

03067
1 ej 2



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE POSGRADO
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA
ESPECIALIZACIÓN, MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DEL MAR

**SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS DE LA
ESPONJA HALICLONA SP**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR
(OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA Y PESQUERA)

P R E S E N T A:
FRANCISCO CRUZ SOSA

Mexico, D. F.

TESIS CON
FALLA DE COPIA

1984



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 está 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.

CONTENIDO

	pág.
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	2
III. GENERALIDADES.....	10
IV. ANTECEDENTES.....	14
V. MATERIAL Y METODOS.....	32
VI. RESULTADOS Y DISCUSION.....	39
VII. CONCLUSIONES.....	52
VIII. AGRADECIMIENTOS.....	53
IX. LITERATURA CITADA.....	55

RESUMEN

El creciente uso de antibióticos comerciales, ha ocasionado la pérdida de la actividad de algunos de ellos para inhibir a los microorganismos resistentes patógenos, lo que está generando la búsqueda de nuevas sustancias con aplicación en el control de las infecciones bacterianas. Debido a que recientemente se han obtenido una gran variedad de compuestos químicos de origen marino con posible aplicación farmacológica, se ha llegado a considerar su utilización como antimicrobianos y además ser una opción en el tratamiento de algunas enfermedades.

El objetivo de este trabajo fue el de aislar, purificar e identificar las sustancias con actividad antimicrobiana presentes en la esponja Haliclona sp colectada en la región de Zihuatanejo, Gro., durante agosto de 1979 y noviembre de 1981. Se seleccionó a esta especie de esponja debido a su disponibilidad en biomasa y a su gran capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas.

El proceso consistió en obtener un extracto metanólico de la esponja, concentrarlo a vacío y del residuo resuspendido en agua, extraer con acetato de etilo y su concentrado purificarlo por medio de técnicas cromatográficas y de recristalización. Se aislaron y purificaron 4 compuestos, se les determinó su estructura química por medio de técnicas espectroscópicas y reacciones químicas. Se identificaron como Mimosamicina (LI), 0-demetilrenierona (LII) y 2 isómeros de N-formil-1,2-dihidrorenierona (XLIX) y (L), a los cuales se les hizo un ensayo bacteriológico para determinar su actividad antimicrobiana en cepas de bacterias y hongos patógenos. Los resultados muestran que el compuesto que presenta mayor actividad es la Mimosamicina (LI), seguido en orden decreciente por los 2 isómeros de la N-formil-1,2-dihidrorenierona (XLIX) y (L) y por último, la 0-demetilrenierona (LII). Los microorganismos de prueba utilizados fueron Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Shigella typhi, Shigella dysenteriae y Candida albicans.

INTRODUCCION

México es rico en recursos marinos que se encuentran en la Zona Económica Exclusiva, la cual comprende una extensión tan grande como su porción terrestre. La necesidad de conocer y evaluar los productos provenientes de nuestros mares es una prioridad. Aunque la mayor parte del esfuerzo se ha enfocado básicamente en la obtención de alimentos y materias primas, día a día los adelantos en la ciencia y en la tecnología hacen factible el aprovechamiento de una amplia gama de productos más elaborados de origen marino, entre los cuales se tiene la fabricación de harinas, aceites fertilizantes, agaras, pieles, fármacos, etc.

La gran variedad de la vida animal en el mar, aumenta la probabilidad de encontrar sustancias útiles en los organismos marinos, incluyendo fármacos potenciales (1). A diferencia del empleo de las plantas y los animales terrestres para la obtención de medicamentos, desde los tiempos antiguos la flora y la fauna de los océanos han sido comparativamente menos utilizadas. La aplicación de los productos naturales en el tratamiento de algunas enfermedades es tan milenaria como la misma raza humana; sin embargo, puesto que el hombre ha tenido una mayor facilidad para disponer de organismos continentales más que de marinos para la obtención de compuestos bioactivos naturales, su principal abastecimiento proviene de este origen (2).

Actualmente es de gran interés la obtención de nuevas sustancias con actividad farmacológica que ayuden al control de las infecciones causadas por los microorganismos resistentes a los antibióticos convencionales, ya que algunas cepas bacterianas debido al mal uso de los existentes en el tratamiento de ciertas enfermedades, han logrado desarrollar una resistencia frente a la acción de estas sustancias antimicrobianas. El estudio de la Farmacología marina es importante desde el punto de vista de la obtención de agentes biomédicos que coadyuven a resolver los problemas terapéuticos. Además contribuye a conocer en parte la función de estas sustancias en el medio, que son producidas como metabolitos secundarios por las plantas y los animales que habitan los mares.

Se ha descubierto que existen organismos marinos que contienen sustancias con diversas propiedades específicas, tales como antibacterianos, antivirales, antineoplásicos, antifúngicos, anticoagulantes, antihelmínticos, hipoténsicos, citotóxicos, etc., algunos de ellos muestran una actividad farmacológica pronunciada, como para considerar que los océanos constituyen una fuente muy importante de posibles fármacos que pueden ser útiles a la humanidad (3). Pocos productos quimioterapéuticos tienen su origen en el mar (4) y de estos en la Tabla I se mencionan algunos que se encuentran actualmente en uso, como son el ácido kainico (I), la calosporina (II), la saxitoxina (III), la prostaglandina (15 S)-PGE₂ (IV), la murexina (V) y la tetradotoxina (VI), (5).

TABLA I

Algunos fármacos de origen marino actualmente en uso.

ESTRUCTURA	FUENTE	BIOACTIVIDAD
	<u>Digenea</u> <u>herbacea</u>	Antihelmíntico
Acido Kainico (I)		
	<u>Cephalosporium</u> <u>acremonium</u>	Antibacteriano
Cefalosporina C (II)		
	<u>Gonyaulax</u> <u>catenella</u>	Tóxico paralizante Hipoténsico
Saxitoxina (III)		

tabla 1, continuación

ESTRUCTURA	FUENTE	BIOACTIVIDAD
	<u>Plexaura</u> <u>homomalla</u>	Hipoténico cardiovascular Estimulante del músculo liso
Prostaglandina (15 S)-PGE ₂ (IV)		
	<u>Murex</u> <u>trunculus</u>	Relajante muscular
Murexina (V)		
	<u>Sphaeroides</u> <u>rubripes</u>	Neurotóxico Hipoténico
Tetrodotoxina (VI)		

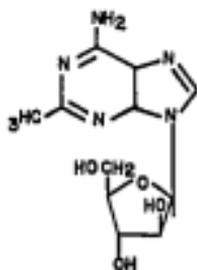
Los nucleósidos Espingosina (VII), Espongotimidina (VIII) y Espongouridina (IX) que se citan en la tabla 2 fueron aislados de la esponja *Cryptotethya crypta* (6). Estos compuestos permanecieron por algunos años como curiosidades marinas, hasta que se demostró que este tipo de compuestos poseen actividad en el tratamiento de la leucemia e infecciones virales. Basándose en lo anterior, investigaciones subsiguientes condujeron a la síntesis de la Cytarabine (X), que resultó ser un importante agente sintético antiviral.

La mayoría de los compuestos bioactivos marinos cuyas estructuras han sido identificadas y determinadas son antimicrobianos. El papel de la antibiosis en el mar ha sido discutida desde el punto de vista de que son sustancias que inhiben el crecimiento de los microorganismos patógenos que viven asociados a los organismos marinos que las producen y se le puede considerar como un mecanismo de protección contra las infecciones bacterianas (7).

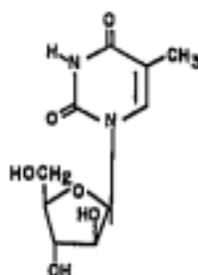
En 1981, Rinehart *et al.* (8) durante una expedición a bordo del buque de investigación R/V Alpha Helix, examinó la presencia de sustancias antimicrobianas en 831 especies de organismos marinos que colectó a lo largo de la costa del Pacífico de México, incluyendo el golfo de California. Los resultados del estudio muestran que la actividad antibacteriana y antifúngica puede encontrarse en un gran número de phyla y es predominante en el Porifera y en

TABLA 2

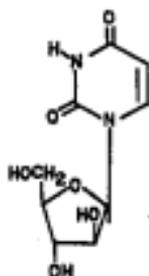
Nucleósidos aislados de la esponja *Cryptotethya crypta*: (VII), (VIII) y (IX). Cytarabina (X), agente sintético antiviral.



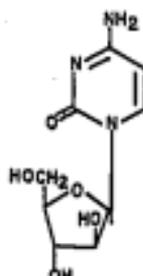
Espongosina (VII)



Espongotimidina (VIII)



Spongouridina (IX)



Cytarabina (X)

el Echinodermata. Aunque la incidencia de la actividad inhibitoria de microorganismos fué bastante alta en los phyla anteriores es también significativa en el Chordata, Cnidaria y las 4 clases mayores de plantas marinas, las cuales colectaron durante dicho estudio: Chlorophyta, Phaeophyta, Rhodophyta y Tracheophyta. También se encontró actividad antimicrobiana en especímenes animales de Platyhelminthes, Ectoprocta, Mollusca, Annelida y Arthropoda.

Se han aislado sustancias antimicrobianas de amplio espectro de una variedad de esponjas marinas, las cuales se encuentran en una fase de evaluación debido en parte a que algunos compuestos poseen cierta toxicidad en altas concentraciones. Es muy posible pensar en los organismos marinos como un recurso del cual se obtengan agentes naturales originales que puedan potencialmente junto con los compuestos químicos extraídos de medios terrestres contribuir al control de las enfermedades en humanos.

