988. Tetrahedron Lett. 29(25):3083-3086
	<i>Pachypellina</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe a células P-388, inactivo; inhibe a células KB, $IC_{50} = 0.30 \mu\text{g} / \text{mL}$; inhibe a células LoVo, $IC_{50} = 0.26 \mu\text{g} / \text{mL}$ y a células IHSV-II, $IC_{50} = 0.1 \mu\text{g} / \text{mL}$	Ichiba <i>et al.</i> , 1994. J.Nat. Prod. 57(1): 168-170
	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₅₁₇₈ , $ED_{50} = 2.3 \mu\text{g} / \text{mL}$	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976
Manzamina J (65)	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Inactivo contra células L ₅₁₇₈ y el insecto <i>Spodoptera littoralis</i> .	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976
N-óxido-manzamina J (66)	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₅₁₇₈ , $ED_{50} = 3.2 \mu\text{g} / \text{mL}$	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976
6-deoximanzamina X (67)	<i>Xestospongia ashmorica</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células L ₅₁₇₈ , $ED_{50} = 1.8 \mu\text{g} / \text{mL}$ Actividad insecticida: <i>Spodoptera littoralis</i> a [132 ppm], inactivo	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59(10): 973-976
Manzamina X (68)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe a células KB, $IC_{50} = 7.9 \mu\text{g} / \text{mL}$ (citotoxicidad media).	Kobayashi <i>et al.</i> , 1996. Tetrahedron 51(13): 3727-3736
Xestomanzamina (70)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe a células KB, $IC_{50} = 14 \mu\text{g} / \text{mL}$ (citotoxicidad media)	Kobayashi <i>et al.</i> , 1996. Tetrahedron 51(13): 3727-3736
Ingenamina (72)	<i>Xestospongia ingens</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células P-388, $ED_{50} = 1 \mu\text{g} / \text{mL}$	Kong. <i>et al.</i> , 1994. Tetrahedron Lett. 35(11):1643-1646
Keramafidin B (76)	<i>Amphimedon</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe células P-388, $IC_{50} = 0.28 \mu\text{g} / \text{mL}$ y células KB, $IC_{50} = 0.3 \mu\text{g} / \text{mL}$	Kobayashi <i>et al.</i> , 1994. Tetrahedron Lett. 35(25): 4383-4386
	<i>Xestospongia ingens</i>		

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Ingamina A (79)	<i>Xestospongia ingens</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células P-388 , ED ₅₀ = 1.5 µg / mL	Kong. <i>et al.</i> , 1994. Tetrahedron 50(21):6137-6144
Ingamina B (80)	<i>Xestospongia ingens</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células P-388 , ED ₅₀ = 1.5 µg / mL	Kong. <i>et al.</i> , 1994. Tetrahedron 50(21):6137-6144
Xestociclamina A (81)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células IL-1, IC ₅₀ = 1 µM y células PKC, IC ₅₀ = 4 µg / mL . Inactiva contra células PTK, IMPDH y NCI.	Rodríguez <i>et al.</i> , 1993. J.Am.Chem. Soc. 115: 10436-10437
Haliciclamina B (83)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad anticancerígena: <i>in vitro</i> Modelo Valeriote-Corbett, a {600 µg / disco} tuvo de 170 a 200 unidades en líneas tumorales PO ₃ y M ₁₇ respectivamente. Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> , 200 µg / disco, inhibición del 50 % y <i>E. coli</i> , 200 µg / disco, inhibición del 20 % ; inactivo contra <i>C. albicans</i>	Harrison <i>et al.</i> , 1996. Tetrahedron Lett. 37(51): 9151-9154
