

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

ESCUELA SUPERIOR DE CIENCIAS MARINAS

"EXTRACCION E IDENTIFICACION DE COMPUESTOS  
QUIMICOS DE LAS GONADAS DE ERIZO DE MAR  
*Strongylocentrotus franciscanus*"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
O C E A N O L O G O  
PRESENTA:  
JUAN CARLOS LARA GUADARRAMA

ENSENADA, B.C., JUNIO DE 1985.

## RESUMEN

El erizo de mar *Strongylocentrotus franciscanus* se recolectó en la localidad de Tres Hermanas en la Bahía de Todos Santos, Ensenada, Baja California.

Se hicieron extractos etanólicos de Gónadas y espinas y se encontraron una serie de compuestos que se identificaron química y espectroscópicamente.

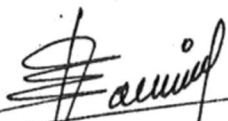
De los extractos de Gónadas se aisló; Colesterol y pequeñas cantidades de  $C_{24}$  metil y  $C_{24}$  etil-colestanos, Acetato de colestano 5,22-dién-3  $\beta$ -ol, Diglicéridos, una serie de veinte ácidos grasos y Colestan-6-en-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxi-3  $\beta$ -ol, este último no ha sido reportado en erizos marinos, solo en algunas esponjas como *Haliclona rubens*, *Trcinia campana*, *Tethya aurantia* y *Axinella cannabina*.


Del extracto de espinas se aisló; Colesterol, una mezcla de esteroides y una serie de veinte ácidos grasos.

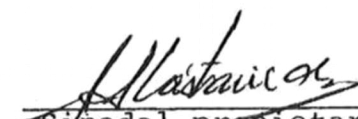
"EXTRACCION E IDENTIFICACION DE COMPUESTOS  
QUIMICOS DE LAS GONADAS DE ERIZO DE MAR  
*Strongylocentrotus franciscanus*"

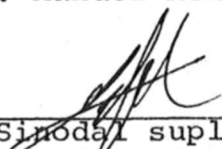
T E S I S  
QUE PRESENTA:  
JUAN CARLOS LARA GUADARRAMA.

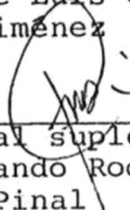
Aprobada por:

  
\_\_\_\_\_  
Presidente del Jurado  
Quím. Irma Esthela Soria Mercado

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal propietario  
Q.F.B. Manuel Montijo Ante

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal propietario  
Quím. José Luis Castañeda  
Jiménez

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal suplente  
M.C. Ramón Cajal Medrano

  
\_\_\_\_\_  
Sinodal suplente  
I.Q.A. Armando Rodríguez  
Pinal

El presente trabajo se realizó en el Instituto de Química de la U.N.A.M. bajo la dirección de los Dres. Leovigildo Quijano y Tirso Rios C.

A la luna y al mar...

#### A G R A D E C I M I E N T O S :

A los Dres. Leovigildo Quijano y Tirso Rios C. por su acertada dirección, ayuda y colaboración.

A la Quím. Irma Esthela Soria Mercado por su estímulo para realizar el presente trabajo.

A los Oceanólogos Fausto Alonso Arce Duarte, Susana del Carmen Franco Aguirre y José Luis Peña Manjarrez egresados de la Escuela Superior de Ciencias Marinas de la U.A.B.C. por su colaboración en la recolecta y clasificación del material marino.

A mis padres:

A ella  
por los desvelos,  
por los arrullos,  
por el primer beso.

A él  
por el respaldo,  
por los principios,  
por el ejemplo.

Les quiero.

A mis hermanos:

Miguel, por la comprensión  
Victor, por su amistad  
Ricardo, por su nobleza,  
Guillermo, por la infancia

A mi tía Lucha:

por la amistad de siempre  
por los consejos  
por el cariño que nos une

A tí  
porque estés conmigo para siempre.

A Iván:  
por su influencia,  
por los momentos de reflexión,  
por la mano amiga.

A Graciela:  
por el sentimiento que hay entre nosotros.

A Miguel Angel:  
por el compañerismo convertido en amistad

A Julio, Joaquín y Marcela  
donde quiera que se encuentren

A Fausto, Susi, José Luis, Talía y Juan José  
quienes me han dado lo mejor de ellos mismos

A Ale y Mateo.

## INDICE

INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	3
OBJETIVOS.....	5
MATERIALES, METODOS Y RESULTADOS.....	5
DISCUSION.....	18
CONCLUSIONES.....	26
RECOMENDACIONES.....	26
ANEXO I.....	27
ANEXO II.....	38
ANEXO III.....	60
ANEXO IV.....	74
ANEXO V.....	76
BIBLIOGRAFIA.....	81

## INTRODUCCION

En la tierra existen aproximadamente 400,000 especies - de seres vivos y de estos se han estudiado solamente entre - un dos y un cuatro por ciento. En el mar, en donde todos -- los componentes vivos o muertos, disueltos, suspendidos o a flote son interdependientes, hay cerca de 500,000 especies - que se agrupan en 30 *phyla* y de estos se han estudiado quími - camente menos del uno por ciento, (Scheuer, P. J., ED., - - 1981); por lo tanto en el área de la química de organismos - marinos, el estudio realizado es pequeño en relación con el potencial estimado, sin embargo existe un creciente interés por ampliar los conocimientos en esta área; la gran diversi - dad de las sustancias de origen marino nos estimula a seguir tratando de conocer los complejos procesos que ocurren en el océano para obtener de alguna manera ciertos beneficios para el hombre.

Existen en los organismos marinos (peces, estrellas, -- erizos, esponjas, etc.), gran cantidad de sustancias poten -- cialmente explotables cuyas características y actividad quí - mica las colocan en diferentes campos de una utilidad racio - nal, por ejemplo la farmacología, la industria de los alimen - tos, etc., por lo tanto el aprovechamiento multidisciplina -- rio de los recursos marinos no es solo significativo sino ne - cesario, Cardenal, L., 1960).

A la vez, es de gran importancia mencionar que todas -- las sustancias identificadas tienen una gran significancia - ecológica si se toman en cuenta como un núcleo del cual se - desprenden infinidad de reacciones químicas que van a estar íntimamente relacionadas con el medio y demás organismos del mismo habitat y nicho ecológico.

La química de las sustancias que se obtienen de organis - mos marinos ha tenido un desarrollo muy grande en las últi --

mas décadas.

Los equinodermos, en especial los erizos marinos, contienen una amplia gama de compuestos químicos, que han sido poco explotados por el hombre debido al desconocimiento que tiene de ellos, (Tursch, B. et al, 1963). Existe una gran variedad de géneros que no han sido objeto de atención y por tanto su campo de estudio es vírgen, (Segatore, L. y Poli, G, 1975).

En el presente trabajo se describe la purificación e identificación de los compuestos aislados de las gónadas, testas y espinas del erizo marino *Strongylocentrotus franciscanus*, así como el estudio bibliográfico sobre los compuestos químicos de diferentes géneros de erizos.

## ANTECEDENTES

El *phylum* Echinodermata es uno de los más notables del reino animal; basta contemplar a sus integrantes para no olvidar sus formas tan interesantes.

Estos invertebrados son exclusivamente marinos y habitan en las costas de todos los mares y océanos, desde el litoral hasta los fondos abisales en donde se encuentran las formas más bellas y curiosas.

Los equinodermos presentan el cuerpo revestido de placas calcáreas limpiamente ensambladas unas con otras y cuya concha es flexible y puede ser doblada sin romperse. Las placas calcáreas presentan espinas o aguijones que se implantan y erizan el tegumento, de aquí su nombre, (Ruiz, R. 1976 s/publicar).

En los equinodermos las partes repetidas del cuerpo o el cuerpo propiamente dicho están dispuestas alrededor de un centro, su simetría es radial, (salvat, ED., 1972).

Estos seres presentan estado larvario (larvas pelágicas) que son totalmente diferentes a los adultos.

La mayoría de los equinodermos presentan dotes de regeneración de los que carecen los erizos de mar ya que pueden regenerar únicamente sus tentáculos y pedicelarios y si alguna de las placas que forma el caparazón se agrieta, pronto es cementada y sanada de nuevo; sin embargo, si parte del caparazón se hunde, las placas afectadas serán cementadas y consolidadas, pero no vuelven a su posición normal, (Ruiz, R. 1976).

Como representantes de cada una de las cinco clases de el *phylum* Echinodermata se mencionan las siguientes, (Arce, F. A., et al, 1982 s/publicar):

- 1) Asteroidea: Estrellas de mar
- 2) Ofiuroidea: Ofiuros

- 3) Holoturoidea: Holoturias
- 4) Crinoidea: Clavelinas
- 5) Equinoidea: Erizos de mar

a esta última pertenece el *Strongylocentrotus franciscanus* - cuya distribución geográfica es la siguiente: de la Isla de Cedros, B. C. hasta Alaska en el Océano Pacífico Este, (Rickets, F. E. y Calvin, J., 1968) y la costa del Japón en el Océano Pacífico Oeste, (Clark, H. L., 1948). Su distribución geográfica y batimétrica se traslapa con la de *Strongylocentrotus purpuratus*; *S. franciscanus* rara vez se encuentra sobre el límite de baja marea y hasta una profundidad de 1.25m., siendo más abundante en las zonas profundas.

Es interesante el estudio de las gónadas del erizo pues son importantes para el hombre ya que las ha venido utilizando de diferentes maneras: desde la fabricación de cosméticos pasando por complemento alimenticio, hasta llegar a "afrodisiacos".

Las espinas y testas tienen gran cantidad de sustancias carotenoides y pigmentos, de aquí también su importancia.

Para una descripción más detallada de el *Strongylocentrotus franciscanus* consultar Anexo V.

## OBJETIVOS

- Investigar los compuestos que pueden ser aislados purificados e identificados a partir de las gónadas, testas y espinas del erizo marino *Strongylocentrotus franciscanus*.
- Realizar una búsqueda bibliográfica sobre compuestos aislados de erizos marinos.

## MATERIALES, METODOS Y RESULTADOS

### Muestreo:

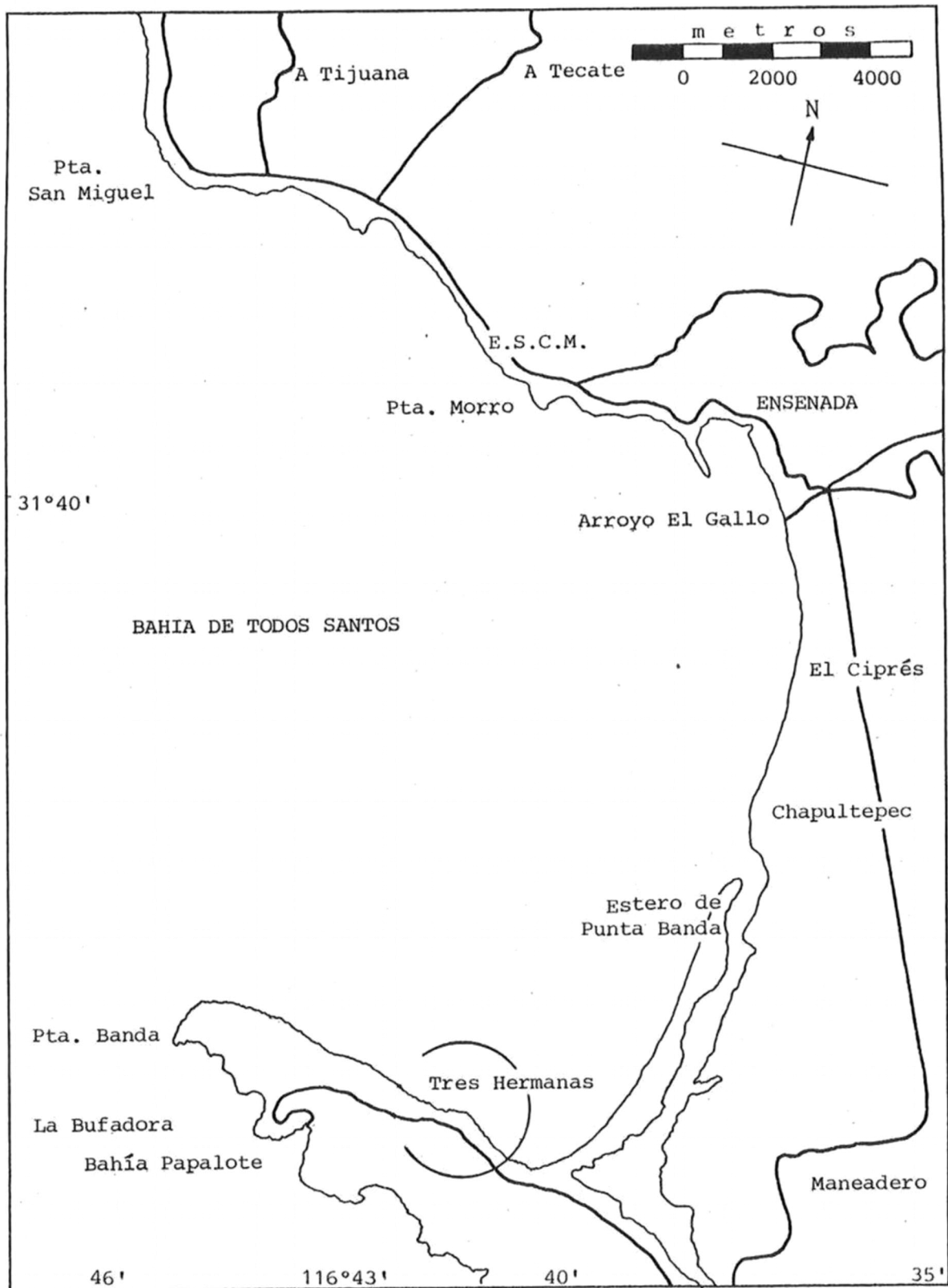
El *Strongylocentrotus franciscanus* (150 organismos) fue colectado por buceo libre el 28 de septiembre de 1983 en la localidad de Tres Hermanas ubicada en el extremo sur de la Bahía de Todos Santos, Ensenada, B. C.; la costa es rocosa proporcionando un sustrato adecuado para el desarrollo de esta especie (Ver mapa 1).

El día de muestreo fue soleado aunque hubo la presencia de nubes que se desplazaron rápidamente con la misma dirección del viento (NE). La salinidad del lugar fue de 32‰ y fue medida con un refractómetro.

La marea más baja en ese día fue de 0.82m.<sup>+</sup> a las 5:33 hrs. y el muestreo se realizó de 9:30 a 12:30 hrs. con una marea de 0.91m.<sup>+</sup>.

### Extracción:

Los erizos se trasladaron al laboratorio de la Escuela Superior de Ciencias Marinas conservándose en el cuarto - -



Mapa 1. Localización de la zona de colecta.

frío (4°C) mientras se hacía la extracción de las gónadas - rompiendo la testa con una espátula, desprendiendo cada gónada del interbulacro, despojándola del peritoneo y enjuagando con agua destilada, (peso húmedo de gónadas 512.74g); se colocaron de inmediato en alcohol etílico (3.7ℓ.).