Los estudios de las sustancias químicas de origen marino pueden ser dirigidos hacia un phylum en particular, tal como el Echinodermata, hacia un tipo de compuestos, tales como los terpenos de corales blandos o hacia una bioactividad en especial como por ejemplo la antineoplásica. El objetivo del presente trabajo fué el de contribuir al conocimiento de los compuestos con actividad antimicrobiana en el phylum Porifera. Se seleccionó una esponja co-

lectada en la región de Zihuatanejo, Gro., la cual se encontró en una adecuada cantidad de bionasa y además presentó una gran capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, la cual por sus características taxonómicas ha sido identificada como perteneciente al género Haliciona, especie aún no determinada (9).

En resumen, los objetivos particulares son:

1. Determinar la presencia de sustancias con actividad antibacteriana y antifúngica, en la esponja Haliciona sp por medio de pruebas de inhibición en placa con microorganismos patógenos.
2. Aislar y purificar las sustancias que presentaron bioactividad en la esponja.
3. Determinar la estructura química de las sustancias antimicrobianas aisladas de la esponja.
4. Determinar la capacidad antimicrobiana in vitro de los compuestos identificados presentes en la esponja, en cepas de microorganismos patógenos.

GENERALIDADES

La sistemática de la familia Halicionidae es muy complicada, principalmente por su gran variabilidad que probablemente refleja los caracteres polifiléticos del grupo. El estudio de las especies de la familia debe basarse en una revisión minuciosa de colecciones existentes y de la bibliografía para evitar confusiones en los géneros. Las especies de los géneros Haliclona y Reniera se encuentran entre los más conflictivos desde el punto de vista de su sistemática, en gran parte debido a su gran semejanza en la forma exterior y características del esqueleto, aún a nivel individual.

Dentro del phylum Porifera hay más de 5000 especies, la mayoría de ellas marinas. Uno de los géneros más extensos en el phylum es el Haliclona y es además el más grande de la familia Halicionidae con respecto al número de especies incluidas. De Laubenfels (10) registró cerca de 200 especies válidas como pertenecientes al género Haliclona y planteó la necesidad de una subdivisión.

Recientemente Van Soest (11), discutió los sistemas de clasificación del orden Haplosclerida y basado en el estudio de una colección de esponjas marinas del Caribe y de muchos holotipos de géneros del orden mencionado, propuso una nueva clasificación de 5 familias para este orden. A diferencia de Wiedenmayer (10) que solo reconoció 2 familias y en donde Reniera es un subgénero de

Haliclona, Van Soest (11) estableció dentro de la familia Halicionidae a Haliclona y Reniera como 2 géneros diferentes y afirmó que muchas especies de Haliclona son muy similares a las especies de Reniera y que estos 2 géneros han sido confundidos más frecuentemente como del mismo género que identificados por separado.

Un ejemplo de que la taxonomía en la familia Halicionidae es confusa, se tiene en el estudio sobre esteroides que realizó Bergmann (12) en la esponja Chalina arbuscula Verrill y que a sugerencia del eminente taxónomo de esponjas De Laubenfels, el nombre de esta esponja debió de ser cambiado a Haliclona arbuscula, debido a que estudios taxonómicos más recientes han mostrado que la esponja es un representante típico del género Haliclona.

Bergmann (13), mostró que existen diferencias específicas en el contenido de esteroides en esponjas y que este hecho parece tener relación para la diferenciación taxonómica a un nivel generico. El sugirió 4 subdivisiones dentro del género Haliclona, basándose en el contenido de esteroides. Dicha sugerencia no fué trascendental, pues la taxonomía química, otro posible recurso sistématico para el Biólogo, no parece tener éxito debido a la dificultad de analizar químicamente a todos los especímenes por identificar. Lo más que puede esperarse es que un análisis de los metabolitos secundarios pueda ocasionalmente sugerir sea que una es-

pecie ha sido asignada a un género equivocado y sea digno de re-examinarse por el taxónomo.

La distribución del género Haliciona en aguas de la plataforma continental que rodea las costas de México, tanto en el Golfo de México, en el Caribe, en el Golfo de California como a lo largo del Pacífico, es muy amplia encontrándose las siguientes especies: Haliciona doria, Haliciona erina, Haliciona hogarthi, Haliciona viridis, Haliciona scbasis, Haliciona permollis, Haliciona cinerea, Haliciona palmata y Haliciona sp (14 a 18). El género Haliciona presenta especies de distribución circuntropical como Haliciona viridis, algunas especies que se les encuentra en todo el mundo como Haliciona aqueductus y otras que se les localiza tanto en el Atlántico como en el Pacífico como son Haliciona permollis y Haliciona palmata (10).

La esponja Haliciona sp se localiza en el Pacífico de México, en la Bahía de Acapulco y en la región de Ixtapa-Zihuatanejo, Gro. Se le encuentra siempre bajo sustrato rocoso a una profundidad de 0.2 a 10.0 m, con una mayor abundancia entre los 3 y 10 m. Su forma es variable, desde masiva a incrustante con prolongaciones digitiformes, pasando por flabelada. En general su tamaño es variable y va desde muy pequeña hasta grandes masas de 12 cm de largo por 15 cm de espesor. Su consistencia en vivo es compresible, pero fragil; preservada seca es rígida y quebradiza. Su color en

vivo es azul brillante. La superficie es lisa, provista de numerosos ósculos, con diámetro que varía de 4 a 11 mm, el promedio es de 10 mm. No presenta especialización dérmica definida. El endosoma lo constituye una trama isodictial compuesta por espículas del tipo oxaeas astadas, cuya longitud es de 114-168-173 μ y 3-7-9 μ .

ANTECEDENTES

El estudio de los compuestos químicos extraídos de la biota existente en México ha tenido gran importancia desde la época precolombina, en que los productos de origen vegetal y animal eran usados con fines medicinales y artesanales. El interés por estas sustancias continuó durante la época colonial y en la actualidad ha tenido éxitos notables como el descubrimiento y la utilización de los esteroides del barbasco, compuestos empleados en la industria farmacéutica. Se puede mencionar también las investigaciones sobre el aislamiento y la determinación de la estructura de los principios activos en plantas que contienen drogas alucinógenas como la mezcalina del peyote y la psilocibina del hongo Psilocibe mexicana (19). Se pueden añadir otros ejemplos de drogas y compuestos bioactivos útiles al hombre, aislados de plantas y animales nativos de México; pero ante el apreciable desarrollo en la Química de los metabolitos secundarios de vegetales y animales de origen terrestre. ¿Que se puede decir sobre estudios similares en la flora y en la fauna del mar?

El escaso número de productos provenientes de organismos marinos aplicables en la medicina, se debe sobre todo a la falta de estudios sobre los agentes altamente activos que se encuentran disponibles en los especímenes marinos más que en la poca cantidad de sustancias farmacológicamente interesantes, susceptibles de obtenerse de los mares.

Las revisiones recientes hechas por Premuzic (20), Grossert (21), Faulkner (22) y Schauer (23), junto con un número creciente de publicaciones en la bibliografía específica, reflejan el potencial de los organismos marinos como un posible apoyo en la obtención de sustancias orgánicas, algunas de ellas con actividad biológica.

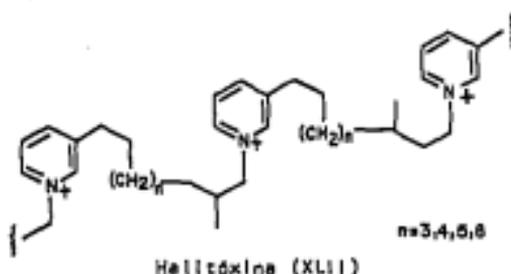
Halstead (24), mencionó que hasta el año de 1965 la Farmacología y la Química de las esponjas eran desconocidas. En la actualidad las técnicas en la investigación continúan mejorando y permiten al personal que labora en este campo a efectuar separaciones de mezclas complejas, desarrollar determinaciones estructurales de pequeñas cantidades de material y hacer mucho más de lo que se hizo en el pasado.

Las esponjas, animales multicelulares muy primitivos, han recibido una gran atención lo que ha resultado en el descubrimiento de muchas estructuras nuevas. Desde el trabajo pionero de Bergmann (25) sobre ácidos grasos y esteroides de esponjas, casi un centenar de diferentes compuestos han sido aislados, la mayoría de ellos desde el inicio de la década de los 70's (26).

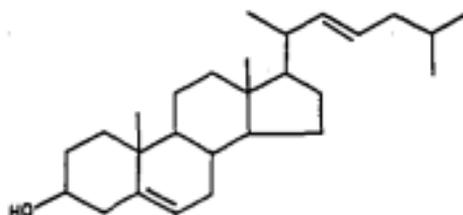
El estudio de la actividad antimicrobiana en esponjas marinas se ha incrementado, tanto desde el punto de vista de la Ecología Marina como del descubrimiento de nuevas drogas. En cuanto a esto último, al principio tales estudios consistían en aspectos cualitativos o purificaciones parciales de los extractos (27 a 30).

Actualmente la purificación y la elucidación estructural de los agentes antimicrobianos es total. En la Tabla 3 se muestra una lista de compuestos (XI a XLI) que presentan actividad antimicrobiana *in vitro* en cepas de microorganismos patógenos; estos compuestos han sido aislados de una variedad de especies de esponjas que se han colectado en aguas marinas de diferentes localidades del mundo (31 a 57).