Xestospongina A (85)	<i>Xestospongia exigua</i>	Actividad vasodilatadora, induce a la relajación de los vasos sanguíneos.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1985. Tetrahedron Lett. 26(32): 3833-3836
Xestospongina B (86)	<i>Xestospongia exigua</i>	Actividad vasodilatadora, induce a la relajación de los vasos sanguíneos.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1985. Tetrahedron Lett. 26(32): 3833-3836
	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células KB, ED ₅₀ = 2.5 µg / mL y a células L ₁₂₁₀ . ED ₅₀ = 2.0 µg / mL . Inactivo contra células P-388 Inhibe la producción de somatostatina (SRIF) en un 84 % a [5 µg / mL]. IC ₅₀ = 12 µM, Ki = 13.4 µM	Quirión <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(10): 1505-1508 Vassas <i>et al.</i> , 1996. Planta Med. 62: 28-30
Demetil-xestospongina B (87)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células KB, ED ₅₀ = 2.5 µg / mL y a células L ₁₂₁₀ . ED ₅₀ = 2.0 µg / mL . Inactivo contra células P-388	Quirión <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(10): 1505-1508
Xestospongina C (88)	<i>Xestospongia exigua</i>	Actividad vasodilatadora, induce a la relajación de los vasos sanguíneos	Kobayashi <i>et al.</i> , 1985. Tetrahedron Lett. 26(32): 3833-3836
Xestospongina D (89)	<i>Xestospongia exigua</i>	Actividad vasodilatadora, induce a la relajación de los vasos sanguíneos	Kobayashi <i>et al.</i> , 1985. Tetrahedron Lett. 26(32): 3833-3836
	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe a células KB, ED ₅₀ = 2.0 µg / mL y a células L ₁₂₁₀ . ED ₅₀ = 0.2 µg / mL . Inactivo contra células P388	Quirión <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(10): 1505-1508
Araguspongina A (90)	<i>Xestospongia sp.</i>	Fuerte actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim. Italiana 123: 321-327

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Araguspongina C (92)	<i>Xestospongia</i> sp.	Fuerte actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kobayashi. <i>et al.</i> , 1989. Chem.Pharm. Bull. 37(6): 1676-1678 Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim. Italiana 123: 321-327
Araguspongina D (93)	<i>Xestospongia</i> sp.	Fuerte actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kobayashi. <i>et al.</i> , 1989. Chem.Pharm. Bull. 37(6): 1676-1678 Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim. Italiana 123: 321-327
Araguspongina E (94)	<i>Xestospongia</i> sp.	Fuerte actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kobayashi. <i>et al.</i> , 1989. Chem.Pharm. Bull. 37(6): 1676-1678 Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim. Italiana 123: 321-327
Araguspongina J (98)	<i>Xestospongia</i> sp.	Fuerte actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kobayashi. <i>et al.</i> , 1989. Chem.Pharm. Bull. 37(6): 1676-1678 Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim. Italiana 123: 321-327