Por otra parte las testas y espinas fueron semimolidas en un mortero de metal y se depositaron en un recipiente con el mismo disolvente de las gónadas (1ℓ.). De esta forma se conservaron los extractos a temperatura ambiente hasta el día 19 de octubre en que se inició el análisis en el Instituto de Química de la U.N.A.M., México, D. F..

Los dos extractos se filtraron a presión reducida, (peso seco de las gónadas 46.15g.; peso seco de las espinas y testas 4.03Kg).

De las gónadas se prepararon dos extractos:

Extracto de gónadas A (Extracción y filtración) y

Extracto de gónadas B (Extracción, rompimiento del tejido y filtración).

Los extractos fueron concentrados por destilación eliminándose de esta forma una gran cantidad de agua que codestiló con el etanol.

Cromatografía del extracto de gónadas A.- Se empaquetó una columna cromatográfica (6cm. diámetro) con 250g de gel de sílice (malla 70-230). El extracto de gónadas A (10.77g) de color café se cromatografió empezando con hexano y aumentando la polaridad con AcOEt en un 10% cada vez; se obtuvieron 156 fracciones de 250ml., (Cromatografía 1).

Aislamiento de colesterol (XXXIII), (Klyne, W., 1970).- De las primeras fracciones eluidas con hexano/AcOEt (9:1) se

obtuvo un compuesto sólido cristalino de color blanco brillante que después de cristalizar tres veces mostró un punto de fusión p. f. 145-148° y fue identificado como colesterol (XXXIII) por sus constantes espectroscópicas, (SADTLER); consultar el Anexo II de estructuras químicas.

Acetilación del colesterol (XXXIII).- El compuesto XXXIII (50mg) se disolvió en 0.3ml. de piridina y se le adicionó 0.3ml. de anhídrido acético. La mezcla de reacción se dejó durante 15 min. a temperatura ambiente, al cabo de ese tiempo, se eliminó el exceso de anhídrido acético y piridina al alto vacío obteniendo 35mg de un sólido de color blanco que se identificó por sus propiedades espectroscópicas como acetato de colesterol con p. f. 110-114° (rep. 114-5°), (Heilbron, I. y Cook, A. H., 1953), (XXXIIIa), consultar el Anexo II de estructuras químicas.

Aislamiento del acetato de colestán-5,22-dien-3 β-ol (LXVIII).- Las aguas madres obtenidas de las cristalizaciones del colesterol se recromatografiaron en columna sobre sílica gel (Cromatografía 2). Las fracciones eluidas con AcOEt se reunieron y purificaron por cromatografía en capa delgada en una placa de gel de sílice de 10X20cm.X2mm. utilizando como eluyente diclorometano (DCM)/acetona 8:2, desarrollándose la placa dos veces (2x); se obtuvo un compuesto de color blanco que por sus propiedades espectroscópicas fue identificado como acetato de colestán-5,22-dien-3 β-ol (LXVIII).

IR:  $\nu_{\text{máx}}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ ; 2927(-CH<sub>2</sub>-); 2854(-CH<sub>3</sub>); 1735; 1240(R-COO-R); 1464, 1370(-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>3</sub>).

RMNP:  $\delta$ (CDCl<sub>3</sub>), ppm.: 0.65 s(CH<sub>3</sub>, C<sub>19</sub>); 0.85 d(J=7 Hz, CH<sub>3</sub>, C<sub>26</sub>, C<sub>27</sub>); 0.97 d(J=7 Hz, CH<sub>3</sub>, C<sub>21</sub>); 2.05 s(CH<sub>3</sub>, AcO); 5.1-5.5 compleja(4H, C<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>22</sub>, C<sub>23</sub>).

EM: m/z 426 M<sup>+</sup> (C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>) (18.29%); 384 (M-CH<sub>2</sub>=CO)<sup>+</sup> (100%); 366 (M-AcOH)<sup>+</sup> (12.19%); 351 (M-AcOH-CH<sub>3</sub>)<sup>+</sup> (4.14%); 43 (Ac)<sup>+</sup> + (C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>)<sup>+</sup> (92.7%).

Aislamiento de colestán-6-en-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxi-3 $\beta$ -ol (LXIX)..- De la misma Cromatografía 1, en las fracciones e-luídas con hexano/AcOEt (8:2) se obtuvo una sustancia que se cristalizó e identificó como colestán-6-en-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxi-3 $\beta$ -ol (LXIX), y presentó las siguientes constantes espec-troscópicas, (Sheik, Y. M. y Djerassi, C. 1974), (Acosta, F. 1977); consultar Anexo III espectros 7, 8 y 9.

IR:  $\nu_{\text{máx}}$  (KBr) cm<sup>-1</sup>; 3610(O-H); 2920(-CH<sub>2</sub>-); 2860(-CH<sub>3</sub>)  
1460(-CH<sub>2</sub>-); 1380(-CH<sub>3</sub>).

RMNP:  $\delta$ (CDCl<sub>3</sub>), ppm.: 0.80 s(CH<sub>3</sub>, C<sub>18</sub>); 0.85-0.95 d sobrepuestas (CH<sub>3</sub>, C<sub>21</sub>, C<sub>26</sub>, C<sub>27</sub>); 0.90 s(CH<sub>3</sub>, C<sub>19</sub>); 3.85 m(1H, C<sub>3</sub>); 6.17 d(J=8 Hz, 1H, C<sub>6/7</sub>); 6.45 d-

( $J=8$  Hz, 1H,  $C_{6/7}$ ).

EM:  $m/z$  416  $M^+$  ( $C_{27}H_{44}O_3$ ) (2.9%); 384 ( $M-O_2$ )<sup>+</sup> (100%); -  
 369 ( $M-O_2-CH_3$ )<sup>+</sup> (36.5%); 351 ( $M--$   
 $-O_2-CH_3-H_2O$ )<sup>+</sup> (40%); 271 ( $M-O_2--$   
 $C_8H_{17}$ )<sup>+</sup> (8.75%); 253 ( $M-O_2-H_2O--$   
 $-C_8H_{17}$ )<sup>+</sup> (10%).

Las fracciones eluidas con hexano/AcOEt (7:3) de la Cromatografía 1, se recromatografiaron en columna (Cromatografía 3) y se obtuvieron compuestos que pueden ser diglicéridos por los datos espectroscópicos que presentaron (IR y RMNP); continúan en estudio. Consultar Anexo III espectros 10 y 11.

Las últimas fracciones de la Cromatografía 1 eluidas con hexano/AcOEt (7:3), se recromatografiaron (Cromatografía 4) y de las fracciones obtenidas con hexano/AcOEt (75:25) se obtuvo un sólido con aspecto ceroso de color blanco que se purificó en cromatografía en capa delgada usando AcOEt/hexano (6:4).

Los datos espectroscópicos (RMNP y EM) revelan la presencia de diglicéridos, continúan en estudio. Consultar Anexo III espectros 12 y 13.

Saponificación del extracto de gónadas B. - El extracto de gónadas B (3.1g), se disolvió en 125ml. de metanol, se le agregó 1g de NaOH disueltos en 20ml. de agua y se puso a re-

flujo durante 30 horas, después de lo cual la mezcla de reacción se separó en fracción de compuestos ácidos y fracción de compuestos neutros, haciendo uso de un aparato de extracción continua tipo Sandoval, (Sandoval, A., 1963).

La fase orgánica se lavó con agua, se secó con sulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente por destilación obteniéndose 487mg de compuestos neutros no saponificables. La fase acuosa se aciduló con HCl concentrado y se extrajo nuevamente con AcOEt, se lavó con agua, se secó y destiló el disolvente obteniendo 411.2mg de compuestos ácidos.

Esterificación de la fracción ácida del extracto de gónadas B, con diazometano.- La fracción ácida de gónadas B (411.2mg) se disolvió en 8ml. de éter etílico y se le agregó una solución eterea de diazometano preparado a partir de 400 mg de nitroso metil urea, una vez terminada la reacción, se eliminó el disolvente por destilación y se purificaron los ésteres metílicos por cromatoplaça de sílica gel de 20X10cm. X2mm. usando una mezcla de DCM/hexano (7:3) como eluyente.

Los correspondientes ésteres metílicos se analizaron -- por cromatografía de gases, en un Cromatógrafo Perkin-Elmer modelo sigma 1, con detector de ionización de flama; se utilizó una columna de 2m. de largoX3mm. de diámetro, empacada con succinato de dietilenglicol (DEGS) al 20% en Chromosorb W80/100M (blanco 80/100 tamaño de partícula) y N<sub>2</sub> como gas transportador con un flujo de 30 ml./min. a 180°C de temperatura. La velocidad de la carta fue de 2mm./min. y el análisis de los espectros se hizo por tiempos de retención e integración de picos (triangulación).

Ver los resultados obtenidos en la tabla 1 del Anexo IV

Saponificación del extracto de testas y espinas.- El ex

tracto de testas y espinas se filtró a presión reducida y -- después se concentró por destilación hasta la eliminación total del alcohol etílico y agua, obteniendo 8.74g de residuo, éste se disolvió en metanol, se le agregaron 2g de NaOH di--sueitos en 20ml. de agua y se puso a reflujo durante 30 ho--ras, después de lo cual la mezcla de reacción se separó en -- ácidos y neutros de la forma descrita anteriormente para el caso de las gónadas; en este caso se obtuvieron 1.775g de -- compuestos neutros no saponificables y 5.072g de compuestos ácidos.

De la fracción neutra después de siete cristalizaciones se obtuvieron 558.1mg de colesterol (XXXIII). Las aguas madres (1.217g) se cromatografiaron en columna con 40g de gel de sílice obteniendo 126 fracciones de 75ml.

De las fracciones eluidas con hexano/AcOEt (7:3) se obtuvo una mezcla de esteroides que continúan en estudio.

Una porción de la fracción ácida (500mg) se esterificó con diazometano y los ésteres metílicos obtenidos (318.8mg) -- se analizaron por cromatografía de gases en la forma descrita anteriormente para los ácidos de gónadas B.

Ver los resultados obtenidos en la tabla 1 del Anexo IV

#### Especificaciones:

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johns y no están corregidos.

Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Hewlett-Packard modelo 5985 B.

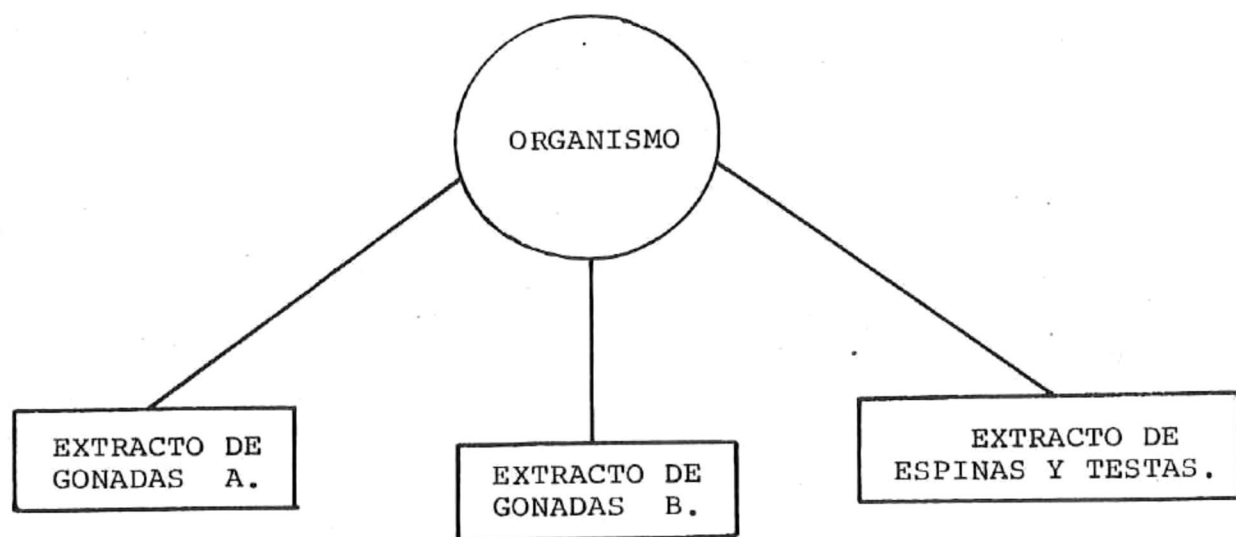
Los espectros de RMN se determinaron en un espectrofotómetro analítico Varian modelo FT-80 A, los desplazamientos -- químicos ( $\delta$ ) están dados en ppm. referidos al TMS. La multiplicidad de las señales se indican como sigue: s=simple, d=doble, t=triple, dd=doble de doble y m=múltiple. Los valores entre paréntesis indican constantes de acoplamiento en -- Hertz.

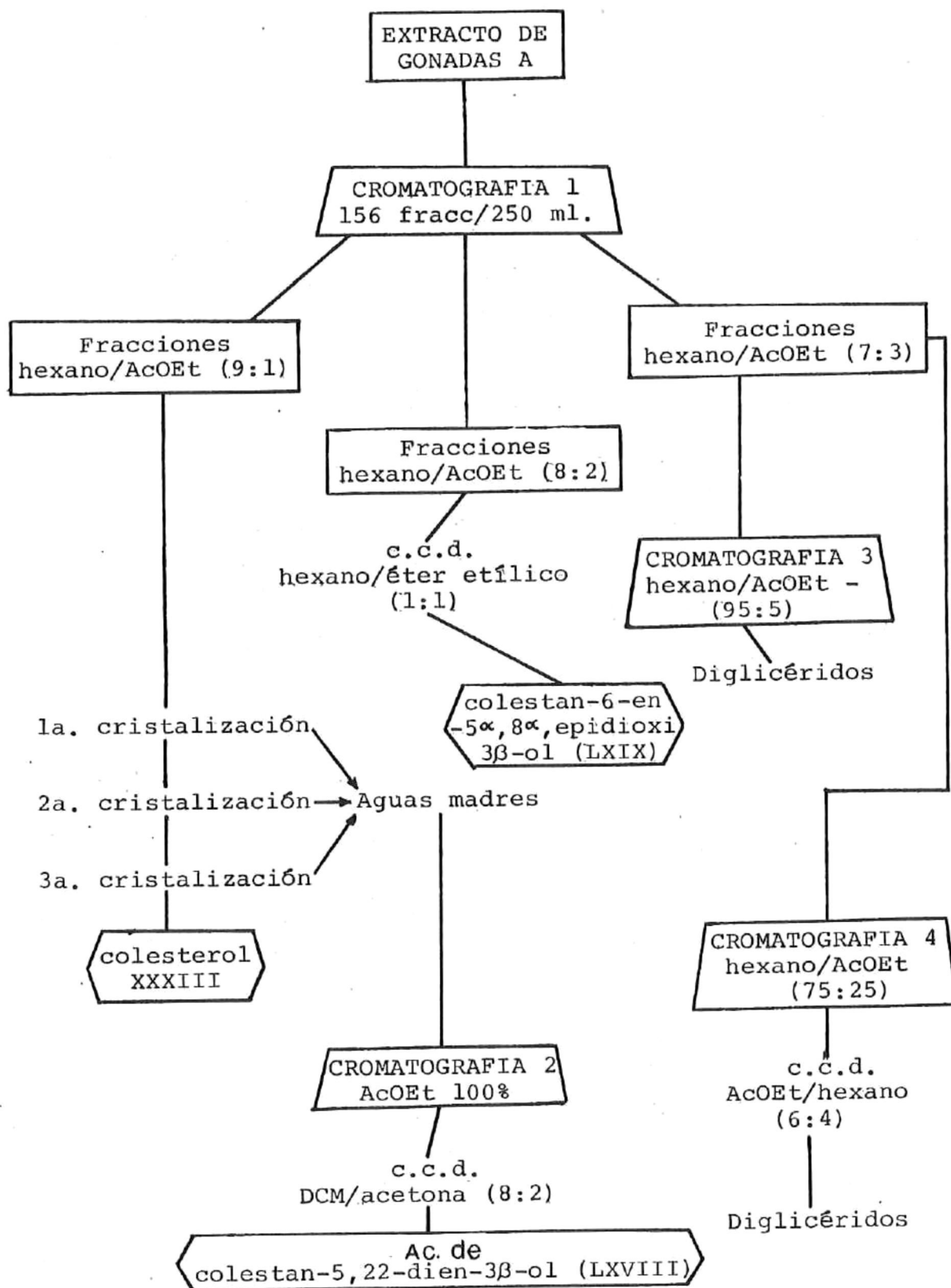
Para la cromatografía en columna se ocupó gel de sílice de malla 200-325. Las cromatografías se efectuaron en placas preparativas de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> de 2mm., 1mm. y 0.5 mm. de espesor. La pureza de los productos se determinó mediante cromatoplasmas de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> de 0.25mm. de espesor, usando como revelador, solución de sulfato cérico - al 1% en ácido sulfúrico 2N.