Algunas de las especies del género Haliciona han sido estudiadas químicamente y los resultados que se encuentran en la bibliografía muestran que la toxicidad es una característica de estas esponjas. De varias especies del género Haliciona como son Haliciona viridis, Haliciona rubens y Haliciona erina se aisló un compuesto tóxico de sales de piridonio de alto peso molecular al que se nombró Halitóxina (XLII), que es citotóxico y tóxico en peces y ratones; además presentó actividad antimicrobiana contra 2 de 15 microorganismos probados: Bacillus subtilis y Streptococcus pyogenes (58).



Las esponjas contienen una gran diversidad de esteroides, la mayoría de estos se encuentran en forma de mezclas, pero con los avances recientes en las técnicas cromatográficas es ahora posible separar muchas de estas mezclas complejas. En 1974, Sheikh y Djerasi (59) reportaron varios esteroides aislados de 2 esponjas del género Haliciona colectadas en la costa de California: Haliciona permollis y Haliciona sp que contienen esteroides mono y diinsaturados, tal como el 24-Nor-colesta-5, 22 (trans)-dien-3 β -ol (XLIII).



24-Nor-colesta-5, 22 (trans)-dien-3 β -ol (XLIII)

En el Instituto de Química se han realizado estudios químicos en esponjas marinas, entre las cuales se trabajó la esponja Haliciona rubens (60) colectada en el arrecife "La Blanquilla" en Veracruz, Ver., durante el año de 1977 y de la cual se aislaron e identificaron los compuestos que se muestran en la Tabla 4, estos son: β -sitosterol (XLIV), N-metilaurina (XLV), 24-etil-colest-6-en-5 α , 8 α -epidioxi-3- β -ol (XLVI), ergosta-6, 22-dien-5 α , 8 α -epidioxi-3- β -ol (XLVII) y colest-6-en-5 α , 8 α -epidioxi-3- β -ol (XLVIII).

Durante la expedición que realizó en 1978 el buque de investigación R/V Alpha Helix del Instituto Scripps de Oceanografía por la costa del Pacífico de México, se incluyó una esponja de color azul intenso entre los ejemplares colectados en Isla Grande, Gro., que fué identificada como perteneciente al género Renziera por Rutzler (46), del Instituto Smithsonian. En 1979, Green (61), del Centro de Ciencias del Mar y Limnología colectó una esponja similar en la región de Zihuatanejo, Gro., la que asignó al género Haliclona. Esta situación motivó cierta confusión debido a que en la literatura científica, cada grupo de investigación describe una esponja con características semejantes y colectadas en localidades adyacentes bajo 2 diferentes nombres: Renziera sp y Haliclona sp, dependiendo en cada caso del autor responsable de la publicación.

TABLA 3

Compuestos con actividad antimicrobiana aislados de esponjas.

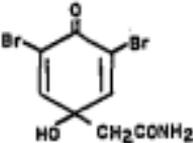
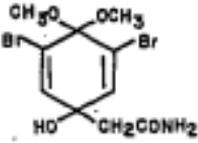
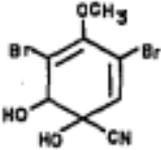
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Verongia</u> <u>cauliformis</u>	
4-acetamido-2,6-dibromo-4-hidroxiciclohexadienona (XI)	<u>Verongia</u> <u>fistularis</u>	31
	<u>Verongia</u> <u>thiona</u>	
	<u>Verongia</u> <u>cauliformis</u>	
3-acetamido-1,5-dibromo-6,6-dimetoxi-3-hidroxi-1,4-ciclo hexadieno (XII)	<u>Verongia</u> <u>fistularis</u>	32
	<u>Verongia</u> <u>aerophoba</u>	33
Aeroplysinina-1 (XIII)	<u>Verongia</u> <u>archeri</u>	34

tabla 3, continuación

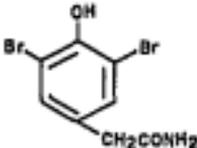
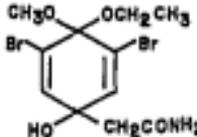
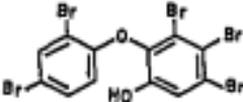
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Veronala</u> <u>archeri</u>	34
3,5-dibromo-4-hidroxifenil- acetamida (XIV)		
	<u>Veronala</u> sp	35
3-acetamido-1,5-dibromo-6-etoxi- 3-hidroxi-6-metoxi-1,4-ciclo hexadieno (XV)		
	<u>Oysidea</u> <u>herbacea</u>	36
1-(2',4'-dibromofenoxil)-2-hidroxi- 4,5,6-tribromobenceno (XVI)		

tabla 3, continuación

ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Dysoidea</u> <u>herbacea</u>	36
1-(4'-bromofenoxil)-2-hidroxi-5-bromobenceno	(XVII)	
	<u>Phakellia</u> <u>fiabellata</u>	37
X=Br 4,5-dibromofakellina	(XVIII)	
X=H 4-bromofakellina		
	<u>Acales</u> sp	38
R ₁ =OH R ₂ =H 4,6-dihidroxiindol	(XIX)	
R ₁ =H R ₂ =OH 6,7-dihidroxiindol		

tabla 3, continuación

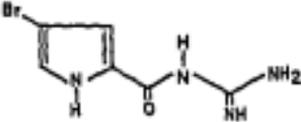
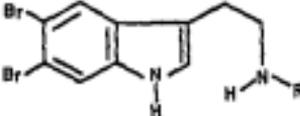
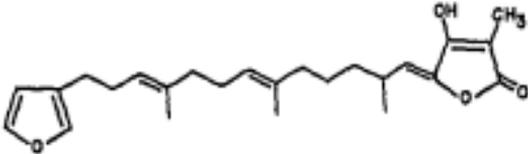
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Agelas</u> sp	22
N-amidino-4-bromopirrol-2-carboxamida (XX)		
	<u>Polyfibrospongia</u> <u>maynardii</u>	39
R=H 5,6-dibromotriptamina (XXI) R=CH ₃ N-metil-5,6-dibromotriptamina		
	<u>Ircinia</u> <u>variabilis</u>	40
Variabilina (XXII)		

tabla 3. continuación

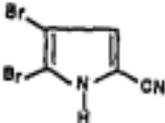
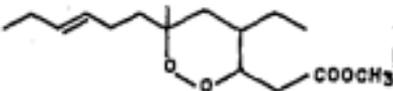
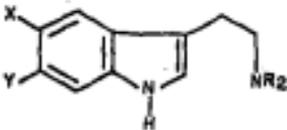
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Agelas</u> <u>roides</u>	41
4,5-dibromo-2-cianopirrol (XXIII)		
	<u>Plakortia</u> <u>halichondrioides</u>	42
Plakortina (XXIV)		
	<u>Smenospongia</u> <u>aurae</u> <u>Smenospongia</u> <u>echina</u>	44
R=CH ₃		
X=Br Y=H 5-bromo-N,N-dimetiltriptamina (XXV)		
X=Br Y=Br 5,6-dibromo-N,N-dimetiltriptamina		

tabla 3, continuación

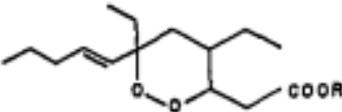
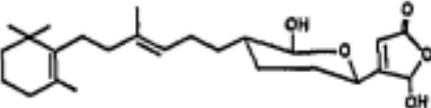
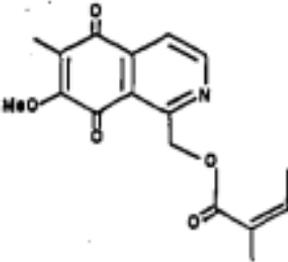
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Chondrosia</u> <u>collectrix</u>	43
R=CH ₃ 4,6-dietil-3,6-peroxy-7-undecenoato de metilo	(XXVI)	
R=H ácido 4,6-dietil-3,6-peroxy-7-undecenoico		
	<u>Luffariella</u> <u>variabilis</u>	45
Manoalida (XXVII)		
	<u>Raniera</u> sp	46
Ranierona (XXVIII)		

tabla 3, continuación

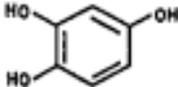
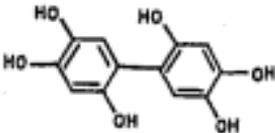
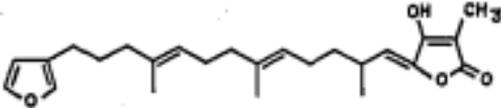
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Axinella</u> <u>polycapella</u>	47
1,2,4-trihidroxibenceno (XXIX)		
	<u>Axinella</u> <u>polycapella</u>	47
2,2',4,4',5,5'-hexahidrobifenilo (XXX)		
	<u>Ircinia</u> <u>strobilina</u>	48
Estrobilinina (XXXI)		

tabla 3, continuación

ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Sifonodictyon</u> <u>coralliphagum</u>	49
Sifonodictyal-A (XXXII)		
	<u>Sifonodictyon</u> <u>coralliphagum</u>	49
Sifonodictyal-B (XXXIII)		
	<u>Agelas</u> <u>sceptrum</u>	50
Esceptrin (XXXIV)		

tabla 3, continuación

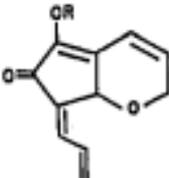
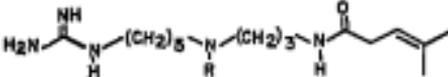
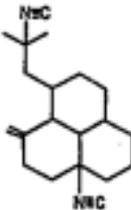
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Viosa</u> sp	51
<p>R=H 2-hidroxi-3,4-(2H-5,6-dihidro pirano)-5-propilidien-2,3-ciclo pentenona</p>		
(XXXV)		
		