Mezcla: Araguspongina C (92), D (93), E (94) y Xestospongina A (85) y D (89)	Diversas especies de <i>Xestospongia</i> <i>Haliclona exigua</i>	Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> , 200 µg / disco, halo de inhibición de 2 mm ; <i>Pseudomonas fluorescence</i> , 200 µg / disco, halo de inhibición de 5 mm ; <i>E. coli</i> , 200 µg / disco, halo de inhibición de 7 mm ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> , 200 µg / disco, halo de inhibición de 7 mm.	Venkateswarlu <i>et al.</i> , 1994. J.Nat.Prod. 57(9): 1283-1285
Mezcla: Xestoamina (58), Araguspongina F (95), Xestospongina B (86), D (89), y demetil xestospongina B (87)	<i>Xestospongia</i> sp.	Inhibe la producción de somatostatina (SRIF) en un 52 % a [20 µg / mL], inactivo contra péptido-vasoactivo-intestinal (VIP).	Vassas <i>et al.</i> , 1996. Planta Med. 62: 28-30
Petrosin (99)	<i>Petrosia seriata</i>	Actividad Ictiotóxica: <i>Lebistes reticulatus</i>	Braekman <i>et al.</i> , 1982. Tetrahedron Lett. 23(41): 4277-4280
	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1989. Tetrahedron Lett. 30(31): 4149-4152

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Petrosin A (100)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1989. Tetrahedron Lett. 30(31): 4149-4152
Aragupetrosina (101)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad vasodilatadora, utilizando arteria mesentérica de ratón SD.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1989. Tetrahedron Lett. 30(31): 4149-4152
Xestin A (102)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe células de pulmón A-549, IC ₅₀ = 5 µg / mL; células de colón HCT-8, IC ₅₀ = 5 µg / mL; células mamarías MDAMB, IC ₅₀ = 5 µg / mL y células P-388, IC ₅₀ = 0.3 µg / mL.	Quiñoa <i>et al.</i> , 1986. J.Org.Chem. 51: 4260-4264
Xestin B (103)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe células P-388, IC ₅₀ = 3.0 µg / mL. Inactivo contra células de pulmón A-549; células de colón HCT-8 y células mamarías MDAMB.	Quiñoa <i>et al.</i> , 1986. J.Org.Chem. 51 : 4260-4264
Halenaquinona (104)	<i>Xestospongia exigua</i>	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> y <i>B. subtilis</i>	Roll <i>et al.</i> , 1983. J. Am.Chem.Soc. 105: 6177-6178
	<i>Adocia</i> sp.	Actividad anticancerígena-citotóxica: Inhibe células PS, ED ₅₀ = 2.9 µg / mL.	Schmitz y Bloor. 1988. J.Org.Chem. 53: 3922-3925
	<i>Xestospongia sapra</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células L ₁₂₁₀ , IC ₅₀ = 1.6 µg / mL y células KB, IC ₅₀ = 3.1 µg / mL. Además, inhibe a la enzima ADN-Topoisomerasa I, MIC = 2 µg .	Kobayashi <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(7): 994-998
	<i>Xestospongia</i> cf. <i>carbonaria</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe células PS; potentemente activo contra células L ₁₂₁₀ , PTK-Vsrc pp60 (IC ₅₀ = 1.5 µM), PTK-EGF (IC ₅₀ = 19 µM); altamente inhibidor contra células NCI-DTP, siendo poco citotóxico y contra células PKC, inactivo.	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
Tetrahydro-halenaquinona A (105)	<i>Xestospongia sapra</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células L ₁₂₁₀ , a [10 µg / mL] en un 14.5 % y células KB, a [10 µg / mL] en un 9.8 % . Además, inhibe a la enzima ADN-Topoisomerasa I, MIC = 2.5 µg .	Kobayashi <i>et al.</i> , 1992. J. Nat.Prod.55(7): 994-998