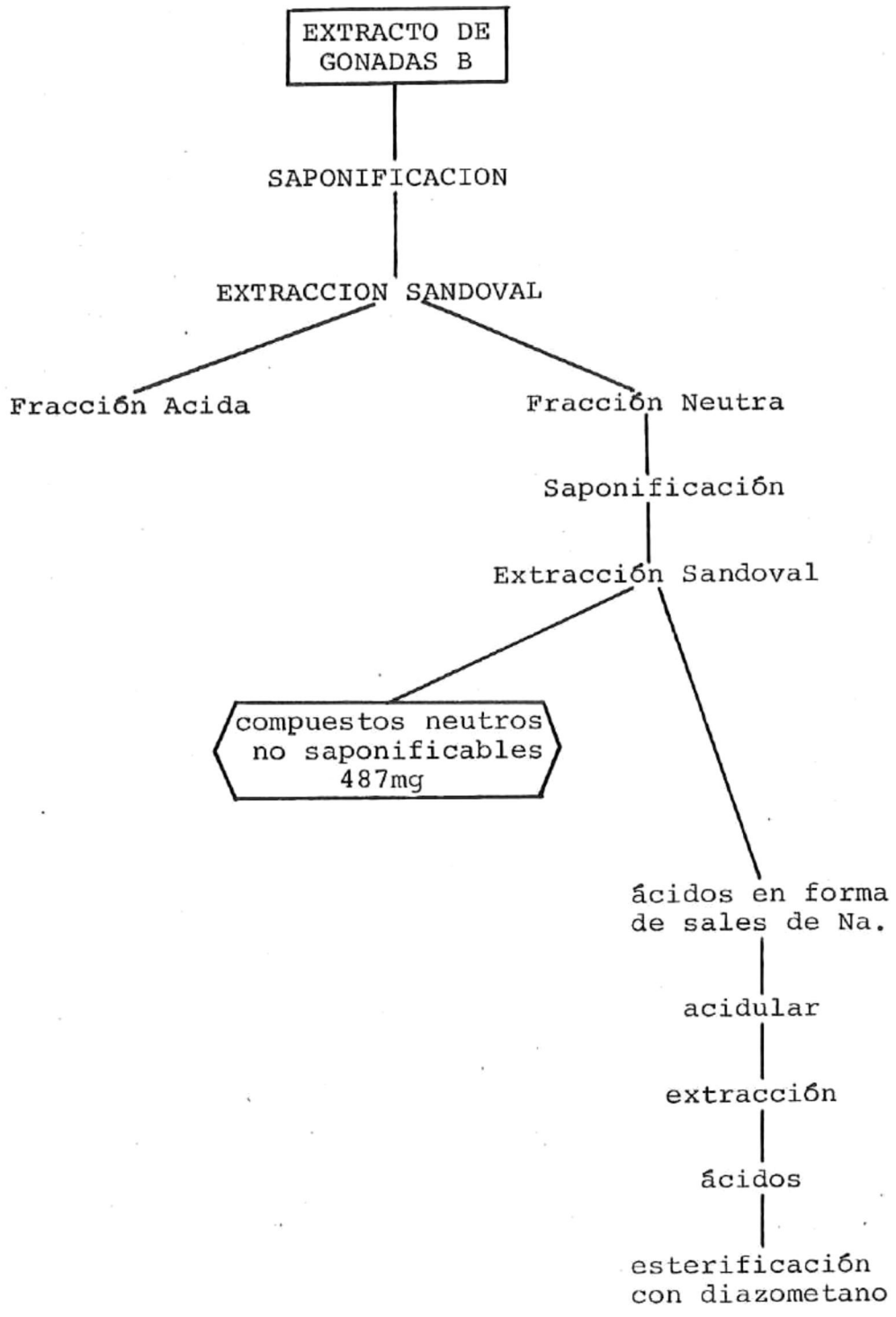
Los disolventes ocupados se destilaron previamente.

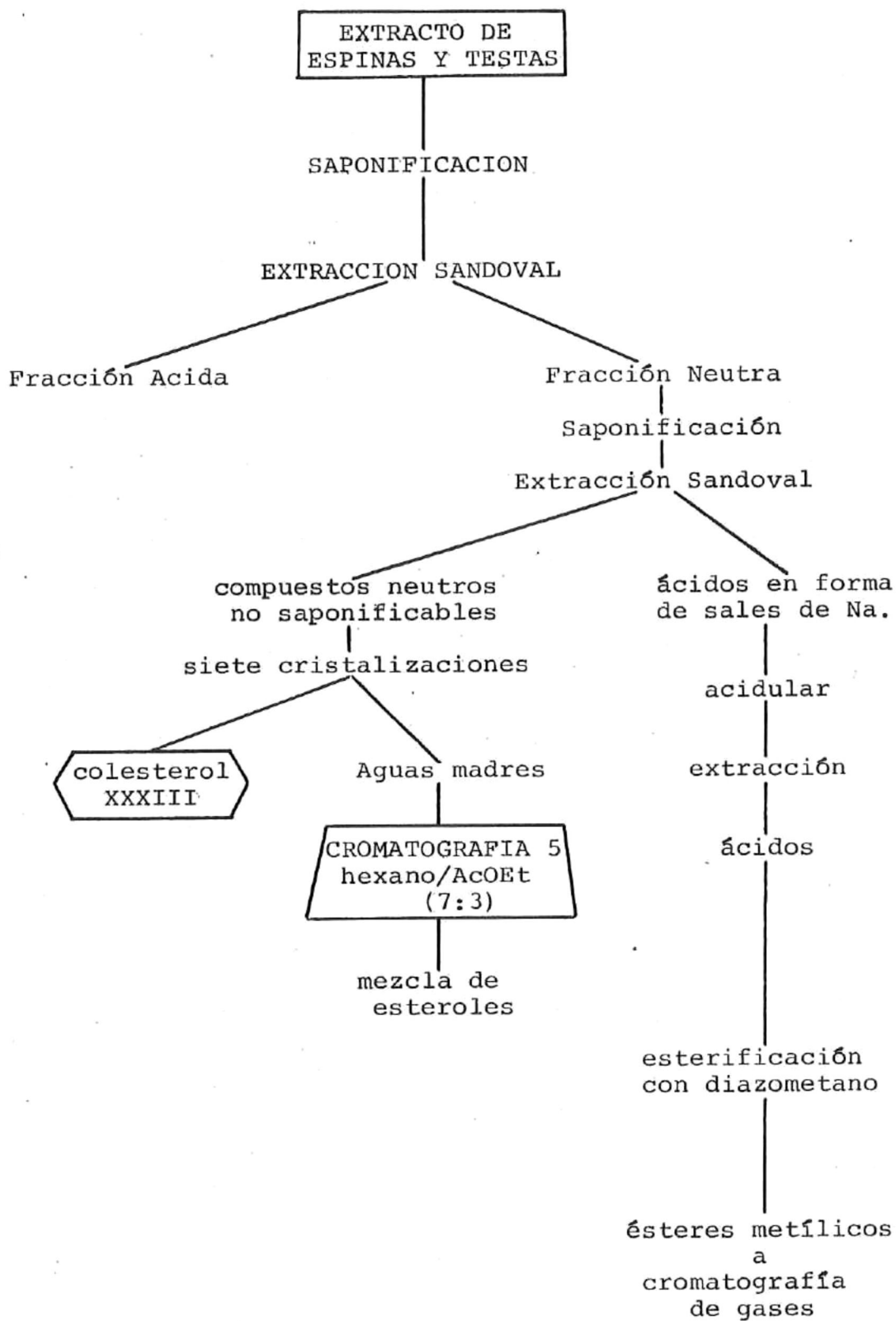
El conjunto de espectros de IR, RMN y EM se encuentran en el Anexo III

DIAGRAMA DE BLOQUES DEL TRATAMIENTO DE LA MUESTRA









## DISCUSION

El presente estudio consta de dos partes, una de ellas es la interpretación de los resultados obtenidos experimentalmente y la otra se trata de una revisión bibliográfica -- con la que se obtuvieron datos de diversas especies de equinoideos.

### PARTE I.- REVISION BIBLIOGRAFICA DE EQUINOIDEOS.

Se juzgó conveniente hacer una recopilación bibliográfica sobre la química de los erizos marinos de los que se han extraído diversas sustancias como: esteroides, carotenoides, pigmentos, ácidos grasos, etc., porque no hay bibliografía -- que abarque todos los compuestos químicos extraídos de tan -- interesantes invertebrados, sino que todos los datos se encuentran aislados.

Se hizo una revisión bibliográfica exhaustiva sobre erizos marinos en el Chemical Abstracts, que abarca desde enero de 1907 hasta febrero de 1984 inclusive. Este período comprende 1171 publicaciones las cuales tratan temas relacionados con los erizos como: Química, Bioquímica, Biosíntesis y en algunos casos Biología y Fisiología, etc., en esta revisión se encontraron ochenta y cuatro citas de trabajos de investigación química hecha sobre erizos y de estos se seleccionaron diecinueve (Botticelli, C. R., et al, 1961; Kochetkov, N. K., et al, 1968; Kuroda, Ch., 1958d; Kuroda, Ch., -- 1958g; Kuroda, Ch., 1958h; Kuroda, Ch., Okajima, M., 1942; -- Tsuyuki, H., Mochizuki, A., 1967; Millot, N., 1957; Kuroda, Ch., 1958e; Duque, C., et al, 1983; Moore, R. E., et al, -- 1968; Kuroda, Ch., Okajima, M., 1954; Kuroda, Ch., Okajima, M., 1963; Miyauchi, T., Okajima, M. 1971; Singh, H., et al, 1967; De Nicola, M., Monroy-Oddo, A., 1952; Kuroda, Ch., --

P1958d; Thomson, R. H., Mathieson, J. W., 1971; Kuroda, Ch., Okajima, M., 1955), que describen el aislamiento y determinación de las estructuras de compuestos orgánicos, obtenidos de aproximadamente treinta y dos especies de erizos como se muestra en el Anexo I.

Los datos existentes en la bibliografía deben ser revisados y actualizados en un tiempo inmediato, debido a que -- hay mucha información obsoleta que solo complica la consulta; así mismo el uso de nombres triviales en los compuestos trae como consecuencia una búsqueda vana ya que en algunos casos no se encontró la estructura propuesta.

Los esteroides reportados en el período mencionado son solo siete (I, II, XXXIII, XXXVI, XXXVII, LXX y LXXI), de los cuales el colesterol (XXXIII) es el principal representante. Consultar las estructuras químicas en el Anexo II.

El colesterol es el componente más abundante de las gónadas del erizo marino, siendo éste muy importante en la vida del equinoideo, debido al papel que juega en su metabolismo (Radt, F., ED., 1940-1953).

De los erizos se ha aislado una gama muy amplia de carotenos (IV, V, VI, VII, VIII, XII, XXXIX, XL, XLI, XLII, XLIII, XLVI, L y LV), consultar las estructuras químicas en el Anexo II; estos carotenos están concentrados frecuentemente en los órganos reproductores, factor que ha permitido asociarlos con funciones sexuales.

Es interesante mencionar que en algunos organismos marinos como langosta y crustáceos, varias de estas sustancias carotenoides son provitamina A de vitamina A; también se les encuentra formando complejos carotenoides con proteínas (Karrer, P., 1950).

Existe poca probabilidad de encontrar nuevos tipos de carotenos provenientes de la misma especie animal, pues su dieta generalmente es la misma y por tanto su metabolismo sigue casi siempre las mismas rutas (Scheuer, P. J., ED., 1978).

En el reino animal es raro encontrar carotenoides en -- cualquier *phylum* pero se presentan con cierta frecuencia en artrópodos y principalmente en equinodermos, siendo en erizos marinos donde está la mayor variedad de estos compuestos (Thomson, R. H., 1971). Estos compuestos reciben el nombre genérico de espinocromos cuyo número es muy grande, por lo -- tanto el sistema de nomenclatura con el uso del alfabeto es claramente difícil y complicado y ahora se prefiere usar nom bres semitriviales como juglón y naftazarina (Gardner, W., -- Cooke, E. I., 1971).

Los pigmentos reportados son muy variados (IX, XIII, -- XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XXXVIII, XLIV, XLVII, XLVIII, L, LI, LVI, LVII, LVIII, LIX, LX, LXI, LXII, LXIII y LXVII), y hay cierta controversia acerca de sus estructuras; general-- mente tienen esqueletos quinónicos.

Además de los compuestos señalados se han aislado una -- serie de ácidos grasos (XX, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV, -- XXVI, XXVII, LXV y LXVI), que tienen un origen común y pre-- sentan gran similitud estructural (Ralston, A. W., 1948).

PARTE II.- INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS -  
EXPERIMENTALMENTE.

La segunda parte del presente estudio y objetivo principal del mismo es el análisis químico del erizo de mar *Strongylocentrotus franciscanus* para el cual se recolectaron 150 organismos y se obtuvieron de ellos los siguientes extractos:

Extracto etanólico de gónadas (A y B), extraídos de los erizos según se describe en la parte experimental.

Extracto etanólico de espinas y testas.

El extracto de gónadas A (10.77g) se separó por cromatografía en columna (Cromatografía 1), usando sílica gel como adsorbente. De las fracciones menos polares después de varias cristalizaciones se obtuvo un compuesto sólido cristalino de color blanco de p. f. 145-148°.