Acarnidinas (XXXVI)		
R=-CO(CH ₂) ₁₀ CH ₃	<u>Acarnus</u>	52
R=-CO(CH ₂) ₃ CH=CH(CH ₂) ₅ CH ₃	<u>erithacus</u>	
R=-COC ₁₃ H ₂₁		
	<u>Hymeniacidon</u> <u>amphilecta</u>	53
8,15-dilsociano-11(20)-anfillecteno (XXXVII)		

tabla 3, continuación

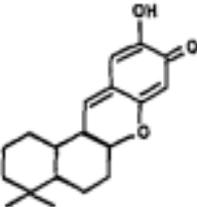
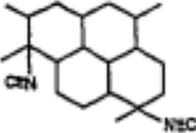
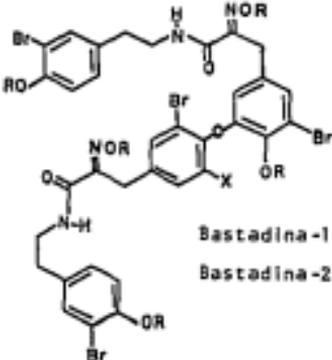
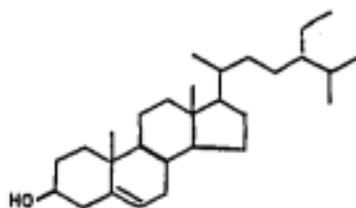
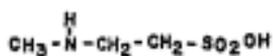
ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Chondrosia</u> <u>chucalla</u>	54
Puupehenona (XXXVIII)		
	<u>Adocia</u> sp	55
Dilsocianoadociano (XXXIX)		
	<u>Ianthella</u> <u>basta</u>	56
Bastadina-1 R=X=H Bastadina-2 R=H X=Br (XL)		

tabla 3, continuación

ESTRUCTURA	FUENTE	REFERENCIA
	<u>Spongia</u> <u>officinalis</u>	57
I R=CO ₂ H II R=CHO III R=Me	Acido espongia-13(16), 14-dien-19-oico Espongia-13(16), 14-dien-19-al Espongia-13(16), 14-dieno	(XLI)

TABLA 4

Compuestos aislados de la esponja *Haliciona rubens*, colectada en el arrecife "La Blanquilla" Veracruz, Ver.

 β -sitosterol (XLIV)

N-metilaurina (XLV)

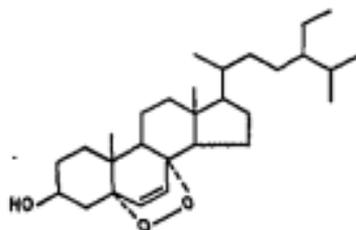
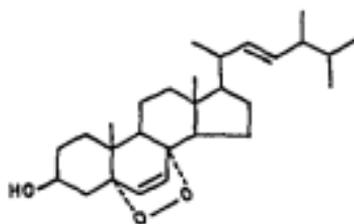
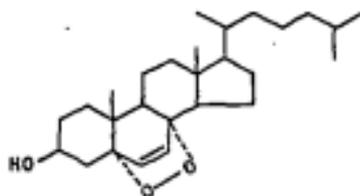
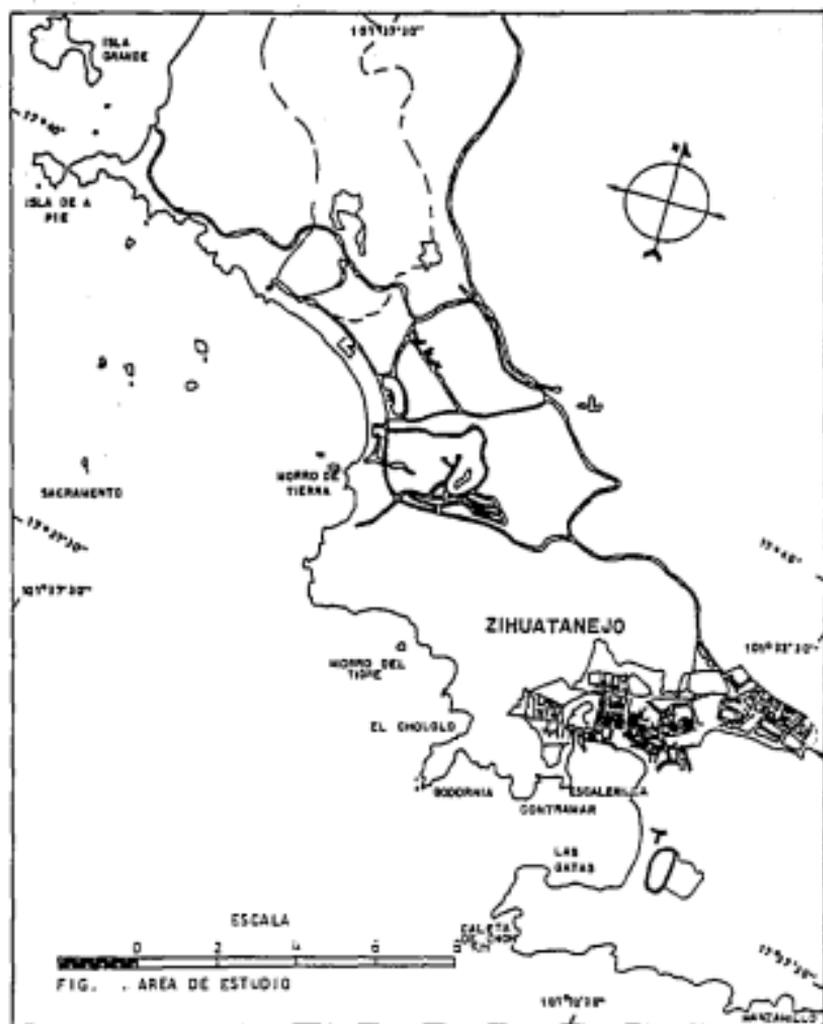
24- β -etil-colest-6-en-5 α , 8 α -epidioxi-3 β -ol (XLVI)

tabla 4, continuación

ergosta-6, 22-dien-5 α , 8 ω -epidioxi-3 β -ol (XLVII)colest-6-en-5 α , 8 ω -epidioxi-3 β -ol (XLVIII)



MATERIAL Y METODOS

El material biológico se colectó manualmente entre una profundidad de 3 y 10 m en la región de Zihuatanejo, Gro., en las localidades "Playa Manzanillo" y "Contramar" durante los meses de agosto de 1979 y noviembre de 1981 y se transportó congelado para su posterior tratamiento en el laboratorio.

Un peso húmedo de 1250 g de material libre de fauna asociada como son poliquetos, ofiúridos y crustáceos, se homogeneizó 3 veces con 4,5 l de metanol. La suspensión obtenida se filtró a vacío, separándose 174 g de un sólido y una solución metanólica que se concentró a presión reducida a 50°, éste residuo se resuspendió en una cantidad equivalente de agua y se extrajo 3 veces con 3,6 l de acetato de etilo, separándose la fase orgánica de la fase acuosa. El extracto de acetato de etilo se concentró a vacío a 50°, del cual se obtuvieron 8,59 g de un residuo de color café oscuro.

Dicho residuo fué purificado en una columna con 600 g de gel de sílice (malla 70-230), eluyendo inicialmente con hexano e incrementando la polaridad con benceno, cloroformo, acetato de etilo y metanol. Obteniéndose un total de 635 fracciones de 150 ml cada una.

En resumen, se obtuvieron las siguientes fracciones:

No. de fracción	mezcla de eluyentes utilizados
1 a 9	hexano 100 %
10 a 75	hexano-benceno (50-50, 25-75 y 20-80 %)
76 a 185	hexano-cloroformo (75-25, 60-40 y 50-50 %)
186 a 623	hexano-acetato de etilo (90-10, 80-20, 70-30, 50-50 y 25-75 %)
624 a 635	metanol 100 %

A cada fracción se le practicó un ensayo bacteriológico para determinar en cuales se presentaban los compuestos antimicrobianos. De la fracción 1 a la 200, los resultados fueron negativos; todas las demás, desde la 201 hasta la última contenían sustancias que hacían que apareciera un halo de inhibición en los cultivos.

Cromatografía de la fracción 221 a 336

Las fracciones 221 a la 300 eluidas con hexano-acetato de etilo 90-10 %, las fracciones 301 a 324 eluidas con hexano-acetato de etilo 80-20 % y las fracciones 325 a 336 eluidas con hexano-acetato de etilo 70-30 %, se reunieron y se recromatografiaron en cromatoplaques de sílice, usando como eluyente una mezcla de benceno-acetato de etilo 50-50 %, de las cuales se obtuvo un material de color rojo, el que se acetiló en frío con 0.1 ml de piridina y

0.1 ml de anhídrido acético, después se resuspendió en agua la mezcla de reacción y se extrajo 3 veces con 50 ml de diclorometano, posteriormente la capa orgánica se agitó 3 veces con 100 ml de ácido clorhídrico al 10 % y se repitió la operación con 100 ml de agua, finalmente se secó con sulfato de sodio. Debido a que el producto de acetilación presentaba impurezas, se lo fraccionó en una columna con 5 g de gel de sílice (0.02-0.06 mm), eluyendo inicialmente con hexano y aumentando la polaridad con acetato de etilo y metanol. De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 95-5 %, se purificó un producto en cromatoplaques de sílice (0.2 mm de espesor), de las cuales se obtuvieron 25 mg de un sólido rojo no cristalino que se identificó como una mezcla de 2 isómeros de la N-formil-1,2-dihidroronierona (XLIX) y (L), (64).