	<i>Xestospongia</i> cf. <i>carbonaria</i>	Totalmente inactivo sobre actividad anticancerígena: PTK-Vsrc pp60 (IC ₅₀ >>> 200 µM),	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
Tetrahydro-halenaquinona B (106)	<i>Xestospongia</i> cf. <i>carbonaria</i>	Totalmente inactivo sobre actividad anticancerígena: PTK-Vsrc pp60 (IC ₅₀ >>> 200 µM),	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
14-metoxi-halenaquinona (107)	<i>Xestospongia</i> cf. <i>carbonaria</i>	Actividad anticancerígena: PTK-Vsrc pp60, IC ₅₀ = 5 µM.	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
Halenaquinol (108)	<i>Xestospongia</i> cf. <i>carbonaria</i>	Actividad anticancerígena: PTK-Vsrc pp60, IC ₅₀ = 0.6µM.	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org. Chem. 58(18): 4871-4880

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Halenaquinol (108)	<i>Xestospongia sapra</i>	Actividad cardiotónica: $ED_{50} = 6 \times 10^{-7}$ M, sobre atrio izquierdo de cerdo de guinea. Además inhibe a la enzima AMP-fosfodiesterasa, $IC_{50} = 4 \times 10^{-6}$ M, en corazón de bovino.	Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim. Italiana 123: 321-327
Sulfato sódico de halenaquinol (109)	<i>Xestospongia cf. carbonaria</i>	Actividad anticancerígena: PTK-Vsrc pp60, $IC_{50} = 28 \mu\text{M}$. Inactivo contra células L_{1210} y KB.	Avi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
	<i>Xestospongia sapra</i>	Inactivo como agente cardiotónico. Previene la fusión de la membrana en gametos de equinodermos, sin afectar embriones y/o huevos posterior al edo. de gástrula. Inhibe secreción de enzimas de encubación, resultado de la formación de la gástrula que involucra la fertilización.	Kitagawa y Kobayashi. 1993. Gazz.Chim. Italiana 123: 321-327
Sulfato sódico de xestoquinol (110)	<i>Xestospongia sapra</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células L_{1210} , a $[10 \mu\text{g} / \text{mL}]$ en un 25.4 % y células KB, inactivo. Además, inhibe a la enzima ADN-Topoisomerasa I, $MIC = 10 \mu\text{g}$. Inhibe a la enzima Na^+ / K^+ -ATPasa aislada de la corteza cerebral de cerdo.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(7): 994-998
Xestoquinona (111)	<i>Xestospongia sapra</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células L_{1210} , $IC_{50} = 0.17 \mu\text{g} / \text{mL}$ y células KB, $IC_{50} = 0.7 \mu\text{g} / \text{mL}$. Además, inhibe a la enzima ADN-Topoisomerasa I, $MIC = 2 \mu\text{g}$.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(7): 994-998
		Agente cardiotónico: A $[2 \mu\text{M}]$ inhibe a las enzimas K^+ -ATPasa y Ca^{++} -ATPasa, pero no a la Mg^{++} -ATPasa. Activa la Actomiosin-ATPasa y aumenta la incorporación de Miosina. Actiomiosin-ATPasa mediante la modificación de grupos SH de la miosina de manera irreversible.	Sakamoto <i>et al.</i> , 1995. Biochem. 34: 12570-112575
	<i>Adocia sp.</i>	Actividad anticancerígena: Inactivo.	Schmitz y Bloor. 1988. J.Org.Chem. 53: 3922-3925