Su espectro en el IR (Anexo III, espectro 1), mostró -- bandas de absorción para grupo oxhidrilo en  $3615\text{cm}^{-1}$  y para grupos metilos y metilenos en 2940, 1470 y  $1380\text{cm}^{-1}$ . Su espectro de resonancia magnética nuclear protónica (RMNP), -- (Anexo III, espectro 2), mostró señales a alto campo cuyo -- perfil sugiere la presencia de un esteroide (XXXIII). El espectro de masas mostró un ión molecular a  $M^+=386$  siendo el -- pico base del espectro y que está de acuerdo para una fórmula molecular  $C_{27}H_{46}O$ , además de otros picos significativos a  $m/z$  371 ( $M-CH_3$ )<sup>+</sup> (35%); 368 ( $M-H_2O$ )<sup>+</sup> (45%); 353 ( $M-H_2O-CH_3$ )<sup>+</sup> (37.5%); 255 ( $C_{19}H_{22}$ )<sup>+</sup> (37%); 231 ( $C_{16}H_{24}O$ )<sup>+</sup> (25%); 213 -- -- ( $C_{16}H_{21}$ )<sup>+</sup> (42.25%).

La acetilación del compuesto XXXIII dió el acetato correspondiente, lo cual confirmó la presencia de un grupo oxhidrilo en la molécula.

Todos los datos espectroscópicos anteriores, así como -- los puntos de fusión del compuesto XXXIII y su correspondien

te acetato XXXIIIa permitieron identificar el compuesto aislado como colesterol (XXXIII). Consultar Anexo II.

La comparación de los espectros de IR, RMNP de XXXIII, con los reportados para el colesterol (SADTLER), confirman la aseveración anterior.

El espectro de masas de XXXIII (Anexo III, espectro 3), también indicó la presencia de  $C_{24}$ -metil y  $C_{24}$ -etil colestanos, ya que se observaron otros picos de mayor masa a  $m/z$  - 398 y 400 que están de acuerdo para las fórmulas moleculares  $C_{28}H_{46}O$  y  $C_{28}H_{48}O$  que pueden ser asignadas al 24-metil-colestan-5,22-dien-3  $\beta$ -ol (XXXVI), y al 24-metil-colestan-5-en-3  $\beta$ -ol (LXXII) respectivamente. Los picos a  $m/z$  412 y 414 están de acuerdo para las fórmulas moleculares  $C_{29}H_{48}O$  y  $C_{29}H_{50}O$  y pueden ser asignadas de manera similar al 24-etil-colestan-5,22-dien-3  $\beta$ -ol (LXXIII) y al 24-etil-colestan-5-en-3  $\beta$ -ol (LXXIV).

Las aguas madres de las cristalizaciones se recromatografiaron en columna (Cromatografía 2) y de las fracciones más polares después de purificarse por cromatografía en capa delgada se obtuvo otro compuesto, cuyo espectro de IR no presentó banda de absorción para grupos oxhidrilos, pero en cambio mostró una banda a  $1735\text{cm}^{-1}$  correspondiente al grupo carbonilo de un éster saturado, además de las absorciones en 2927, 2854, 1464 y  $1370\text{cm}^{-1}$  para grupos metilos y metilenos.

Su espectro de RMNP (Anexo III, espectro 5) confirmó la presencia del éster saturado ya que mostró una señal simple aguda en 2.05ppm correspondiente al grupo metilo de un acetato. El resto del espectro presentó gran similitud al del colesterol (XXXIII), observándose un singulete a 0.65ppm que corresponde al metilo del carbono número 19 y dos señales dobles a 0.85ppm para los metilos de los carbonos 26 o 27 y a 0.97ppm correspondiente al metilo del carbono 21.

En la región de bajo campo, se observan señales complejas entre 5.1 y 5.5ppm que aparecen como señales múltiples y

que pueden ser asignadas a los protones vinílicos de los carbonos 6, 22 y 23 y el protón sobre el carbono 3 base del grupo acetoxi.

El espectro de masas del compuesto sugiere que se trata del acetato de un dehidrocolesterol LXVIII, ya que presentó un ión molecular  $M^+ = 426$  que está de acuerdo para la fórmula molecular  $C_{29}H_{46}O_2$  o sea dos unidades de masa menos que para el correspondiente acetato de colesterol, se observaron además picos en  $m/z$  384  $(M-CH_2=O)^+$  (100%), que corresponde a la pérdida de un grupo cetena (Holleman, A. f., Richter, F., -- 1942), proveniente del acetato;  $m/z$  366  $(M-AcOH)^+$  (12.19%) - debido a la pérdida del ácido acético;  $m/z$  351  $(M-AcOH-CH_3)^+$  (4.14%), debido a la subsecuente pérdida de 15 unidades de un grupo metilo;  $m/z$  43 (92.7%) corresponde al grupo acetilo  $(CH_3CO)^+$  proveniente de la fragmentación del acetato y además el fragmento  $(C_3H_7)^+$ , proveniente de la cadena lateral.

Todos los datos espectroscópicos para el compuesto aislado indica que debe tratarse del acetato de colestano-5,22--dien-3  $\beta$ -ol (LXVIII), consultar Anexo III, espectros 4, 5 y 6.

De las fracciones eluidas con hexano/AcOEt 8:2 de la Cromatografía 1 se obtuvo un tercer compuesto cuyo espectro en el IR presentó absorción para grupos oxhidrilo en  $3605\text{ cm}^{-1}$ ; en  $2860$ ,  $1460$  y  $1380\text{ cm}^{-1}$  para grupos metilos y metilenos.

Su espectro de RMNP presenta cierta similitud con el del colesterol (XXXIII).

En  $3.05\text{ ppm}$  aparece una señal múltiple, correspondiente al protón sobre el C-3 base del oxhidrilo secundario.

En la región de los protones vinílicos se observan claramente dos señales dobles centradas en  $6.17$  y  $6.45\text{ ppm}$  ( $J=9\text{ Hz}$ ) correspondiente a un sistema AB originado por los proto-

nes vinílicos sobre los carbonos 6 y 7; estas señales son características de 5, 8-peroxi-esteroles, que han sido aislados de algunos organismos marinos como esponjas (Sheik, Y. M., Djerassi, C., 1974).

El espectro de masas del peróxido LXIX, presentó un ión molecular  $M^+ = 416$  que está de acuerdo para la fórmula  $C_{27}H_{44}O_3$

El pico base del espectro se observó a  $m/z$  384  $(M-O_2)^+$  (100%) que corresponde a la pérdida de una molécula de oxígeno proveniente del grupo peroxi; además de otros picos significativos a  $m/z$  369  $(M-O_2-CH_3)^+$  (36.5%); 351  $(M-O_2-CH_3-H_2O)^+$  (40%) que corresponde a la pérdida de 18 unidades pertenecientes a una molécula de agua lo cual confirma la presencia de un grupo oxhidrilo en la molécula;  $m/z$  271  $(M-O_2-C_8H_{17})^+$  (8.75%) y 253  $(M-O_2-H_2O-C_8H_{17})^+$  (10%), estos dos últimos picos corresponden a la pérdida de la cadena lateral  $C_8H_{17}$  del carbono número 17 además del grupo peroxi y una molécula de agua respectivamente. Anexo III, espectro 9.

Es importante mencionar que por primera vez se aísla un peróxido esteroidal de erizos marinos, ya que anteriormente solo se han aislado de algunas esponjas como *Haliclona rubens* e *Ircinia campana* (Acosta, F., 1977); *Tethya aurantia* (Sheik, Y. M., Djerassi, C., 1974) y *Axinella cannabina* (Fattorusso, E., 1974).

Las primeras fracciones eluidas con hexano/AcOEt (7:3) de la Cromatografía 1, se recromatografiaron en columna (Cromatografía 3) obteniendo compuestos que por sus constantes espectroscópicas de IR, RMNP y EM pueden ser diglicéridos; estos continúan en estudio al igual que los probables diglicéridos obtenidos de una recromatografía (Cromatografía 4) de la misma fracción eluida con hexano/AcOEt (7:3) de la Cromatografía 1.

Es de importancia mencionar que de la especie *Strongylocentrotus franciscanus* motivo de este estudio se ha descrito

previa y únicamente el aislamiento de los siguientes compuestos químicos (Botticelli, C. R., et al, 1961): 17  $\beta$  estradiol (I) y 3-oxo-pregna-4-en-20  $\beta$ -ol (II).

El extracto de gónadas B, se saponificó, con una solución de NaOH al 5% y después se separaron las fracciones ácidas y neutras usando un aparato de extracción continua tipo Sandoval y utilizando AcOEt como disolvente. Después de lo cual se obtuvieron 487mg de compuestos neutros y 411,2mg de compuestos ácidos. La fracción ácida se esterificó con una solución etérea de diazometano preparado a partir de nitroso metil urea.

Los ésteres metílicos se analizaron por cromatografía de gases utilizando una columna de succinato de dietilenglicol y  $N_2$  como gas transportador. Ver los resultados de éste análisis en el Anexo IV.

El extracto de espinas (8.3g) también se saponificó y después se separaron los compuestos ácidos y neutros en la forma descrita anteriormente usando hexano como disolvente.

De la fase orgánica (compuestos neutros no saponificables) después de varias cristalizaciones se obtuvieron 558.1 mg de colesterol (XXXIII). Las aguas madres (1.217g) se cromatografiaron en columna (Cromatografía 5) y de las primeras fracciones eluidas con hexano/AcOEt (7:3), se obtuvo una mezcla de esteroides que continúan en estudio.

La fracción ácida (318.8mg) se esterificó con una solución etérea de diazometano obtenida a partir de 300mg de nitroso metil urea.

Los ésteres metílicos se analizaron por cromatografía de gases en la forma descrita anteriormente y los compuestos identificados se mencionan en el Anexo IV.

## CONCLUSIONES

- 1.- Se hizo un estudio bibliográfico que abarca desde 1907 - hasta 1984, sobre la clase Equinoidea, recopilando información de los compuestos aislados. La mayoría de trabajos sobre erizos reportan principalmente el estudio químico de gónadas, espinas y testas.
- 2.- Se colectó el erizo *Strongylocentrotus franciscanus* en la localidad de Tres Hermanas, en la Bahía de Todos Santos, Ensenada, B. C. y se hizo un estudio químico preparando los extractos etanólicos de las gónadas y de las espinas.
- 3.- De los extractos de las gónadas, se aislaron e identificaron química y espectroscópicamente los siguientes compuestos:
  - a) Colesterol (XXXIII) y pequeñas cantidades de C<sub>24</sub> metil y C<sub>24</sub> etil colestanos (XXXVI, LXXII, LXXIII y LXXIV).
  - b) Acetato de colestán-5,22-dien-3 β-ol (LXVIII).
  - c) Colestán-6-en-5α,8α-epidioxi-3 β-ol (LXIX).
  - d) Diglicéridos.
  - e) Una serie de 20 ácidos grasos.
- 4.- Del extracto de las espinas se aislaron e identificaron:
  - a) Colesterol (XXXIII).
  - b) Una mezcla de esteroides.
  - c) Una serie de 18 ácidos grasos.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer un estudio más profundo sobre el funcionamiento o la posible aplicación del compuesto Colestán-6-en-5α,8α-epidioxi-3 β-ol (LXIX) aislado por primera vez en erizo marino.

## ANEXO I

Compilación de la revisión bibliográfica efectuada para Equinoideos incluyendo género y especie, compuestos aislados de cada uno, número (romano) asignado en el presente trabajo a la fórmula de cada compuesto y número (arábigo) perteneciente a la ficha de bibliografía.

Género y especie	Compuestos	Fórmula	Cita
<i>Strongylocentrotus franciscanus</i>	Esteroides:		
	17 $\beta$ Estradiol	(I)	(3)
	3-oxo-pregna-4- -en-20 $\beta$ ol	(II)	(22)
<i>Strongylocentrotus intermedius</i>	Lípidos:		
	Esfingolípidos Fitosfingosina	(-)	(23)
<i>Strongylocentrotus lividus</i>	Carotenoides:		
	$\alpha$ y $\beta$ carotenos	(IV, V)	(3)
	Provitamina A	(VI)	(16)
	Equinenona	(VII)	(16)
	Pentaxantina	(VIII)	(16)
<i>Strongylocentrotus pulcherrimus</i>	Espinocromos:		
	Espinocromo $B_1=B=N$ $N=P=M_2$	(XVII)	(3)
	Espinocromo Aka <sub>1</sub>	(XIII)	(24)
	Espinocromo M <sub>1</sub>	(XIV)	(25)
	Espinocromo Aka <sub>2</sub>	(-)	(26)

*Actinia equina*

Carotenoides:  
Astaxantina (XII) (3)

*Anthocidaris crassispina*

Espinocromos:  
Espinocromo M<sub>1</sub> (XIV) (27)  
Espinocromo M<sub>2</sub> (XVII) (3)  
Espinocromo B (LXIV) (3)  
(XV) (3)

Acidos grasos:  
Araquidónico (XX) (3)  
Linoléico (XXI) (3)  
Mirístico (XXII) (3)  
Oléico (XXIII) (3)  
Palmítico (XXIV) (3)  
Esteárico (XXV) (3)  
Linolénico (XXVI) (3)  
Eleosteárico (XXVII) (3)

Lípidos:  
Ac. fosfatídico (XXVIII) (2)  
Fosfolípidos  
Fosfatidiletanolamina (XXIX) (2)  
Fosfatidilinositol (-) (28)  
Fosfatidilserina (XXX) (2)  
Fosfatidilcolina (XXXI) (2)  
Esfingomiélna (XXXII) (2)

*Arbacia equituberculata*

Pigmentos:  
Equinocromo A (XVIII) (4, 7)  
(XIX) (3)

*Arbacia pustulosa*

Pigmentos:  
Equinocromo A (XVIII) (4, 7)  
(XIX) (3)  
Espinocromo E (XVI) (3)  
Espinocromo G (-) (4)  
Espinocromo P (XVII) (4)

*Clypeaster japonicus*

Acidos grasos:  
Araquidónico (XX) (3)

*Diadema antillarum*

Pigmentos:  
6-etil-2,3,7-tri-  
hidroxinaftazarina (XXXVIII) (29)

*Diadema setosum*

Pigmentos:  
Equinocromo A (XVIII) (4, 7)  
(XIX) (3)  
Espinocromo Aka<sub>1</sub> (XIII) (30)  
Espinocromo Aka<sub>2</sub> (-) (30)  
Espinocromo M<sub>1</sub> (XIV) (30)  
Espinocromo M<sub>2</sub> (XVII) (30)

*Echinarachnius mirabilis*

Pigmentos:

Equinocromo A (XVIII) (4, 7)

*Echinocardium cordatum*

Carotenoides:

Equinenona (afani-  
na, mixoxantina) (VII) (16)

$\beta$  caroteno (V) (3)

Luteína (XXXIX) (3)

Pigmentos:

Naftoquinona (IX, X) (18)

*Echinometra lucunter*

Esteroides:

Colesterol (XXXIII) (4)

24 $\xi$ -27-nor-24-

metil-colestan-

5,22-dien-3 $\beta$  ol (LXX) (31)

24-metil-colestan-

5,22-dien-3 $\beta$  ol (XXXVI) (31)

24-metil-colestan-

5,24-dien-3 $\beta$  ol (XXXVII) (31)

5 $\alpha$ -colestan-3 $\beta$  ol (LXXI) (31)