Cromatografía de la fracción 418 a 453

Las fracciones 418 a 453 eluidas con hexano-acetato de etilo 50-50 %, se recromatografiaron en cromatoplaques de sílice, utilizando como eluyente una mezcla de benceno-acetato de etilo 50-50 % de las cuales se obtuvieron 15 mg de un compuesto cristalino amarillo con punto de fusión de 214-216°. El producto anterior se recrystalizó disolviéndolo en diclorometano a temperatura ambiente, después se dejó evaporar el disolvente quedando en el matraz los cristales, los cuales se filtraron y se lavaron con éter etílico, finalmente se obtuvieron 10 mg de los cristales amarillos en

forma de agujas con un punto de fusión de 222-223^o, los que se identificaron tanto por sus constantes físicas como por sus datos espectroscópicos como Mimosamycina (Li), (64).

Cromatografía de la fracción 503 a 562

De las fracciones 503 a 562 eluidas con hexano-acetato de etilo 50-50 %, se obtuvieron 30 mg de un sólido café, el cual fué posteriormente purificado en cromatoplaques de sílice (0.25 mm de espesor), usando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo 70-30 %, obteniéndose 2 compuestos los que se separaron en base a su solubilidad en diclorometano. Del más abundante se aislaron 25 mg de un sólido amarillo que fué soluble en el disolvente y que presentó un punto de fusión de 135-136^o y del segundo 5 mg de un sólido rojo que fué insoluble y que fundió con descomposición a los 180^o. El compuesto amarillo, presentaba impurezas por lo que se aplicó en cromatoplaques de sílice, las que se eluyeron en una mezcla de hexano-acetato de etilo 50-50 %, obteniéndose 22 mg de un compuesto cristalino amarillo con un punto de fusión de 131-132^o, los que se identificaron como la O-demetilrenlerona (Lii), (64). Por otra parte, al compuesto rojo debido a la poca cantidad obtenida y a su insolubilidad en disolventes poco polares, hasta el momento no se ha determinado totalmente su estructura.

Para verificar que la estructura asignada a la O-demetilrenierona (LII), fuese la correcta se procedió a preparar 2 derivados, el acetilado y el metilado.

Acetilación de (LII)

Se disolvieron 3 mg del producto (LII) en 0.1 ml de piridina y se le adicionó 0.1 ml de anhídrido acético. La mezcla de reacción se dejó durante 1 hora a temperatura ambiente, posteriormente se eliminó el exceso de reactivos por medio de alto vacío y finalmente se obtuvo el derivado acetilado de la O-demetilrenierona (LIII).

Metilación de (LII)

En un matraz erlenmeyer de 5 ml se colocaron 1 ml de hidróxido de sodio al 40 % y 2 ml de éter etílico. En frío se agregó lentamente y en pequeñas porciones 20 mg de N-nitrosometilurea, dejando que reaccionara hasta la formación de diazometano. Se separó la fase acuosa y la fase etérea se añadió a una solución de 2 mg del compuesto (LII) disuelto en 10 ml de cloroformo, dejando la mezcla de reacción durante 1 hora a temperatura ambiente, después se eliminó el exceso de disolvente y reactivos al alto vacío para finalmente obtener el derivado metilado de la O-demetilrenierona (XXVIII).

Las constantes físicas y los datos espectroscópicos que se les determinaron a los compuestos obtenidos de la esponja, fueron efectuados en los siguientes aparatos: Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 283 B, en película. Los espectros de UV se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 552, en metanol. Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro Hewlett-Packard modelo 5985. Los espectros de RMN se determinaron en un espectrómetro analítico Varian modelo FT-80 y HA-100, en solución de CDCl_3 y en acetona deuterada o CDCl_3 - DMSO ; los desplazamientos químicos (δ), están dados en ppm, referidos al TMS como referencia interna. La multiplicidad de las señales se indican como: s=simple, d=doble, dd=doble de doble, m=multiplete y a=señal ancha.

Las cromatografías se efectuaron en cromatoplaques de gel de sílice 60 F₂₅₄ con espesor de 2 mm y 0.25 mm y gel de sílice para cromatografía en columna de malla 70-230 y de 0.02-0.06 mm. La pureza de los productos se siguió mediante cromatoplaques de gel de sílice 60 F₂₅₄ de 0.25 mm de espesor, revelándose con luz UV únicamente.

Pruebas de antibiosis de los compuestos aislados de la esponja

Las pruebas de antibiosis se hicieron sobre microorganismos en mg

dio sólido (agar nutritivo DIFCO), por medio de sensidiscos que se obtuvieron en papel filtro Whatman # 42, con un diámetro de 5.5 mm.

Los microorganismos utilizados en las pruebas fueron:

Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae y Candida albicans.

Para efectuar la prueba, se procedió de la siguiente manera: en los discos de papel filtro se concentró 1 ml del extracto y se dejó secar a temperatura ambiente. A cada uno de estos discos se le agregaron 5 gotas de cloroformo para evitar la contaminación microbiana de los mismos y se dejó evaporar el disolvente. Se colocaron los discos, separados de tal manera que en caso de haber inhibición, esta fuera percibida claramente y no se presentara sobreposición de los halos. Se utilizó un testigo que llevaba solamente unas gotas del disolvente y cloroformo, que se dejaron evaporar. Se colocaron en un refrigerador durante 90 minutos con el fin de retardar el crecimiento bacteriano, mientras la sustancia impregnada en el disco se difundía en el agar. Posteriormente las cajas de Petri se incubaron a 37° y se registraron los datos a las 24 horas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Debido a que los organismos terrestres y marinos habitan en ambientes diferentes, debe esperarse que sus metabolitos secundarios difieran en sus estructuras. Los organismos marinos a diferencia de los terrestres tienen que soportar una presión mayor, una temperatura más estable y una intensidad luminosa menor, lo que probablemente pueda ocasionar que algunos compuestos que normalmente sean considerados como poco comunes en el medio terrestre, puedan existir en plantas y animales marinos. Tal vez, la más grande divergencia entre los dos ambientes radica en las altas concentraciones iónicas encontradas en el mar, a lo cual sin duda se debe la gran proporción de halógenos que contienen muchos productos marinos.

La esponja Haliciona sp habita en aguas someras cuya temperatura oscila entre un mínimo de 24.4° al inicio de la primavera y un valor máximo de 30.8° a fines de verano; una salinidad mínima de $35.31^{\circ}/\text{oo}$ en abril y un valor máximo de $35.55^{\circ}/\text{oo}$ en octubre. La turbidez de la columna de agua es variable, encontrándose durante la mayor parte del tiempo sólidos en suspensión (62).

La fauna Porifera de la región de Zihuatanejo, Gro., esta constituida además de Haliciona sp por las siguientes especies: Gorgia mesotriena, Cliona vermifera, Axinella reticulata, Mycale microsignatosa, Zygomycala parishii, Myxilla rosacea, Tedania

nirescens, Haliciona sp 1, Callispongia sp 1, Callispongia sp 2, Hvattella intestinalis, Hexadella pureurea, Aplysina fulva, Aplysina cf. lendenfeldi, Aplysina sp, Haplosclerida indeterminada (63). Es interesante notar que de todas las esponjas colectadas, el único extracto metanólico que tuvo la capacidad de inhibir el crecimiento de los microorganismos patógenos tanto Gram-positivos como Gram-negativos y hongos ensayados, fué el de Haliciona sp. Se seleccionó esta especie para su estudio debido a su gran capacidad antimicrobiana y antifúngica, como a su disponibilidad en biomasa.

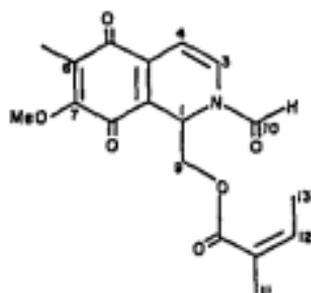
Posteriormente se realizaron ensayos bacteriológicos en las cepas de prueba con las fracciones de diferente polaridad obtenidas de la cromatografía en columna, con la que se fraccionó el extracto de acetato de etilo y se observó que a pesar del gradiente de polaridad de las fracciones, la mayoría de ellas eran bioactivas, por lo que se pensó que podían ser varios los compuestos antimicrobianos presentes en la esponja.

Al purificar por medio de cromatografía en columna y en placa fina el residuo del extracto de acetato de etilo, se confirmó que realmente la esponja contenía varias sustancias con actividad antimicrobiana.

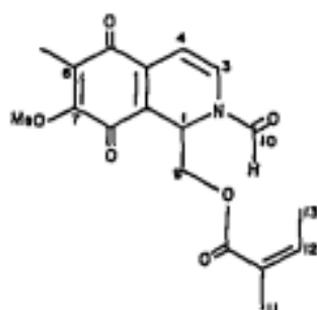
En 1979, McIntyre et al (64) reportaron la presencia de un metabolito antimicrobiano al que llamaron Renierona (XXVII), aislado

de una esponja colectada en Isla Grande, Gro., asignada al género Reniera la cual presenta algunas características físicas similares a la esponja colectada por Green (61) en Zihuatanejo, Gro. Aunque podría ser muy probable que se tratara de la misma especie de esponja, se decidió continuar con su estudio pues con los experimentos realizados se podía llegar a la identificación de los agentes antimicrobianos que contenía y verificar al mismo tiempo si realmente se trataba de la misma especie.