	<i>Xestospongia cf. carbonaria</i>	Actividad anticancerígena: Inactivo contra células PS, inhibe células PTK-Vsrc pp60 ($IC_{50} = 60 \mu\text{M}$). ; potentemente activo contra células L_{1210} , altamente inhibidor contra células NCI-DTP, siendo poco citotóxico	Avi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
Xestosaprol A (112)	<i>Xestospongia sapra</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células L_{1210} , a $[10 \mu\text{g} / \text{mL}]$ en un 34.9 % y células KB, a $[10 \mu\text{g} / \text{mL}]$ en un 30.1 % Además, inhibe a la enzima AND-Topoisomerasa I, $MIC = 12.5 \mu\text{g}$.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(7): 994-998
Xestosaprol B (113)	<i>Xestospongia sapra</i>	Actividad antitumoral: Inhibe a células L_{1210} , $IC_{50} = 2.7 \mu\text{g} / \text{mL}$ y células KB, $IC_{50} = 8.6 \mu\text{g} / \text{mL}$. Además, inhibe a la enzima ADN-Topoisomerasa I, $MIC = 12.5 \mu\text{g}$.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1992. J.Nat.Prod. 55(7): 994-998
Renierol (114)	<i>Xestospongia caycedoi</i>	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> , $100 \mu\text{g} / \text{disco}$, halo de inhibición de 10 mm Actividad antitumoral: Inhibe a células L_{1210} , $IC_{50} = 3.0 \mu\text{g} / \text{mL}$ (medio tóxico).	McKee e Ireland. 1987. J.Nat.Prod. 50(4): 754-756
Renierona (119)	<i>Reniera sp.</i>	Actividad antibiótica: Muy potente como antimicrobiano.	McKee e Ireland. 1987. J.Nat.Prod. 50(4): 754-756

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Renierona (119)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> y <i>S. aureus</i> a una [100 µg / disco]. Inactivo para <i>E. coli</i> Actividad Insecticida: <i>S. littoralis</i> a una [270 ppm].	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59: 973-976
N-(3-oxo-1-butenil)-renierona (121)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> y <i>S. aureus</i> a una [100 µg / disco]. Inactivo para <i>E. coli</i> Actividad Insecticida: <i>S. littoralis</i> a una [270 ppm], débilmente activo (50 %).	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59: 973-976
Mimosamicin (122)	<i>Xestospongia caycedoi</i>	Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> , 100 µg / disco, halo de inhibición de 10 mm Actividad antitumoral: Inhibe a células L ₁₂₁₀ , IC ₅₀ = 3.0 µg / mL (medio tóxico).	McKee e Ireland. 1987 . J.Nat.Prod. 50(4): 754-756
	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> y <i>S. aureus</i> a una [100 µg / disco], halo de inhibición de 22 y 17 mm respectivamente. Inactivo contra <i>E. coli</i> Actividad fungicida: Esporas de <i>Cladosporium cumaninum</i> a una [150 µg] Actividad Insecticida: <i>S. littoralis</i> a una [270 ppm], inactivo (15 %).	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59: 973-976
	<i>Reniera</i> sp.	Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> y <i>S. aureus</i> a una [50 µg / disco], halo de inhibición de 11 y 14 mm respectivamente. <i>C. albicans</i> , <i>V. anguillarum</i> y <i>Pseudomonas</i> B-392 a una [10 µg / disco], halo de inhibición de 9, 11 y 10 mm respectivamente.	Frincke y Faulkner. 1982. J.Am.Chem.Soc. 104: 265-269