Carotenoides:

Criptoxantina (XLIII) (3)

*Echinothrix diadema*

Carotenoides:

Fucoxantina	(XL)	(3)
Fucoxantíol	(XLI)	(3)
Paracentrona	(XLII)	(16)

Pigmentos:

2-metil-8-hidroxi- 2-H-pirano-3,2-g- naftazarina	(-)	(32)
--	-----	------

*Echinus esculentus*

Pigmentos:

Espinocromo A=M	(XLIV)	(7)
Espinocromo B=B <sub>1</sub> =N N=P=M <sub>2</sub>	(XVII)	(3)

*Heliocidaris crassispina*

Pigmentos:

2(- $\alpha$ -hidroxialquil- naftoquinona	(-)	(33)
2,3,6,8-tetrahidroxi naftoquinona	(XLVII)	(33)
Espinocromo M <sub>1</sub>	(XIV)	(33)
Espinocromo M <sub>2</sub>	(XVII)	(3)
Espinocromo Aka <sub>1</sub>	(XIII)	(33)
Espinocromo Aka <sub>2</sub>	(-)	(33)

Lípidos:

Lecitina	(LII)	(3)
Cefalina	(LIII)	(3)

	Esfingolípidos:	
	Esfingomiéline	(LIV) (3)
	Fosfoinosítida	(-) (3)
	Lisolecitina	(-) (3)
<i>Hemicentrotus pulcherrimus</i>	Pigmentos:	
	Espinocromo B <sub>3</sub>	(-) (34)
	Espinocromo M <sub>1</sub>	(XIV) (33)
<i>Heterocentrotus mamillatus</i>	Pigmentos:	
	Espinocromo F <sub>1</sub>	(-) (35)
<i>Loxechinus albus</i>	Pigmentos:	
	Equinocromo A	(XVIII) (4, 7)
		(XIX) (3)
<i>Ophiocoma erinaceus</i>	Pigmentos:	
	2-hidroxi-3-etil-naftazarina	(LVI) (7)
	2-hidroxi-3-acetil-naftazarina	(LVII) (7)
	6-etil-2-hidroxi-naftazarina	(LVIII) (7)
	2-hidroxi-3-acetil-7-metoxi-naftazarina	(LIX) (7)

*Ophiocoma inularia*

Espinocromo A=M	(XLIV)	(7)
Pigmentos:		
2-hidroxi-3-etil-naftazarina	(LVI)	(36)
2-hidroxi-3-acetil-naftazarina	(LVII)	(36)
6-etil-2-hidroxi-naftazarina	(LVIII)	(36)
2-hidroxi-3-acetil-7-metoksi-naftazarina	(LIX)	(36)
2,7-dihidroxi-3-etilnaftazarina	(LX)	(7)
2,6,7-trihidroxi-3-etil juglón	(LXI)	(36)
Espinocromo A=M	(XLIV)	(7)
Equinocromo A	(XVIII)	(4, 7)
	(XIX)	(3)

*Paracentrotus lividus*

Carotenoides:		
$\alpha + \beta$ carotenos	(IV, V)	(3)
Equinenona	(VII)	(16)
Xantofila 1		
(zeaxantina)	(XLVI)	(3, 2, 16)

Xantofila 2	(-)	(3)
Xantofila 3		
(Luteína)	(XXXIX)	(3)
Xantofila 4	(-)	(37)
Xantofila 5	(-)	(37)
Xantofila 6	(-)	(37)
Pigmentos:		
Espinocromo A	(XVIII)	(4, 7)
	(XIX)	(3)
Espinocromo B=B <sub>1</sub> =N N=P=M <sub>2</sub>	(XVII)	(3)
Espinocromo C=F F=Espinona	(XLVIII)	(4)
	(XLIX)	(4)
Espinona A=Espinocromo C=F	(XLVIII)	(4)
	(XLIX)	(4)
Espinocromo P=B=B <sub>1</sub> B=N=M <sub>2</sub>	(XVII)	(3)
Espinocromo P <sub>1</sub> =B=B <sub>1</sub> B=N=M <sub>2</sub>	(XVII)	(3)
Espinocromo A=M	(XLIV)	(7)
Ubiquinona	(L)	(18)

*Peronella japonica*

(-)

*Planilampas sternopetala*

(-)

*Pseudocentrotus depressus*

Pigmentos:

Espinocromo Aka<sub>2</sub> (-) (38)

Espinocromo M<sub>1</sub> (XIV) (38)

Espinocromo A=M (XLIV) (7)

Espinocromo B=B<sub>1</sub>=M<sub>2</sub>  
B=P<sub>1</sub>=P=N (XVII) (3)

Espinocromo D=Aka (LI, XI) (4)

Acidos grasos:

Araquidónico (XX) (3)

*Renilla reniformis*

Esteroides:

Colesterol (XXXIII) (4)

*Spatangus purpureus*

Pigmentos:

Etilideno-3,3'-bis  
(2,6,7-trihidroxi)

naftazarina (LXII) (39)

*Sphaerechinus granularis*

Carotenoides:

Equinenona (VII) (16)

β caroteno (V) (3)

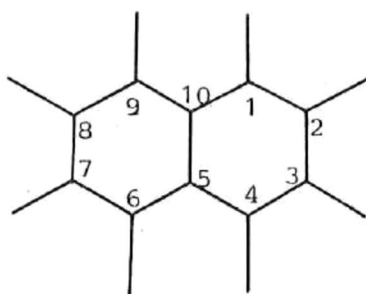
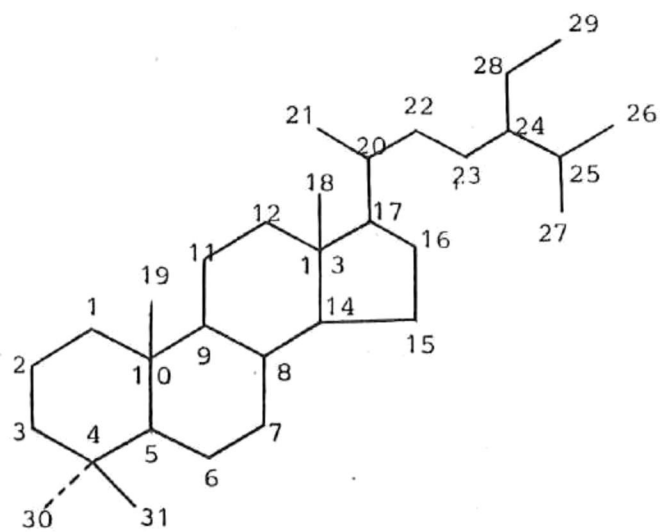
Provitamina A (VI) (16)

Dihidroxixantofila (LV) (16)

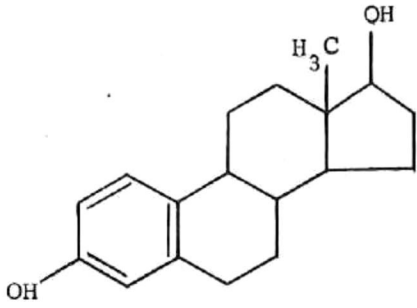
	Pigmentos:		
	Ubiquinona	(L)	(18)
	Acidos grasos:		
	Behénico		
	(Docosenóico)	(LXV)	(3)
	Araquídico		
	(Eicosenóico)	(LXVI)	(3)
<i>Stomopneustes variolaris</i>	Pigmentos:		
	Espinocromo A=M	(XLIV)	(7)
<i>Temnopleunes torreumaticus</i>	Pigmentos:		
	3-acetil-2,6,7-tri- hidroxijuglona	(LXIII)	(3)
<i>Tetrapygyus niger</i>	Pigmentos:		
	Espinocromo A=M	(XLIV)	(7)
Otras especies	Pigmentos:		
	Testacromo M <sub>1</sub>	(-)	(40)
	Testacromo M <sub>2</sub>	(-)	(40)
	Mompain	(LXVII)	(18)
	Carotenoides		

ANEXO II

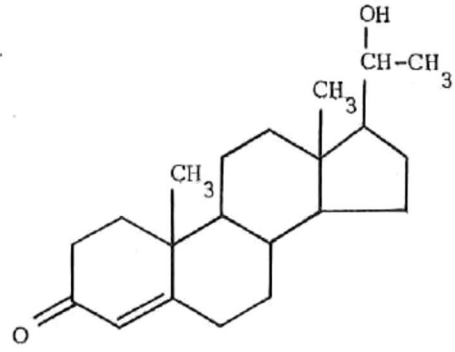
Estructura propuesta para cada compuesto aislado de  
Equinoideos.



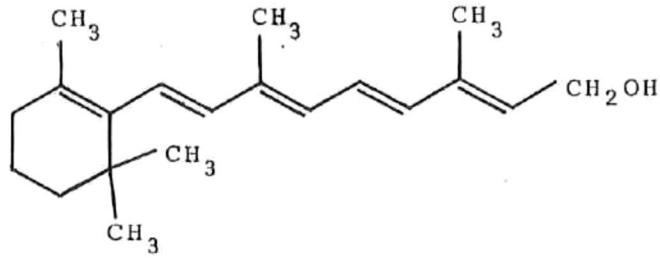
Secuencia de la numeración para cada átomo de C.



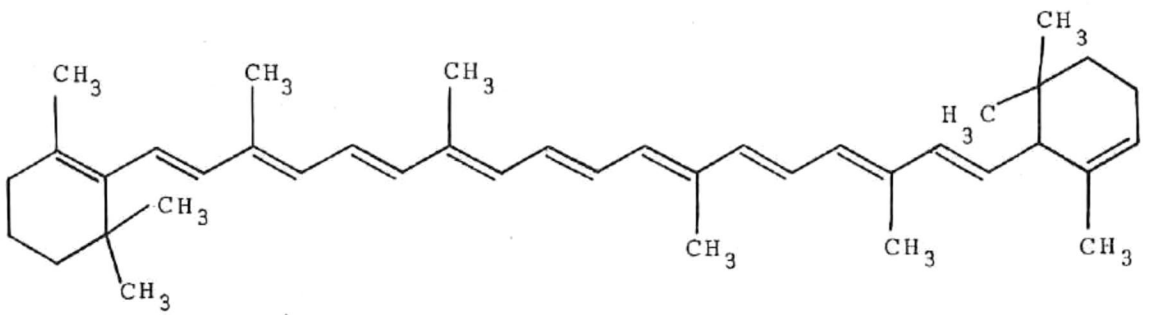
(I)



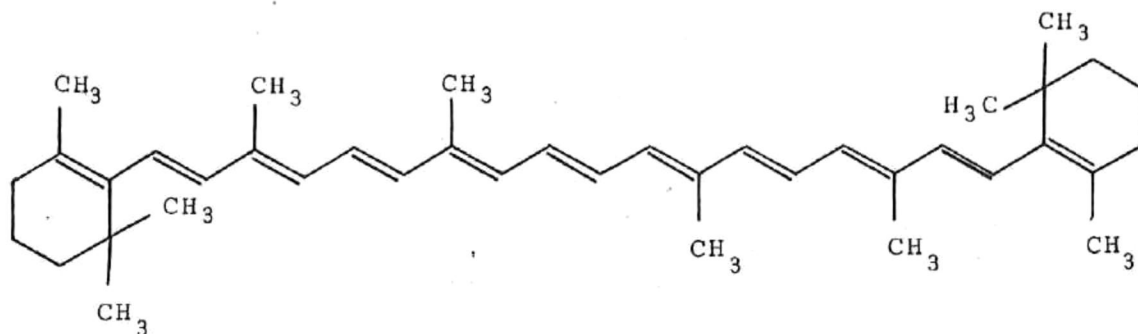
(II)



(III)



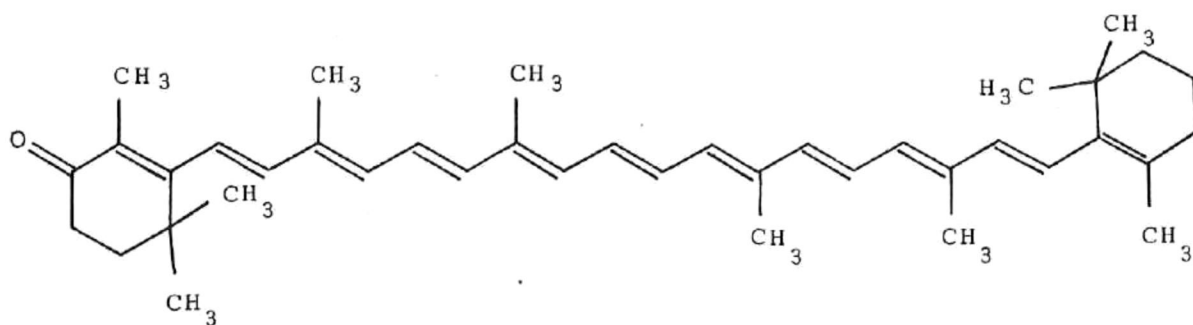
(IV)



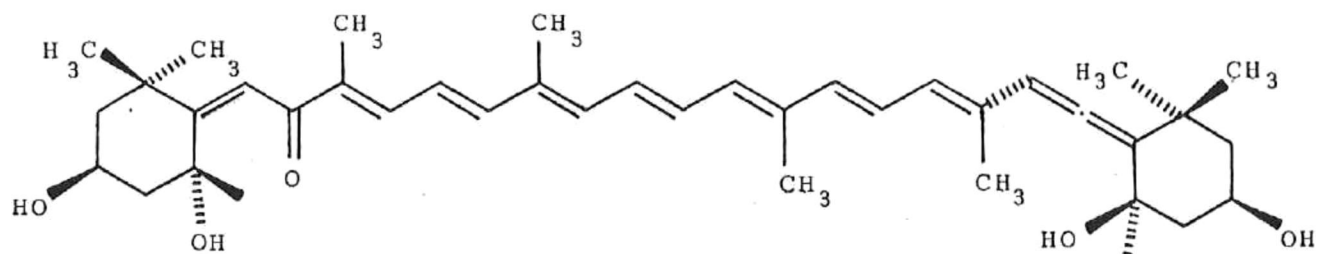
(V)

Provitalina A.- Sinónimo de caroteno  $\alpha$ ,  $\beta$  ó  $\gamma$  y de criptoxantina que pueden dar lugar a la vitamina A propiamente dicha.