De las fracciones menos polares del extracto de acetato de etilo 221 a 336, se aisló un sólido rojo no cristalino que en placa fina presentaba una sola mancha, pero un análisis cuidadoso del espectro de RMN derivó en las estructuras de los compuestos (XLIX) y (L) como los más probables.



Isómero "A" de la N-formil-1,2-dihidrorenierona (XLIX)



Isómero "B" de la N-formil-1,2-dihidrorenierona (L)

El análisis del espectro de RMN de la mezcla del isómero "A" (XLIX) y del isómero "B" (L), permitió establecer el desplazamiento químico de algunas señales de los protones de las moléculas, lo que condujo a proponer para estos compuestos una estructura del tipo 1,2,5,8-tetrahidroisoquinolina-5,8-diona con un sustituyente éster angélico en la posición 1.

En el espectro de RMN de el isómero "A" (XLIX) se presentaron para el sistema bicíclico del compuesto, las siguientes señales: un singulete en 1.95 ppm (3H) correspondiente a un grupo metilo de tipo aromático y otro singulete en 4.05 ppm (3H) de un grupo metoxilo; también se observaron 2 dobletes, uno en 6.89 ppm (1H) y el otro en 6.01 ppm (1H) correspondientes a los protones de una doble ligadura; además se distingue un singulete en 8.39 ppm (1H) para el protón del grupo formilo y 2 señales doble de dobles una en 4.21 ppm (1H) y la otra en 4.37 ppm (1H) correspondientes a un metileno que interactúa con un protón de un metino. Por otra parte, se puede asignar para el éster α,β -insaturado una señal simple en 1.77 ppm (3H) correspondiente a un grupo metilo.

El isómero "B" (L), presentó señales similares a las del isómero "A" (XLIX): en 1.98 ppm (s, 3H), en 4.04 ppm (s, 3H); también se presentan 2 dobletes, en 6.22 ppm (1H) y en 6.89 ppm (1H) que pertenecen a los protones de la doble ligadura carbono-carbono que se encuentra adyacente al nitrógeno; en 8.39 ppm (1H) un sig

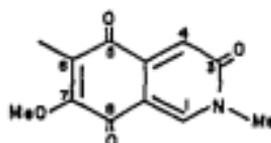
gulate debido al hidrógeno del grupo formilo, dos señales doble de dobles, una en 3.91 ppm (1H) y la otra en 4.24 ppm (1H) para el metileno que une al éster con el anillo bicíclico. Finalmente se observaron en las señales correspondientes al éster angélico: en 1.87 ppm (s, 3H) una señal simple que pertenece a un grupo metilo.

Las señales para el protón del grupo metino (1H) de la 1,2,5,8-tetrahidroisoquinolina que está unido al éster del ácido angélico, así como las del protón vinílico y del metilo terminal del éster, se encuentran ocultas por otras señales en el espectro de RMN de los isómeros "A" (XLIX) y "B" (L), por lo que no fué posible establecer sus desplazamientos químicos.

La banda de IR de los isómeros "A" (XLIX) y "B" (L) en 1710 cm^{-1} puede asignarse al carbonilo del éster insaturado y la banda en 1655 cm^{-1} a las funciones carbonilo tanto del grupo formilo como las del sistema quinóide de la molécula. El espectro en el UV mostró absorciones en 206 nm (ϵ 3182), 275 nm (ϵ 1809) y 325 nm (ϵ 1015). No fué posible obtener el espectro de masas de los isómeros "A" (XLIX) y "B" (L) pues al compuesto ya introducido en el espectrómetro de masas se descompuso, indicando la dificultad para fragmentar las moléculas.

De las fracciones 418-453 se obtuvo un sólido amarillo con punto

de fusión de 218-219°, el cual por recristalización dió un punto de fusión de 222-223°. Este compuesto se identificó como una 2,3,5,8-tetrahidroisoquinolina-3,5,8-triona (LI) en base a sus datos espectroscópicos, principalmente de su espectro de RMN que mostró las siguientes señales: en 2.05 ppm un singlete (3H) correspondiente a un grupo metilo de tipo aromático, en 3.65 ppm un singlete (3H) que pertenece a un grupo metoxilo, en 4.15 ppm un singlete (3H) de un metilo unido a un nitrógeno de una amida cíclica y por último en 7.05 ppm (1H) y en 8.20 ppm (1H), 2 singletes debidos a los 2 protones vinílicos que contiene la molécula.



Mimosamicina (LI)

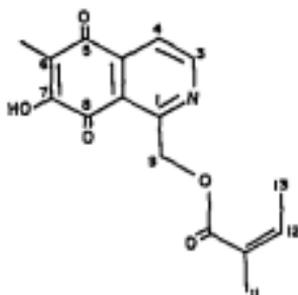
Su espectro de IR presentó en 1680 cm^{-1} una banda intensa de carbonilo de quinona y en 1645 cm^{-1} otra banda intensa correspondiente a carbonilo de amida. Los datos de UV indican absorciones en 210 nm (ϵ 39465) y en 316 nm (ϵ 21809), debido a la presencia de dobles ligaduras conjugadas. El espectro de masas dió un peso molecular de 233, que es congruente con la estructura LI que se identificó como Mimosamicina por comparación de sus constantes

físicas con las reportadas en la bibliografía (64) y por los datos espectroscópicos que concuerdan con las señales que deberían presentar en los espectros, la estructura propuesta.

Por otro lado, de la fracción 503-562 eluida con una mezcla de hexano-acetato de etilo 50-50 %, se aislaron 2 compuestos, el primero fué un sólido amarillo y el segundo un sólido rojo. El compuesto amarillo se obtuvo como un sólido cristalino con punto de fusión de 131-132°, al cual se le realizó un estudio espectroscópico. Del espectro de RMN se pudo deducir que este compuesto (LII) presenta una estructura del tipo 5,8-dihidroisoquinolina-5,8-diona con un éster del ácido angélico en la posición uno. Su espectro de RMN presentó señales en: 2.11 ppm un singulete (3H) correspondiente a un grupo metilo de tipo aromático; dos dobletes uno en 7.91 ppm (1H) y el otro en 8.92 ppm (1H) pertenecientes a los 2 hidrógenos de la doble ligadura que se encuentra en las posiciones 3 y 4, en 5.85 ppm otro singulete (2H) para metileno base del éster. Para el éster angélico se pudo observar en 1.95 ppm un singulete (3H) perteneciente a un metilo y en 6.08 ppm un cuádruplo (1H) correspondiente al protón vinílico.

El espectro de IR presentó una banda ancha en 3410 cm^{-1} perteneciente a un grupo hidroxilo y en 1660 cm^{-1} banda de carbonilo para el sistema quínoido. Las absorciones en el UV en 212 nm (ϵ 16645) y 287 nm (ϵ 8216) indican que las dobles ligaduras de la

molécula están conjugadas. La espectrometría de masas dió un peso molecular de 301, que concuerda con la fórmula propuesta (Lii).

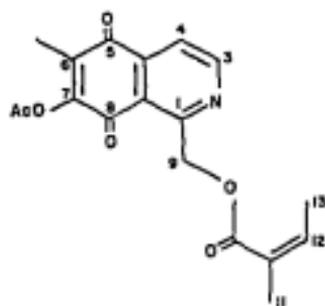


O-demetilrenierona (Lii)

La presencia de la banda para un grupo hidroxilo en 3410 cm^{-1} en el espectro de IR y la ausencia de la señal para un metoxilo en el espectro de RMN sugieren que la presente estructura (Lii) contiene un grupo hidroxilo en su parte cíclica.

Para comprobar la presencia del grupo hidroxilo en la estructura propuesta (Lii), se acetiló y se metiló el compuesto. El derivado acetilado se obtuvo con anhídrido acético en piridina, resultando el acetato (Liii) como una sustancia no cristalina. Su espectro de RMN es muy similar al de la materia prima (Lii), con la dife-

rencia que se tiene la presencia de una nueva señal: un singulete (3H) en 2,42 ppm asignado al metilo del acetato. Las demás señales son las siguientes: en 2,11 ppm un singulete (3H) perteneciente a un metilo, en 1,96 ppm otro singulete (3H) para otro metilo, en 5,76 ppm un singulete (2H) para un metileno y finalmente 2 dobletes, uno en 7,82 ppm (1H) y el otro en 8,92 ppm (1H) correspondientes a los protones de una doble ligadura conjugada.



Acetato de la 0-demetilrenierona (L111)

El compuesto (L11) se metiló en presencia de diazometano, obteniéndose el derivado correspondiente (XXV111) como un producto crudo que presentó en el espectro de RMN una nueva señal que no aparecía en la RMN del material original: un singulete en 4,13 ppm (3H) para un metoxilo. Las demás señales de la RMN son: dos

singuletes, uno en 1.97 ppm (3H) y el otro en 2.09 ppm (3H) ambos de metilo, otro singulete en 5.76 ppm (2H) perteneciente a un metilo y por último 2 dobletes, uno en 7.84 ppm (1H) y el otro en 8.87 ppm (1H) correspondientes a los hidrógenos del doble enlace presente en los carbonos 3 y 4.