	<i>Cribrachalina</i> sp.	Actividad citotóxica: Inhibe a células P-388, ED ₅₀ = 0.73 µg / mL, inactivo contra células L ₁₂₁₀ Actividad antitumoral: Estudios <i>in vitro</i> sobre líneas de células M ₁₉ -MEL y SK-MEL (melanomas), siendo sensible de 10 ⁻⁵ a 10 ⁻⁶ M.	Petit <i>et al.</i> , 1992. Can.J.Chem. 70(4): 1170-1175
1,6-dimetil-7-metoxi-5,8-dihidro-isoquinolina-5,8-dione (123)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antibiótica: <i>B. subtilis</i> y <i>S. aureus</i> muy débil, halo de inhibición de 12 y 9 mm respectivamente. Inactivo contra <i>E. coli</i> Actividad Insecticida: <i>S. littoralis</i> a una [270 ppm], muy activo (93 %). EC ₅₀ = 35 ppm y LC ₅₀ = 521 ppm.	Edrada <i>et al.</i> , 1996. J.Nat. Prod. 59: 973-976
Renieramicina G (124)	<i>Xestospongia caycedoi</i>	Actividad citotóxica: Moderadamente activo, inhibe células KB, MIC = 0.50 µg / mL y células LoVo, MIC = 1.00 µg / mL.	Davidson. 1992. Tetrahedron Lett. 33(26): 3721-3734
Xestoquinólido A (125)	<i>Xestospongia</i> cf. <i>carbonaria</i>	Actividad anticancerígena: Inhibe células PTK-Vsrc pp60 (IC ₅₀ = 80 µM).	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
Xestoquinólido B (126)	<i>Xestospongia</i> cf. <i>carbonaria</i>	Actividad anticancerígena: Inactiva contra células PTK-Vsrc pp60 (IC ₅₀ >>>> 200 µM).	Alvi <i>et al.</i> , 1993. J.Org.Chem. 58(18): 4871-4880
Wiedendiol A (129)	<i>Xestospongia</i> cf. <i>wiedenmayeri</i>	Inhibe a la enzima Ester-colesterol-protein-transferasa (CETP), IC ₅₀ = 1 µM. Esta enzima tiene impacto directo sobre las lipoproteínas del plasma reduciendo los factores de riesgo en enfermedades cardiovasculares.	Coval <i>et al.</i> , 1995. Bioorg.Med.Chem.Lett. 5(6): 605-610
Wiedendiol B (130)	<i>Xestospongia</i> cf. <i>wiedenmayeri</i>	Inhibe a la enzima Ester-colesterol-protein-transferasa (CETP), IC ₅₀ = 0.6 µM.	Coval <i>et al.</i> , 1995. Bioorg.Med.Chem.Lett. 5(6): 605-610

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Xestobergsterol A (189)	<i>Xestospongia bergquistia</i>	Actividad antialérgica: Inhibe la producción de histamina en las células peritoneales de rata, por la acción inducida Anti-IgE, IC ₅₀ = 0.05 µM, siendo un compuesto potencial.	Shoji <i>et al.</i> , 1992. J.Org.Chem. 57: 2996-2997
		Actividad antialérgica: Inhibe el incremento de la tasa inicial de la [Ca ²⁺], inducida por Anti-IgE e inhibe la generación de IP3 y PI-PLC y por tanto la producción de histamina.	Takei <i>et al.</i> , 1993. Experientia 49: 145-149
Xestobergsterol A (189)	<i>Ircinia sp.</i>	Actividad citotóxica: Inhibe células L ₁₂₁₀ , IC ₅₀ = 4.0 µg / mL	Kobayashi <i>et al.</i> , 1995. J.Nat.Prod. 58(2): 312-318
Xestobergsterol B (190)	<i>Xestospongia bergquistia</i>	Actividad antialérgica: Inhibe la producción de histamina en las células peritoneales de rata, por la reacción inducida Anti-IgE, IC ₅₀ = 0.10 µM, siendo un compuesto potencial.	Shoji <i>et al.</i> , 1992. J.Org.Chem. 57: 2996-2997
	<i>Ircinia sp.</i>	Actividad antialérgica: Inhibe el incremento de la tasa inicial de la [Ca ²⁺], inducida por Anti-IgE e inhibe la generación de IP3 y PI-PLC y por tanto la producción de histamina, pero en menor escala que el compuesto (192). Actividad citotóxica: Inhibe células L ₁₂₁₀ , IC ₅₀ > 10 µg / mL (insignificante).	Takei <i>et al.</i> , 1993. Experientia 49: 145-149 Kobayashi <i>et al.</i> , 1995. J.Nat.Prod. 58(2): 312-318