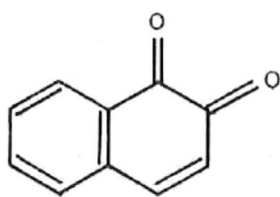
(VI)



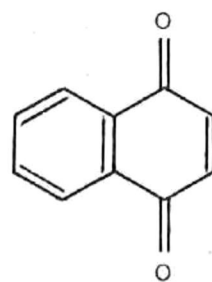
(VII)



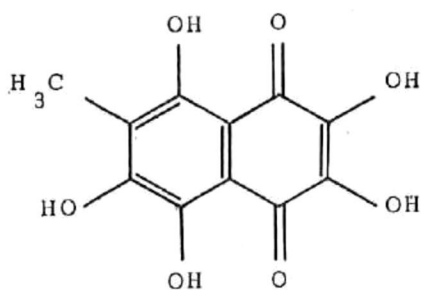
(VIII)



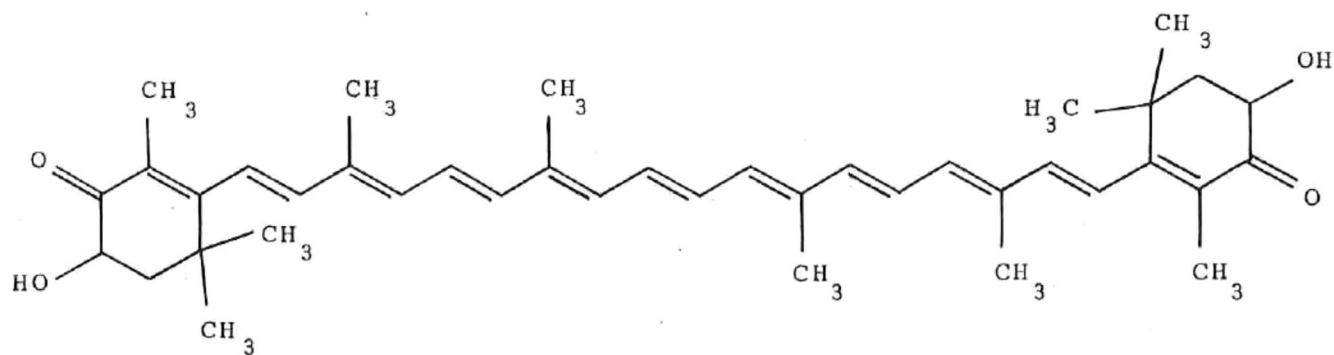
(IX)



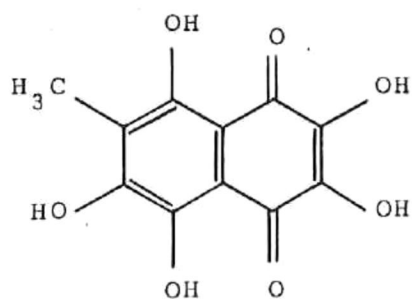
(X)



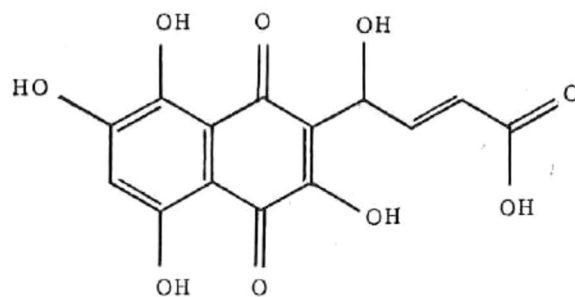
(XI, LI)



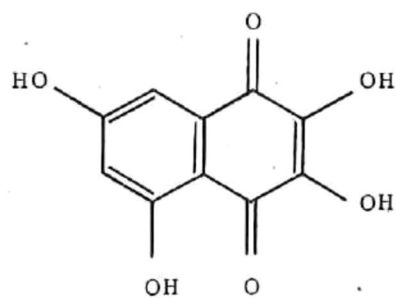
(XII)



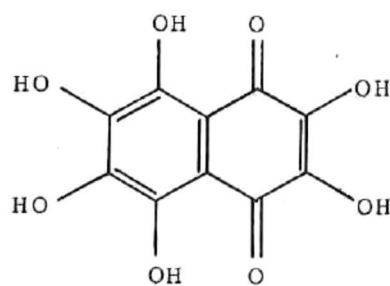
(XIII)



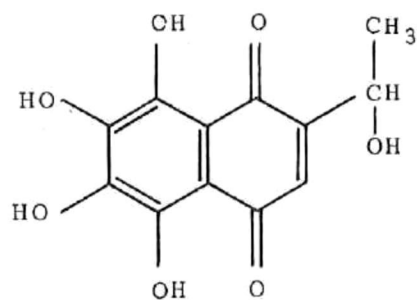
(XIV)



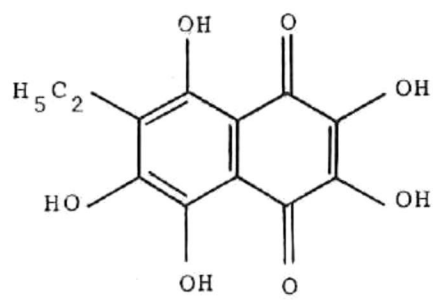
(XV)



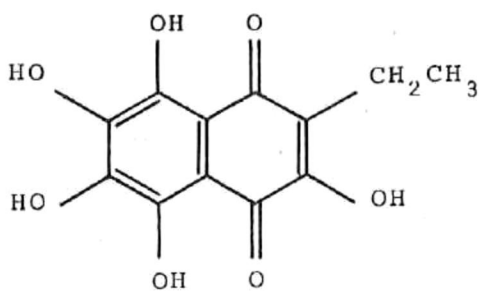
(XVI)



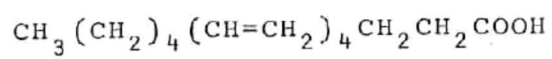
(XVII)



(XVIII)

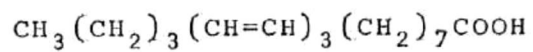


(XIX)

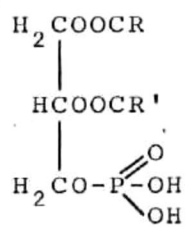


(XX)

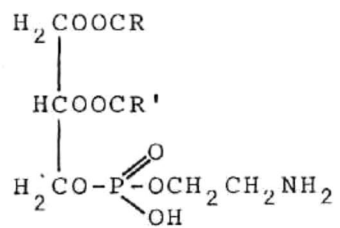




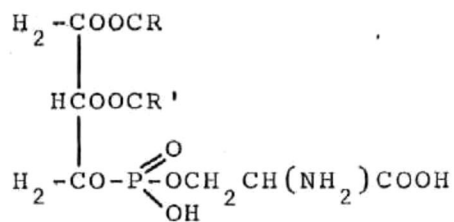
(XXVII)



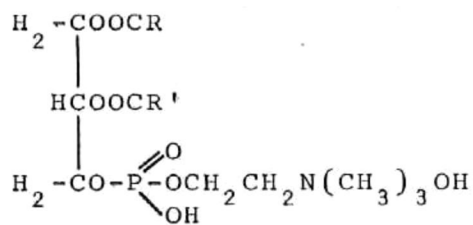
(XXVIII)



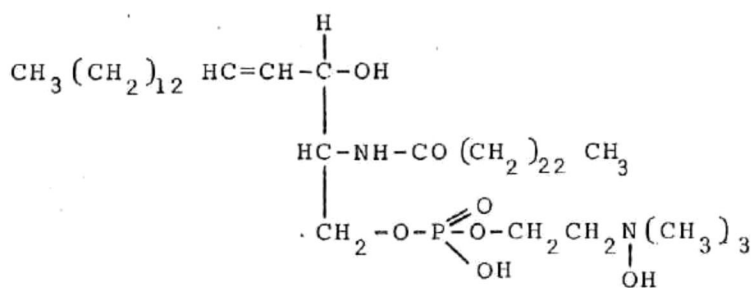
(XXIX)



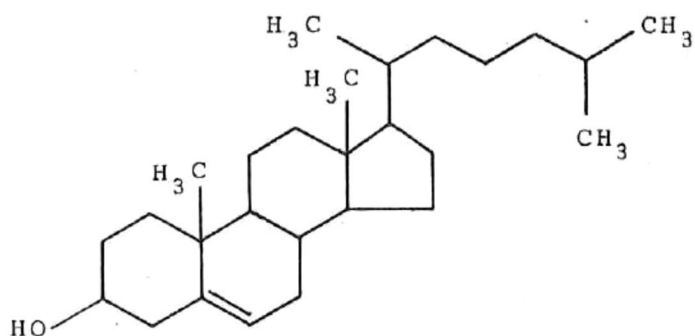
(XXX)



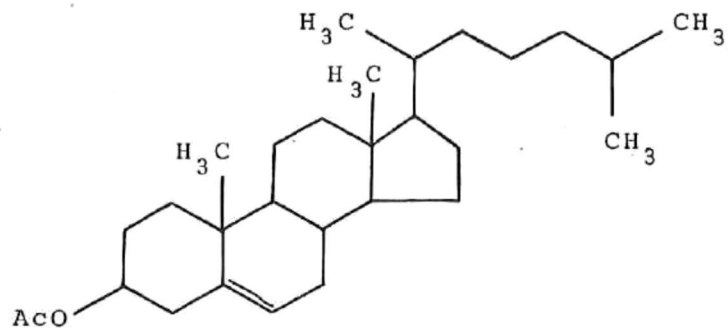
(XXXI)



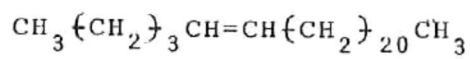
(XXXII)



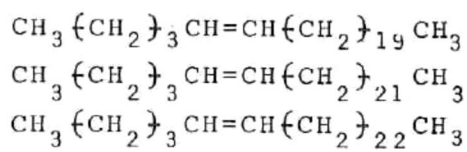
(XXXIII)\*



(XXXIIIa)

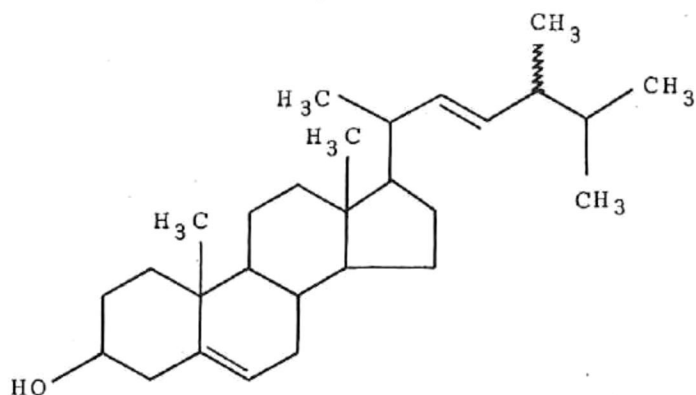


(XXXIV)

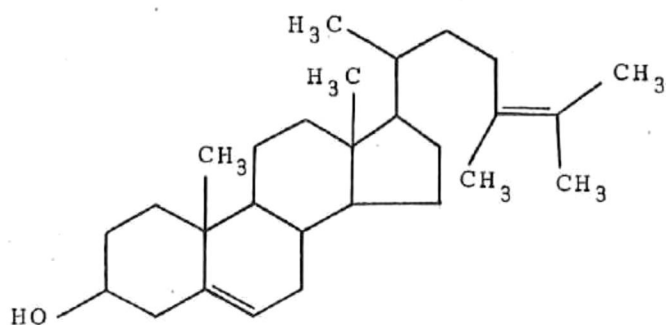


(XXXV)

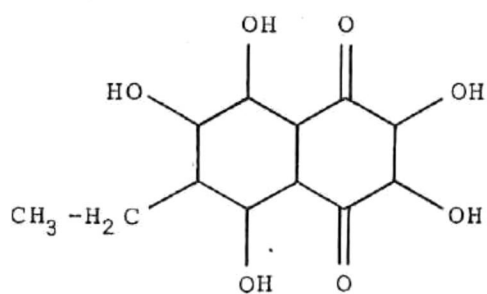
\*Aislado en el presente análisis químico.



(XXXVI) \*

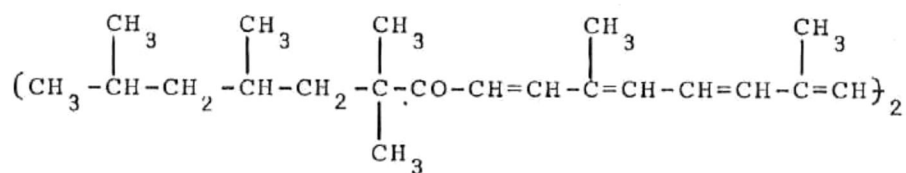
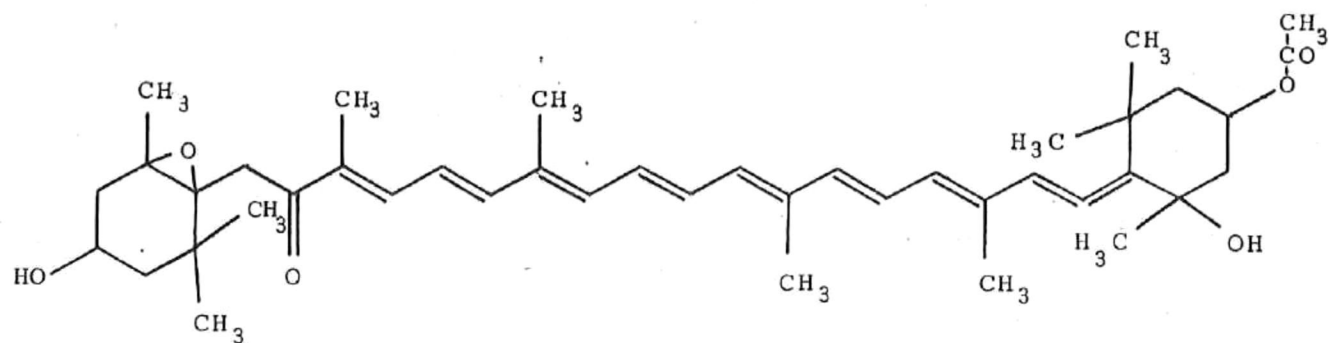
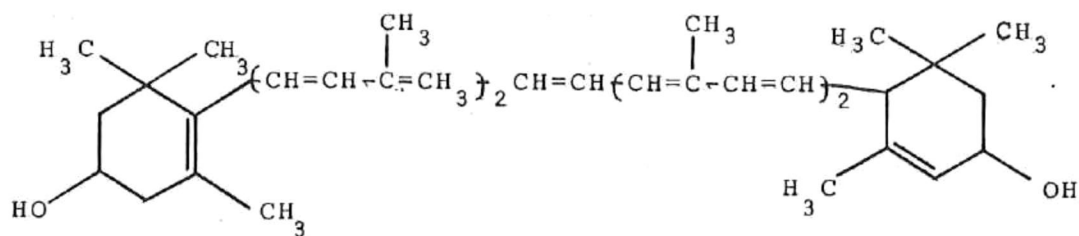


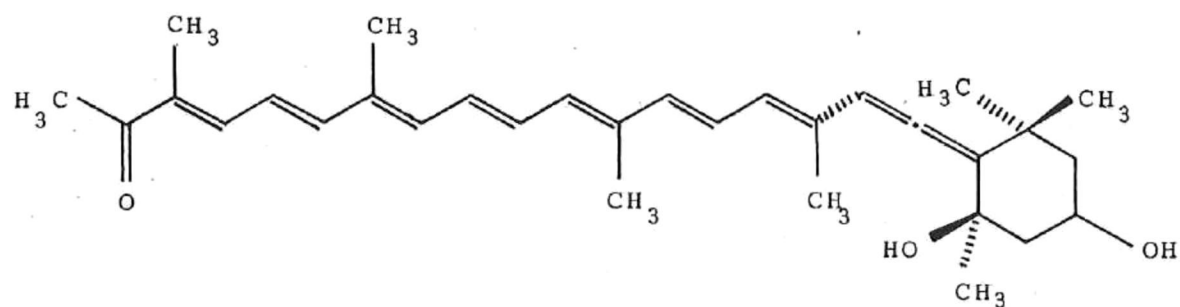
(XXXVII)



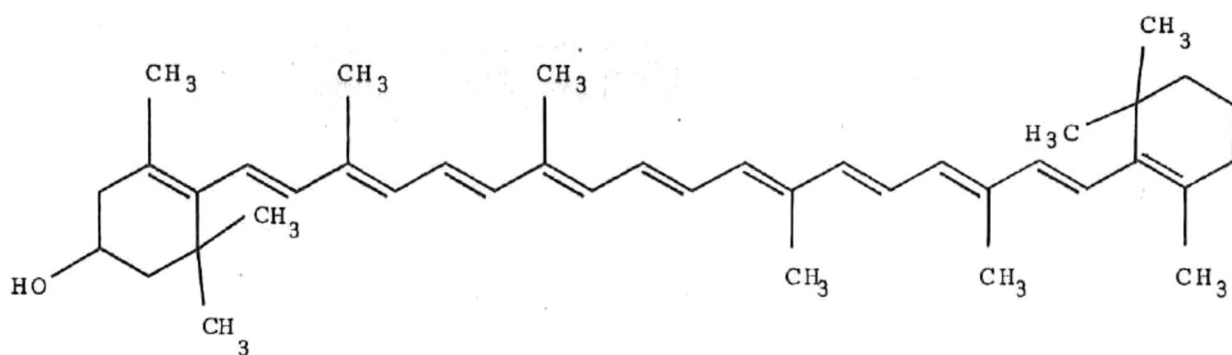
(XXXVIII)

\*Aislado en el presente análisis químico.