Después de analizar los datos espectroscópicos tanto de la sustancia original como también de los derivados obtenidos de esta última, el compuesto se caracterizó como la 0-denetilrenierona (LI), (64).

Como se mencionó anteriormente, también se aisló de las fracciones 503-562 eluidas con una mezcla de hexano-acetato de etilo 50-50 %, un sólido rojo que funde con descomposición a los 180°. Este compuesto fué insoluble en disolventes de baja polaridad, por lo que su espectro de RMN se corrió en acetona deuterada y en $\text{CCl}_3\text{-DMSO}$, de cualquier manera estos 2 últimos disolventes causan interferencias con las señales atribuidas al compuesto lo que impide hacer un buen análisis de los desplazamientos químicos de los protones en el espectro. Si se suma a esta situación la poca cantidad (5 mg) de compuesto obtenido, el resultado es que de los datos espectroscópicos solamente se pueden hacer ciertas observaciones sin que estas culminen en una elucidación estructural total. La RMN exhibió las siguientes señales: en 5.65 ppm un singulete (2H) para un metileno, en 6.05 ppm un cuarteto (1H)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

para un protón vinílico de carbono unido a un nitrógeno y por último 2 dobletes, uno en 7,82 ppm (1H) y el otro en 8,70 ppm (1H) correspondientes a los protones de una doble ligadura. La obtención y el análisis de derivados del compuesto anterior sería de gran ayuda para llegar a su identificación, por lo que se intentó metilar el producto, pero sin obtener un resultado positivo. En base a lo anterior, se puede deducir únicamente que se trata de una sustancia con una estructura similar a la de la O-demetilrenierona (L11).

A mediados de 1982, Frincke y Faulkner (64) publicaron el aislamiento de los metabolitos antimicrobianos de la esponja Reniera sp colectada en Isla Grande, Gro. Algunos de los agentes antimicrobianos reportados concuerdan en sus constantes físicas y en su estructura química con las sustancias antimicrobianas aisladas en el presente trabajo. Por lo tanto, se puede pensar que la esponja identificada como Reniera sp por Rutzler (46) es la misma que la identificada como Haliciona sp por Green (61) pues sus características externas y principalmente el contenido de compuestos antimicrobianos coinciden, aunque es necesario un estudio químico más completo de los 2 ejemplares para que no exista ninguna incertidumbre en su taxonomía. Este caso de sinonimia ya ha sucedido en otras ocasiones, De Laubenfels (65) informó que muchas especies identificadas como del género Reniera pertenecen en realidad al género Haliciona debido a que son 2 géneros muy cercanos filogenéticamente.

Otros metabolitos antimicrobianos reportados por Frincke y Faulkner (64) presentes en la esponja Reniera sp de Isla Grande, Gro. se muestran en la Tabla 5. Estos son la 1,6-dimetil-7-metoxi-5,8-dihidroisoquinolina-5,8-diona (LIV), la 2,5-dimetil-6-metoxi-4,7-dihidroisoindol-4,7-diona (LV) y las Renieramycinas A, B, C y D (LVI).

Finalmente se puede deducir de la discusión de los resultados y de la información bibliográfica analizada que se presenta un campo potencialmente rico en la investigación de sustancias con actividad farmacológica, algunas de ellas con posibilidades de explotación comercial. El desarrollo de esta área dependerá definitivamente de la formación de grupos interdisciplinarios que se coordinen adecuadamente en las diferentes etapas de trabajo, que van desde asegurar un adecuado apoyo de materia prima proveniente del océano, hasta la de investigar la probable aplicación de los compuestos aislados como fármacos en el tratamiento de las enfermedades.

CONCLUSIONES

1. De la esponja Haliciona sp colectada en la región de Zihuatanejo, Gro., se preparó un extracto metanólico y de éste otro de acetato de etilo del que se aislaron y purificaron por cromatografía y recristalización e identificaron por técnicas espectroscópicas y reacciones químicas los siguientes compuestos: Mimosamicina (LI), O-demetilrenierona (LII) y 2 isómeros de N-formil-1,2-dihidrorenierona (XLIX) y (L). Se obtuvieron los derivados acetilado (LIII) y metilado (XXVIII) de la O-demetilrenierona (LII). Del mismo extracto de acetato de etilo se aisló un sólido rojo no cristalino que funde con descomposición a los 180° y cuya estructura continúa en estudio debido a que no se obtuvo la cantidad suficiente de material.
2. La capacidad antimicrobiana de las sustancias aisladas de la esponja Haliciona sp se probó con cepas de microorganismos patógenos. Se obtuvieron resultados positivos en la inhibición de las siguientes cepas: Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae y Candida albicans. Los resultados de los ensayos bacteriológicos muestran que la Mimosamicina (LI) es el compuesto que presenta una mayor actividad, siguiendo con una menor intensidad los 2 isómeros de la N-formil-1,2-dihidrorenierona (XLIX) y (L) y finalmente con la mínima la O-demetilrenierona (LII).

AGRADECIMIENTOS

- Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, en la persona de su director Dr. Agustín Ayala Castañeres y al Instituto de Química de la misma Universidad, en la persona de su director Dr. Fernando Wallis Armijo.

- Al Dr. Gerardo Green, responsable del laboratorio de Farmacología Marina del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, por la dirección y revisión de la tesis y además por sus valiosos consejos durante mis estudios de maestría. Al Dr. Tirso Ríos del Instituto de Química por la dirección y asesoramiento en el desarrollo de la tesis. A la Dra. Guadalupe de la Lanza por su constante apoyo en la culminación del presente trabajo. Al M. en C. Manuel Guzmán y al M. en C. David Valdés por la revisión y contribuciones a la tesis.

- A los Doctores Leovigildo Quijano, José Calderón y Federico Gómez del Instituto de Química, por sus aportaciones tanto en el laboratorio como en la elaboración del manuscrito.

- A la BIól. Patricia Gómez, técnico del laboratorio de Farmacología Marina por todas las facilidades ofrecidas en el laboratorio. Al M. en C. Sergio Salcedo y al BIól. Alejandro Gamboa por su ayuda en los muestreos realizados en el campo.

- Agradezco también a las siguientes personas que de alguna manera contribuyeron a la realización del presente trabajo: Dr. Luis Soto, coordinador del proyecto académico Especialización, Maestría y Doctorado en Ciencias del Mar de la Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del Colegio de Ciencias y Humanidades, a la Srta. Malena Estrella, auxiliar del proyecto, al M. en C. Eduardo Flores y a la Biól. Ligia Collado.

LITERATURA CITADA

1. GRANT, P. T. y A. M. HACKIE, 1977. Drugs from the sea, fact or fantasy?. Nature 267: 786-788.
2. RUGGIERI, G. D., 1976. Drugs from the sea. Science 194: 491-497.
3. BASLOW, M. H., 1977. Marine Pharmacology. Williams and Wilkins Co., Nueva York, 327 p.
4. YOUNGKEN, H. W. y Y. SHIMIZU, 1975. Marine Drugs: Chemical and pharmacological aspects. IN: Riley, J. P. y G. Skirrow (Eds.) Chemical Oceanography. Academic Press. Londres, 269-317 p.
5. WINDHOLZ, H. (Ed.), 1976. The Merck Index. Merck & Co. Inc. Nueva Jersey, 1313 p.
6. BERGMANN, W. y D. C. BURKE, 1955. Contributions to the study of marine products. XL. The nucleosides of sponges. IV. -- Spongosine. Journal of Organic Chemistry, 20: 1501-1507.
7. BURKHOLDER, P. R. y G. M. SHARMA, 1969. Antimicrobial agents from the sea. Lloydia, 32: 467-483.
8. RINEHART, K. L., 1981. Marine natural products as source of antiviral, antimicrobial and antineoplastic agents. Pure & Applied Chemistry : 795-817.
9. Esponja identificada en el laboratorio de Farmacología Marina del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAH.
10. WIEDENMAYER, F., 1977. Shallow-water sponges of the western Bahamas. Birkhauser Verlag, Basel und Stuttgart. Suecia, - 287 p.
11. SOEST, R. W. van, 1980. Marine sponges from Curacao and other Caribbean localities. Part. II. Haplosclerida. Stud. Fauna Curacao Caribb. Isl., 62(104): 1-173.
12. BERGMANN, W., H. P. SCHEDL y E. H. LOW, 1945. Contributions to the study of marine products. XIX. Chalinasterol. Journal of Organic Chemistry 10: 587-593.
13. BERGMANN, W. y R. FEENEY, 1949. Contributions to the study of marine products. XXIII. Sterols from the sponges of the family Halicionidae. Journal of Organic Chemistry 14: 1078-1084.