Xestokerol A (191)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad antitumoral-cancerígena: Inhibe el crecimiento de células L ₁₂₁₀ , IC ₅₀ = 2.1 µg / mL y células KB, IC ₅₀ = 4.4 µg / mL. Actividad antibiótica: <i>S. aureus</i> , <i>S. lutea</i> y <i>B. subtilis</i> , MIC = 16 µg / mL.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1993. J.Nat.Prod. 56(8): 1350-1355
Xestokerol B (192)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad antitumoral-cancerígena: Inhibe el crecimiento de células L ₁₂₁₀ , IC ₅₀ = 2.2 µg / mL y células KB, IC ₅₀ = 4.6 µg / mL. Actividad antibiótica: Inactivo a 260 µg / mL.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1993. J.Nat.Prod. 56(8): 1350-1355
Xestokerol C (193)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad antitumoral-cancerígena: Inhibe el crecimiento de células L ₁₂₁₀ , IC ₅₀ = 0.78 µg / mL y células KB, IC ₅₀ > 10 µg / mL. Actividad antibiótica: <i>S. lutea</i> , MIC = 66 µg / mL.	Kobayashi <i>et al.</i> , 1993. J.Nat.Prod. 56(8): 1350-1355
Aragusterol A (194)	<i>Xestospongia sp.</i>	Actividad cancerígena: Inhibe células KB, IC ₅₀ = 0.042 µg / mL; HeLaS ₃ , IC ₅₀ = 0.16 µg / mL; P-388, IC ₅₀ = 0.022 µg / mL y LoVo, IC ₅₀ = 0.079 µg / mL.	Iguchi <i>et al.</i> , 1993 Tetrahedron Lett. 34(39): 6277-6280
		Actividad antitumoral: Potente	Shimura <i>et al.</i> , 1994. Experientia 50: 134-136
		Actividad citotóxica: Inhibe fuertemente células KB, IC ₅₀ = 0.042 µg / mL Actividad antitumoral: Sobre células <i>in vivo</i> L ₁₂₁₀ , T/C = 220 % a 1.6 mg / Kg	Mitome <i>et al.</i> , 1995. Tetrahedron Lett. 36(45): 8231-8234
		Actividad citotóxica: Inhibe células KB, IC ₅₀ = 0.03 µg / mL	Kobayashi <i>et al.</i> , 1996. Chem.Pharm. Bull. 44(10): 1840-1842

CONTINUACIÓN

COMPUESTO AISLADO	ESPECIE	ACTIVIDAD DETECTADA	REFERENCIA
Aragusterol B (195)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antiproliferativa contra células KB, IC ₅₀ = 3.3 µg / mL (moderada).	Iguchi <i>et al.</i> , 1994. J.Org.Chem. 59: 7499-7502
Aragusterol C (196)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inhibe células KB, IC ₅₀ = 41 ng / mL, células L ₁₂₁₀ , a 1.6 mg / mL presentó T/C = 257 %. Actividad citotóxica: Inhibe fuertemente células KB, IC ₅₀ = 41 ng / mL Actividad antitumoral: Sobre células <i>In vivo</i> L ₁₂₁₀ , T/C= 257 % a 1.6 mg / Kg Actividad citotóxica: Inhibe células KB, IC ₅₀ = 20 ng / mL	Shimura <i>et al.</i> , 1994. Experientia 50: 134-136 Mitome <i>et al.</i> , 1995. Tetrahedron Lett. 36(45): 8231-8234 Kobayashi <i>et al.</i> , 1996. Chem.Pharm. Bull. 44(10): 1840-1842
Aragusterol D (197)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antitumoral: Inactivo	Iguchi <i>et al.</i> , 1994. J.Org.Chem. 59: 7499-7502
Aragusterocetal A (198)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad citotóxica: Contra células KB, IC ₅₀ = 4 ng / mL	Kobayashi <i>et al.</i> , 1996. Chem-Pharm. Bull. 44(10): 1840-1842