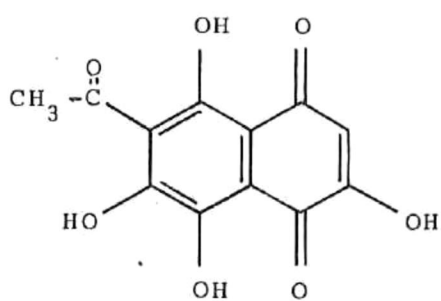




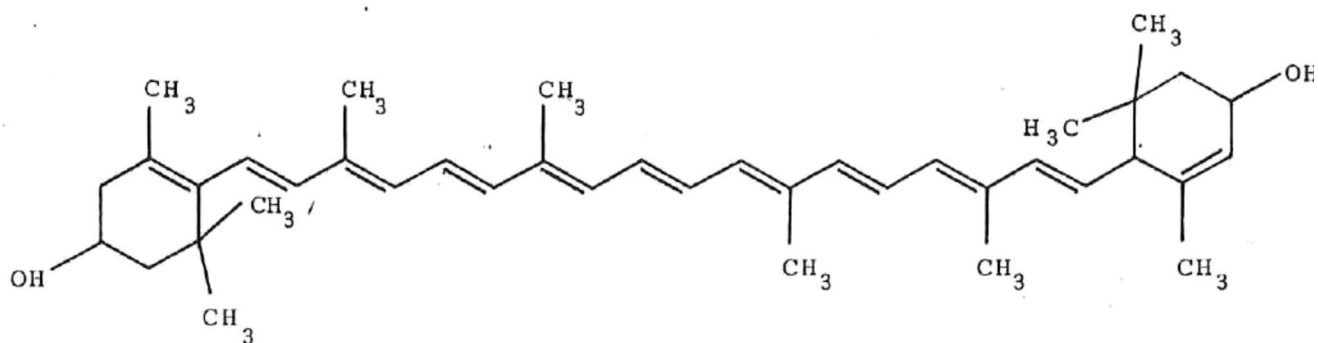
(XLII)



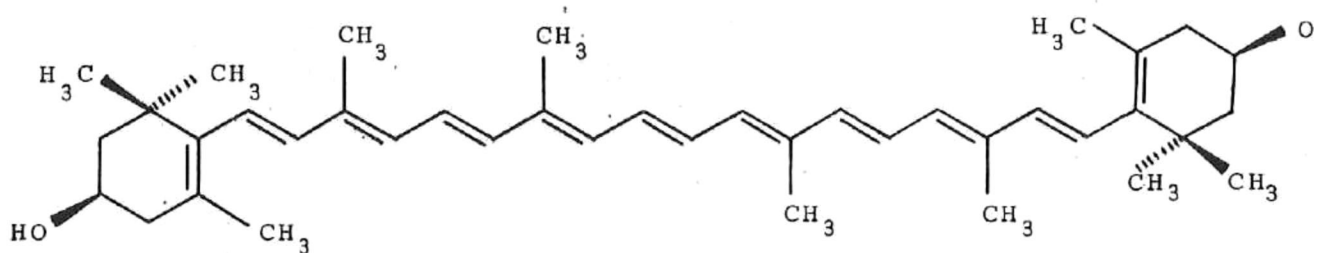
(XLIII)



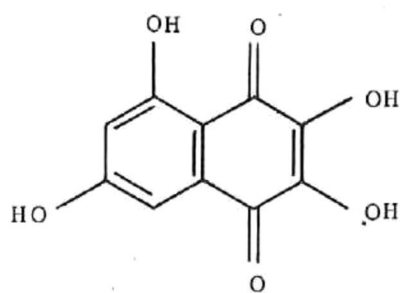
(XLIV)



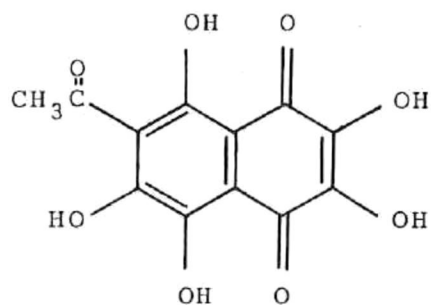
(XLV)



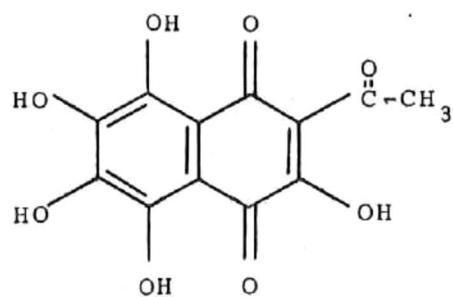
(XLVI)



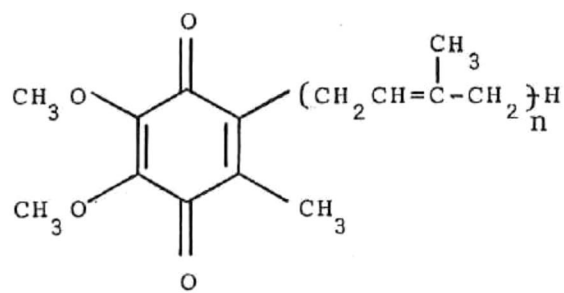
(XLVII)



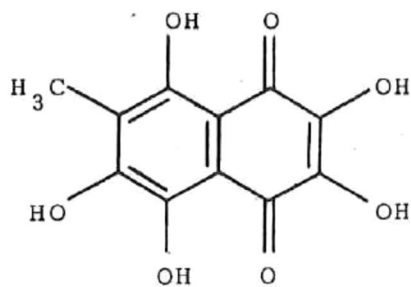
(XLVIII)



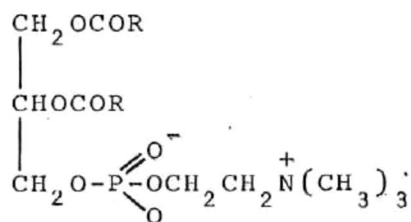
(XLIX)



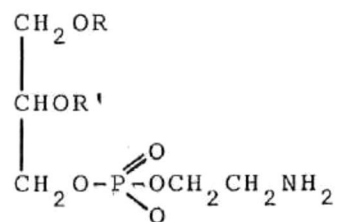
(L)



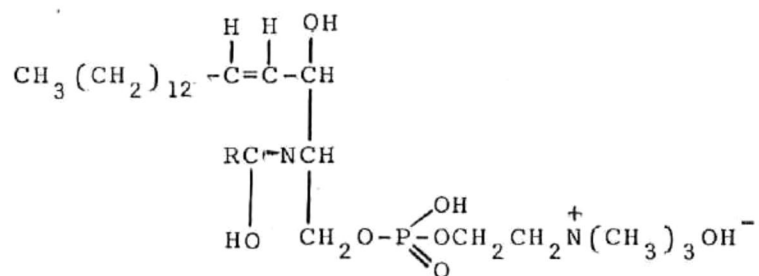
(LI, XI)



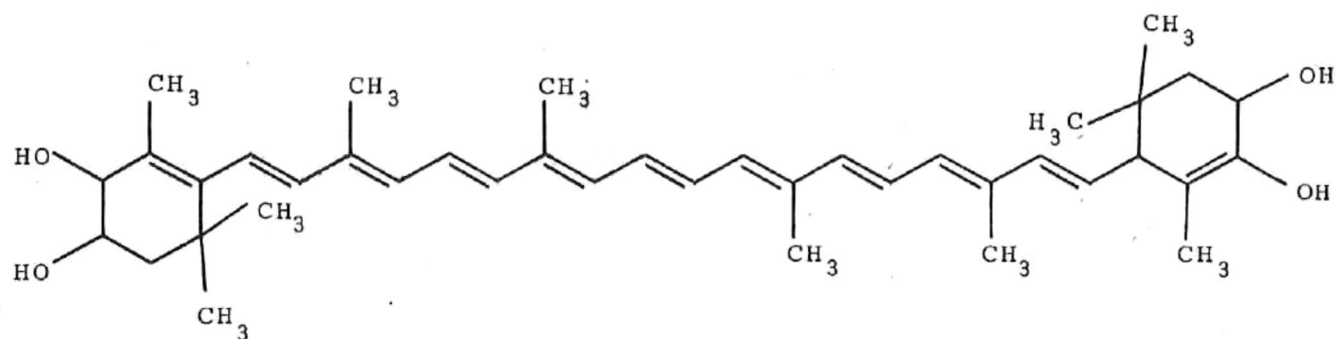
(LII)



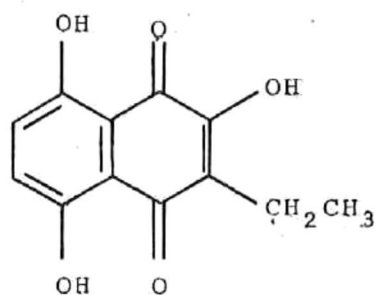
(LIII)



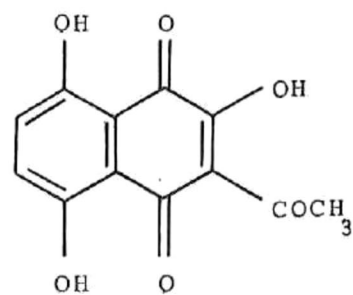
(LIV)



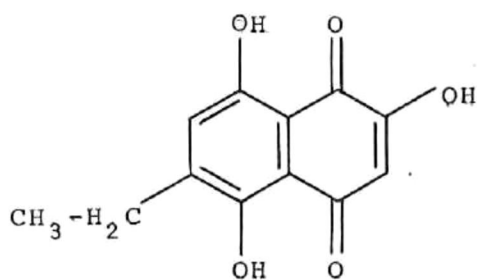
(LV)



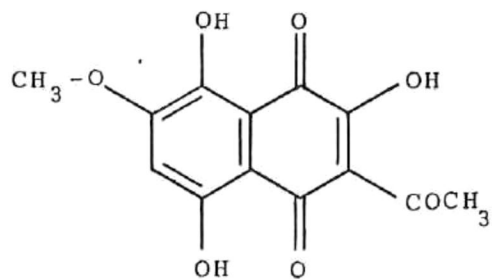
(LVI)



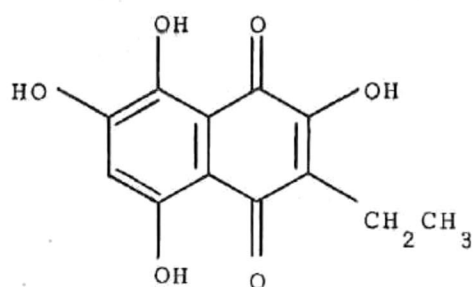
(LVII)



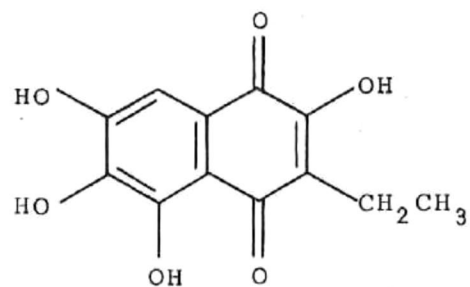
(LVIII)



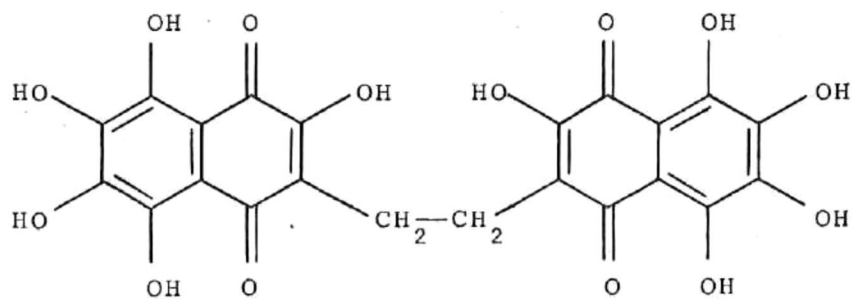
(LIX)



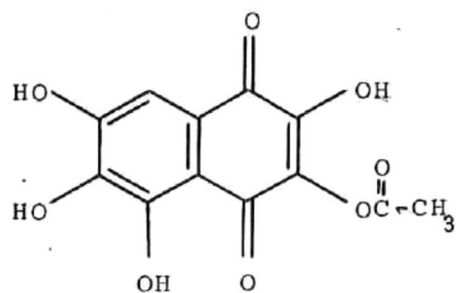
(LX)



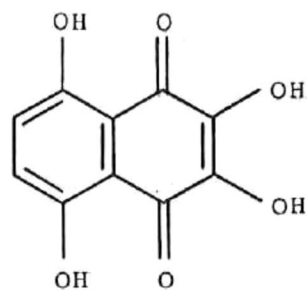
(LXI)



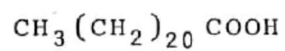
(LXII)



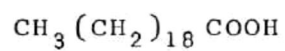
(LXIII)



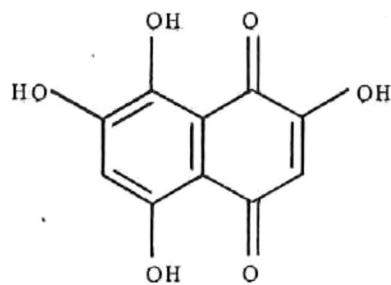
(LXIV)