14. GREEN, G., 1977. Sinopsis taxonómica de 13 esponjas del arrecife La Blanquilla, Ver. Méx. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 4(1): 79-98.
15. NÚÑEZ, F. E., 1978. Estudio taxonómico de las esponjas de la Laguna de Términos, Campeche, Méx. Tesis profesional, Fac. de Ciencias, UNAH, 96 p.
16. LAUBENFELS, H. W. de, 1953. Sponges from the Gulf of Mexico. Bull. Marine Sci. Gulf. Caribb. 2: 511-557.
17. DICKINSON, M. G., 1945. Sponges of the Gulf of California. Allan Hancock Pacific Expeditions 11(1): 1-55 p. 97 pl.
18. LAUBENFELS, H. W. de, 1935. Some sponges of lower California (Mexico), The American Museum of Natural History 779: 1-14.
19. ROMO de VIVAR, A., 1981. La química de productos naturales en México: lactonas sesquiterpénicas. Ciencia 32: 163-189.
20. PREMUZIC, E., 1971. Chemistry of natural products derived - from marine sources. Fortschr. Chem. Org. Naturst. 29: 417-488.
21. GROSSERT, J. S., 1972. Natural products from echinoderms. - Chemistry Society Review (1): 1-25.
22. FAULKNER, D. J. y R. J. ANDERSEN, 1974. Natural products -- chemistry of the marine environment. IN: Goldberg, E. D. - (Ed.) The Sea, John Wiley & Sons, Nueva York 5: 679-714.
23. SCHEUER, P. J., 1973. Chemistry of marine natural products. Academic Press, Nueva York, 201 p.
24. HALSTEAD, B. W., 1965. Poisonous and venomous marine animals of the world. Vol. 1, Invertebrates. U. S. Government printing office, Washington, D. C.
25. BERGMANN, W., 1962. Sterols: Their structure and distribution. IN: Florin, M. y S. Mason (Eds.) Comparative Biochemistry Vol. 3: 103-162, Academic Press, Nueva York.
26. MINALE, L., 1976. Natural product chemistry of the marine -- sponges. Pure & Applied Chemistry 48: 7-23.
27. MIDDLEBROOK, R. E., C. H. SNYDER, A. RODRIGUEZ y CH. E. LANE, 1974. Partial purification of an extract of the green sponge Haliciona viridis. IN: Munn, H. I. y CH. E. Lane (Eds.). -- Biactive compounds from the sea. Marine Science Vol. 1, - Mercer Dekker, Inc. Nueva York, 175-182.

28. GREEN, G., 1977. Antibiosis in marine sponges. FAO, Fisheries report, 200: 199-205.
29. BURKHOLDER, P. R. y K. RUTZLER, 1969. Antimicrobial activity of some marine sponges, Nature 222: 983-984.
30. NIGRELLI, R. F., S. JAKOWSKA y I. CALVENTI, 1959. Ectyonin, antimicrobial agent from the sponge Microciona prolifera Verrill, Zoologica 44: 173-176.
31. SHARMA, G. M. y P. R. BURKHOLDER, 1967. Studies on the antimicrobial substances of sponges. III. Structure and synthesis of a Bromine-containing antibacterial compound from a marine sponge, Tetrahedron Letters 42: 4147-4150.
32. SHARMA, G. M., B. VIG y P. R. BURKHOLDER, 1970. Studies on the antimicrobial substances of sponges. IV. Structure of a Bromine-containing antibacterial compound from a marine sponge. Journal of Organic Chemistry 35: 2823-2826.
33. FATTORUSSO, E., L. MINALE y G. SODANO, 1972. Aeroplysinin-I, an antibacterial Bromo-compound from the sponges Verongia aerophoba. Journal of Chemical Society, Perkin-I, 16-17.
34. FAULKNER, D. J., 1977. Interesting aspects of marine natural products chemistry. Tetrahedron 33: 1421-1443.
35. ANDERSEN, R. J. y D. J. FAULKNER, 1973. A novel antibiotic - from a sponge of the genus Verongia. Tetrahedron Letters, 1175-1178.
36. SHARMA, G. M. y B. VIG, 1972. Studies on the antimicrobial - substances of sponges. VI. Structures of two antibacterial substances isolated from the marine sponge Dysidea herbacea. Tetrahedron Letters 1715-1718.
37. SHARMA, G. M. y P. R. BURKHOLDER, 1971. Structure of dibromophakellin, a new Bromine-containing alkaloid from the marine sponge Phakellia flabellata. Chemical communications 151-152.
38. STEMPIEN, M. F., 1966. An antibiotic substance isolated from a sponge of the genus Aegales. American Zoologist 6: 363.
39. VAN LEAR, G. E., G. O. HORTON y W. FULMOR, 1973. New antibacterial bromindole metabolites from the marine sponge ----- Polyfibrospongia maynardii. Tetrahedron Letters 299-300.
40. FAULKNER, D. J., 1973. Variabilin, an antibiotic from the sponge rcinia variabilis. Tetrahedron Letters 3821-3822.

41. FORENZA, S., L. MINALE, R. RICCIO y E. FATTORUSSO, 1971. New Bromo-pyrrole derivatives from the sponge Agelas aroides. Chemical communications 1129-1130.
42. HIGGS, D. M. y D. J. FAULKNER, 1978. Plakortin, an antibiotic from Plakortis halichondrioides. Journal of Organic Chemistry 43: 3454-3457.
43. STIERLE, B. D. y D. J. FAULKNER, 1979. Metabolites of the marine sponge Chondrosia collectrix. Journal of Organic Chemistry 44: 964-968.
44. DJURA, P. B., D. STIERLE, B. SULLIVAN, D. J. FAULKNER, E. ARMOLD y J. CLARDY, 1979. Some metabolites of the sponge ---- Smenospongia aurea and Smenospongia echina. Journal of Organic Chemistry 45: 1435-1441.
45. DILIP de SILVA, E. y J. P. SCHEUER, 1980. Monoalide, an antibiotic sesterterpenoid from the marine sponge Luffariella variabilis. Tetrahedron Letters 1611-1614.
46. McINTYRE, D. E., D. J. FAULKNER, D. VAN ENGEN y J. CLARDY, - 1979. Renierona, an antimicrobial metabolite from a marine sponge. Tetrahedron Letters 4163-4166.
47. WRATTEN, S. J. y J. HEINWALD, 1981. Antimicrobial metabolites of the marine sponge Axinella polycapella. Experientia 37: 13-14.
48. ROTHBERG, I. y P. SHUBIAK, 1975. The structure of some antibiotics from the sponge Ircinia strobilina. Tetrahedron --- Letters 769-772.
49. SULLIVAN, B., P. DJURA, E. D. McINTYRE y D. J. FAULKNER, 1981. Antimicrobial constituents of the sponge Siphonodictyon ---- coralliphagum. Tetrahedron 37: 979-982.
50. WALKER, P. R., D. J. FAULKNER, D. VAN ENGEN y J. CLARDY, 1981. Sceptrin, antimicrobial agent from the sponge Agelas sceptrum. Journal of American Chemical Society 103: 6772-6773.
51. WRATTEN, S. J. y D. J. FAULKNER, 1978. Antimicrobial metabolites from the marine sponge Ulosa sp. Tetrahedron Letters ---- 961-964.
52. CARTER, T. G. y K. L. RINEHART, 1978. Acarnidines, novel antiviral and antimicrobial compounds from the sponge Acarus ---- erithacus. Journal of American Chemical Society 100: 4302-4304.

53. WRATTEN, S. J. y J. D. FAULKNER, 1978. Diterpenoid isocyanides from the marine sponge Hymeniacidon amphilecta. Tetrahedron Letters 4345-4348.
54. RAVI, B. N., H. P. PERZANOWSKI, R. A. ROSS, T. D. ERDMAN, P. J. SCHEUER, J. FINER y J. CLARDY, 1979. Recent research natural products: the puepehenones. Pure & Applied Chemistry 51: 1893-1900.
55. KAZLAUSKAS, R. E., P. T. MURPHY y R. J. WELLS, 1980. New diterpenes isocyanides from a sponge. Tetrahedron Letters --- 315-318.
56. KAZLAUSKAS, R. E., R. O. LIDGARD, P. T. MURPHY y R. J. WELLS, 1980. Brominated Tyrosine-derived metabolites from the sponge lanthella basta. Tetrahedron Letters 2277-2280.
57. AMADE, PH., D. PESANDO y L. CHEVOLOT, 1982. Antimicrobial activities of marine sponges from French Polynesia and Brittany. Marine Biology 70: 223-228.
58. SCHMITZ, F. J., K. H. HOLLENBEAK y D. C. CAMPBELL, 1968. Marine natural products: Halitoxin, toxic complex of several marine sponges of the genus Haliciona. Journal of Organic Chemistry 43: 3916-3922.
59. SHEIK, Y. M. y C. DJERASSI, 1974. Steroids from sponges. Tetrahedron 30: 4095-4103.
60. ACOSTA, R. F., 1977. Estudio químico de esponjas Haliciona rubens e Ircinia campana. Tesis profesional, Fac. de Química UNAM, 33 p.
61. GONZALEZ-FARIAS, F., G. GREEN y F. FLORES-VERDUZCO, 1980. -- Observaciones al microscopio electrónico de barrido de la acción del extracto acuoso de la esponja Haliciona sp sobre Staphylococcus aureus. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Autón. México 7(2): 207-216.
62. BRIONES, D. P. y E. LOZANO, 1977. Aspectos generales sobre la Biología y Pesquería de las langostas (Panulirus inflatus y P. gracilis) en Zihuatanejo, Gro. y áreas circunvecinas. Tesis profesional, Fac. de Ciencias UNAM, 51 p. 24 fig., 14 -- tablas.
63. SALCEDO-MARTINEZ, S. M., 1984. Estudio de las comunidades benticas asociadas a la facies rocosa en la región de Zihuatanejo, Gro., Tesis de maestría, Unidad Académica de los ciclos profesional y de posgrado, Colegio de Ciencias y Humanidades UNAM 242p.

64. FRINCKE, J. H. y D. J. FAULKNER, 1982, Antimicrobial metabolites of the sponge Reniera sp. Journal of American Chemical Society 104: 265-269.
65. LAUBENFELS, M. W. de, 1957, A problem in taxonomy: the sponge genus Reniera. Syst. Zool. 6: 156-159.