Aragusterocetal C (199)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad citotóxica: Contra células KB, IC ₅₀ = 4 ng / mL	Kobayashi <i>et al.</i> , 1996. Chem-Pharm. Bull. 44(10): 1840-1842
24,26-ciclo-5α-colest-(22E)-en-3b-ol-4',8',12'-trimetil-tridecanoato (200)	<i>Xestospongia</i> sp.	Actividad antibiótica: <i>C. candida</i> , <i>Herpes simplex</i> tipo I. Actividad antitumoral: Inhibe células P388; inactiva contra linfocitos para reacción.	Gunasekera <i>et al.</i> , 1991. J.Nat.Prod. 54(4): 1119-1122
Extracto de DCM	<i>Xestospongia</i> sp.	Inhibe la producción de somatostatina (SRIF) en un 41 % a [20 µg / mL], inactivo contra péptido-vasoactivo-intestinal (VIP).	Vassas <i>et al.</i> , 1996. Planta Med. 62: 28-30

ANEXO D

ESPECIES DEL GÉNERO *Xestospongia* REGISTRADAS EN LA LITERATURA

1. *Xestospongia ashmorica* (Hooper)*¹
2. *Xestospongia bergquistia* Fromont*²
3. *Xestospongia caminata* Pulitzer-Finali 1986-1987*³
4. *Xestospongia carbonaria* Lamarck 1814*⁴
5. *Xestospongia* cf. *carbonaria* (Lamarck 1814)*⁴
6. *Xestospongia caycedoi* Zea y van Soest 1986*⁵
7. *Xestospongia clavata* Pulitzer-Finali 1992-1993*⁶
8. *Xestospongia coralloides* (Dendy 1924)*^{7,8}
9. *Xestospongia cretacea* (Schmidt 1870)*⁹
10. *Xestospongia diprosoria*, De Laubenfels 1930*^{7,10}
11. *Xestospongia dominacana* Pulitzer-Finali 1986-1987*³
12. *Xestospongia exigua* Kirkpatrick 1900*^{11,12}
13. *Xestospongia grayi* (Hechtel 1983)*¹³
14. *Xestospongia informis* Pulitzer-Finali 1992-1993*⁶
15. *Xestospongia ingens* (Thiele 1989)*¹⁴
16. *Xestospongia mamillata* Pulitzer-Finali 1980-1981*²⁵
17. *Xestospongia muta* (Schmidt 1870)*^{9,15,16}
18. *Xestospongia novaezealandiae* Bergquist y Warne 1980*⁸
19. *Xestospongia pachyderma* (Burton)*⁹
20. *Xestospongia pacifica* Kelly-Borges y Bergquist 1988*^{12,17}
21. *Xestospongia portoricensis* Van Soest 1980*^{16,18}
22. *Xestospongia proxima* (Duchassaing y Michelotti 1864)*^{18,19,20}
23. *Xestospongia* cf. *proxima* (Duchassaing y Michelotti 1864)*¹⁶
24. *Xestospongia rosariensis* Zea y Rützler 1983*¹⁶
25. *Xestospongia* cf. *rosariensis* (Zea y Rützler 1983)*¹⁶
26. *Xestospongia sapra* De Laubenfels 1954*²¹
27. *Xestospongia similis* (Ridley y Dendy 1886)*¹²
28. *Xestospongia subtriangularis* (Duchassaing 1850)*^{18,22,23}
29. *Xestospongia testudinaria* Lamarck 1814*⁴
30. *Xestospongia tierneyi* (De Laubenfels 1953)*⁹
31. *Xestospongia trindanea* Ristau 1978*²⁴
32. *Xestospongia tuberosa* Pulitzer-Finali 1992-1993*⁶
33. *Xestospongia vanilla* (De Laubenfels 1930)*¹⁰
34. *Xestospongia variabilis* (Ridley 1884)*¹²
35. *Xestospongia wiedenmayeri* Van Soest 1980*¹⁸

*1 Edrada, 1996. *2 Fromont, 1994. *3 Pulitzer-Finali, 1986-1987. *4 Amir, 1991. *5 Zea y van Soest, 1986. *6 Pulitzer-Finali, 1992-1993. *7 De Laubenfels, 1932. *8 Bergquist y Warne, 1980. *9 Wiedenmayer, 1977. *10 De Laubenfels, 1930. *11 De Laubenfels, 1949. *12 Hooper y Wiedenmayer, 1994. *13 Mothes y Bastian, 1993. *14 Kong *et al.*, 1994. *15 Alcolado, 1976. *16 Van Soest y Stentoft, 1988. *17 Kelly-Borges y Bergquist, 1988. *18 Van Soest, 1980. *19 Van Soest, 1984. *20 Zea, 1987. *21 De Laubenfels, 1954. *22 Green, 1977. *23 Alcolado, 1981. *24 Ristau, 1978. *25 Pulitzer-Finali, 1980-1981.