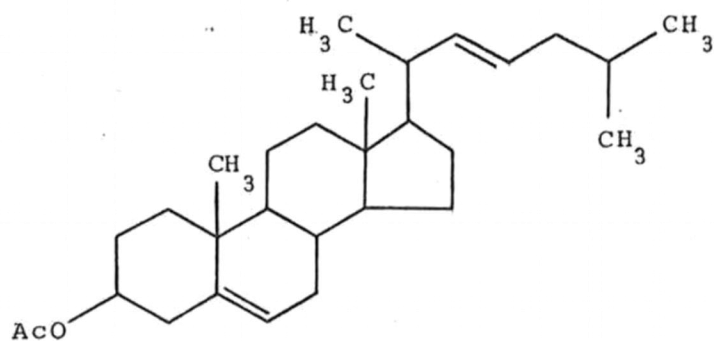
(LXV)



(LXVI)

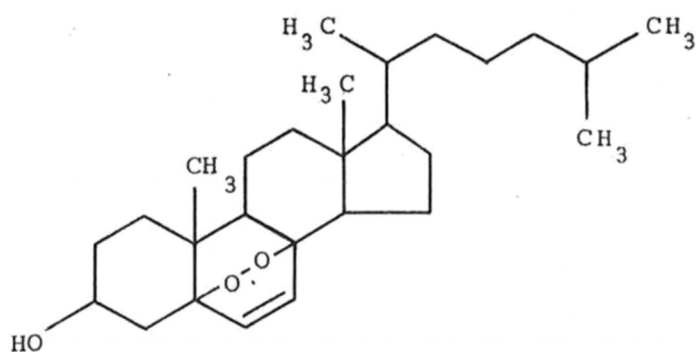


(LXVII)



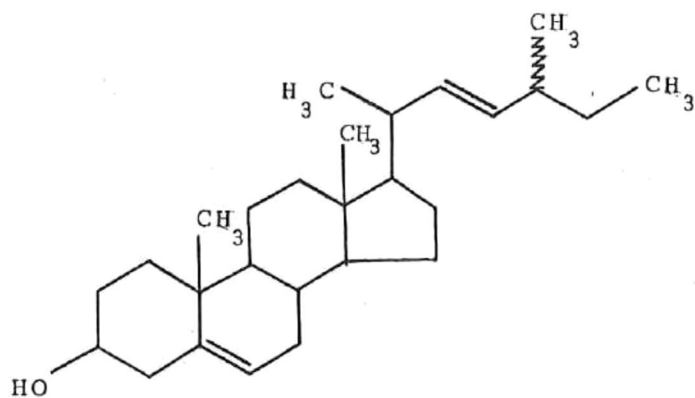
(LXVIII) \*

\*Aislado en el presente análisis químico

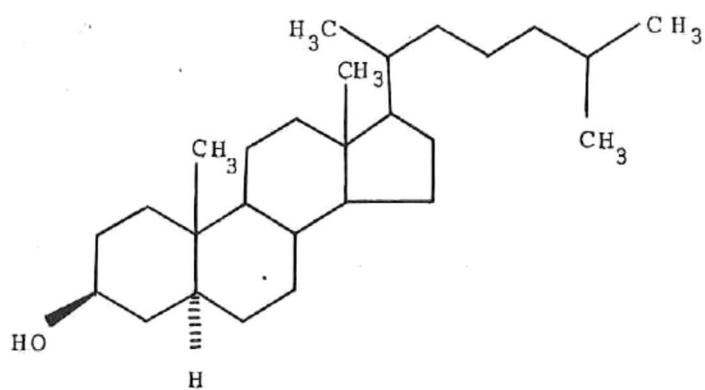


(LXIX)\*\*

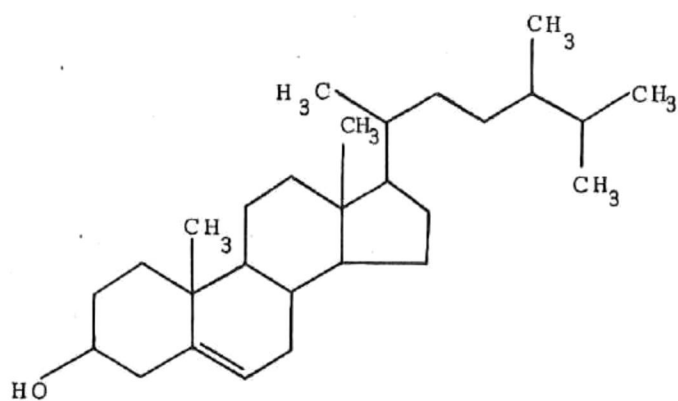
\*\*Aislado por primera vez de *Strongylocentrotus franciscanus*.



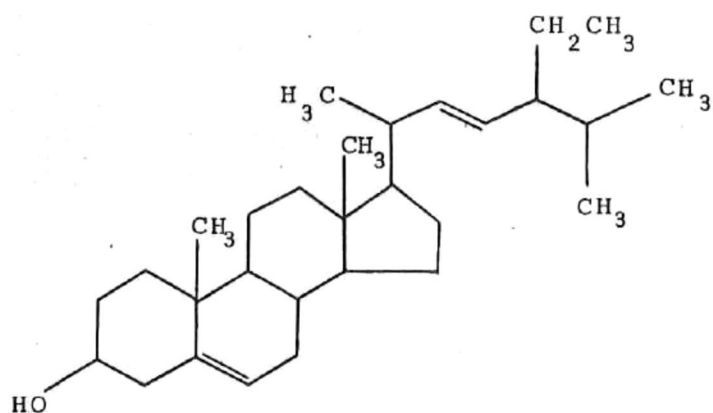
(LXX)



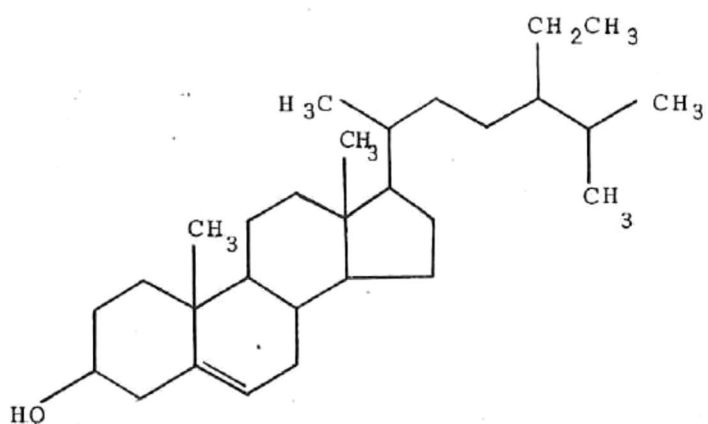
(LXXI)



(LXXII)\*



(LXXIII)\*

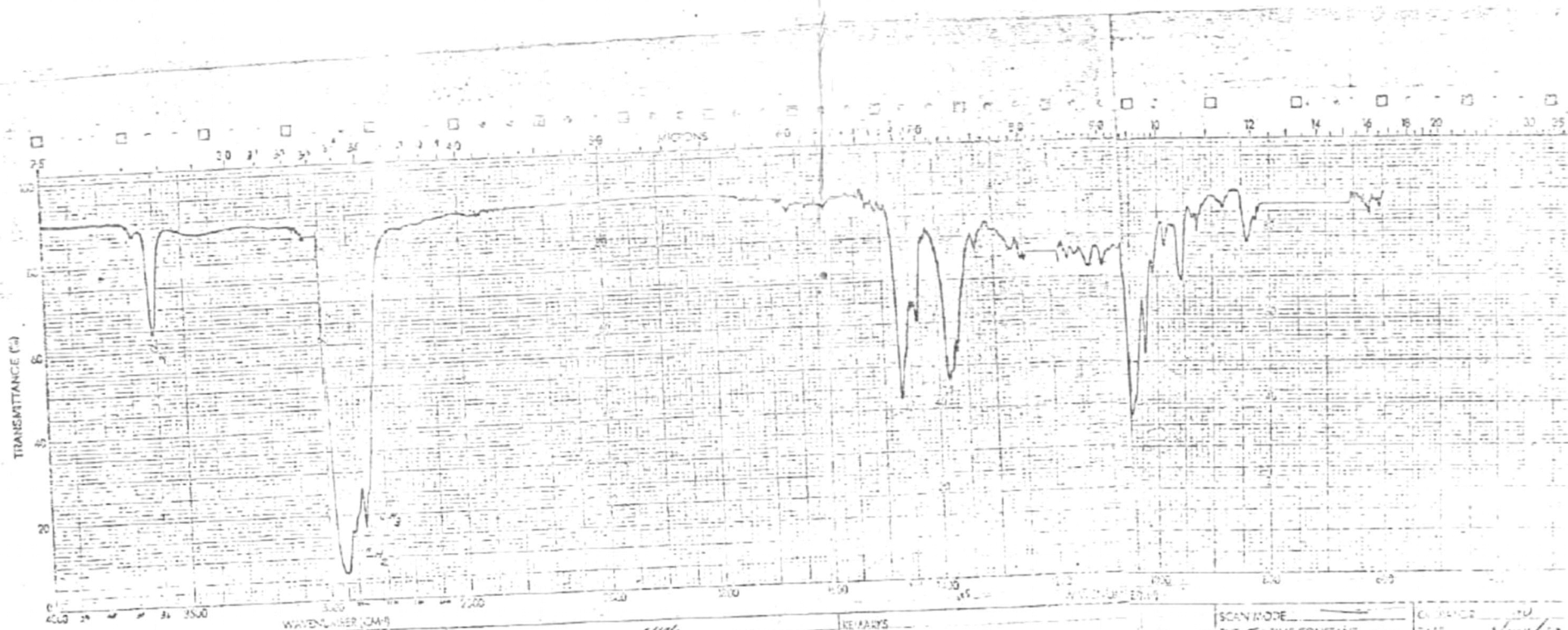


(LXXIV)\*

\*Aislado en el presente análisis químico.

### ANEXO III

Espectros de IR, RMNP y EM obtenidos del análisis espectrofotométrico de los compuestos aislados experimentalmente.

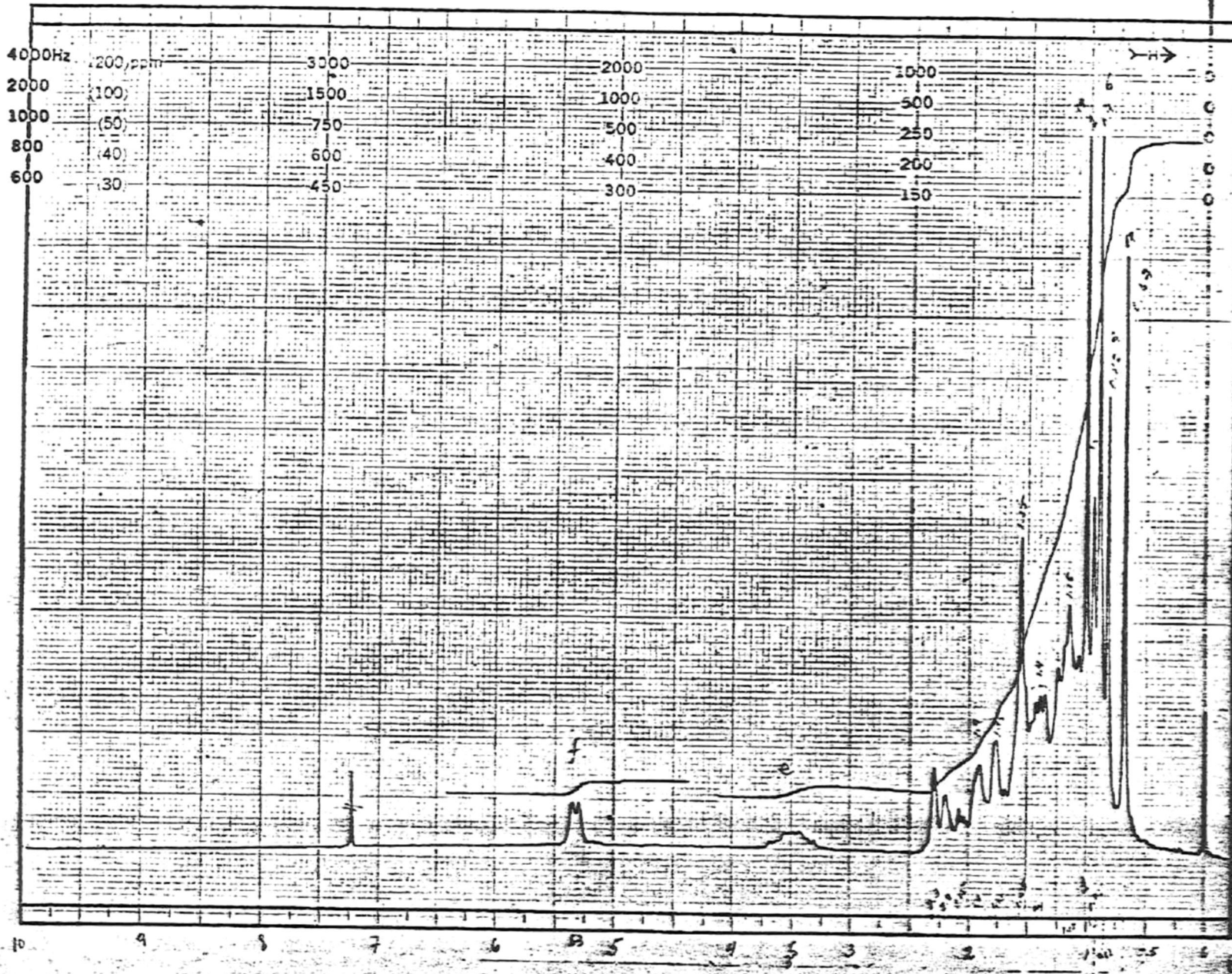


SAMPLE <i>P101</i>		IR		REMARKS		SCAN MODE	DATE
ORIGIN <i>De I. Rio</i>		SOLVENT	<i>CHCl₃</i>			OUT. 5	<i>1/20/52</i>
		CONCENTRATION	<i>1 mg/ml</i>			NO. OF ENVELOPES	REF. No. <i>2271</i>
		CELL PATH	<i>0.5 cm</i>			PAT. NO. 30643-7	
		REFERENCE	<i>CHCl₃</i>				

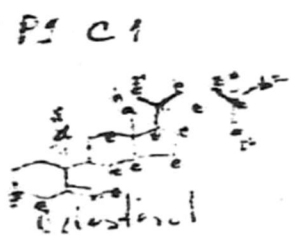
XXX.111 Colesta. 5, en 3, 3 = 1. colesterol.

ESPECTRO 1

$\delta = \text{dispersion}$



FT-80A SPECTRUM NO. 200  
 OPERATOR MC DATE         
 NUCLEUS        FREQUENCY         
 SYNTHESIZER SETTING         
 EXPERIMENT NAME CHOL  
 FILE NAME         
 SAMPLE CHOL



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL         
 SPIN RATE        rps. TEMP         
 INSERT       

ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW)         
 NO. OF TRANSIENTS (NT)         
 ACQUISITION TIME (AT)         
 PULSE WIDTH (PW)         
 PULSE DELAY (PD)         
 DATA POINTS (DP)       

TRANSMITTER OFFSET (TO)         
 HIGH FIELD        LOW FIELD         
 RECEIVER GAIN (RG)       

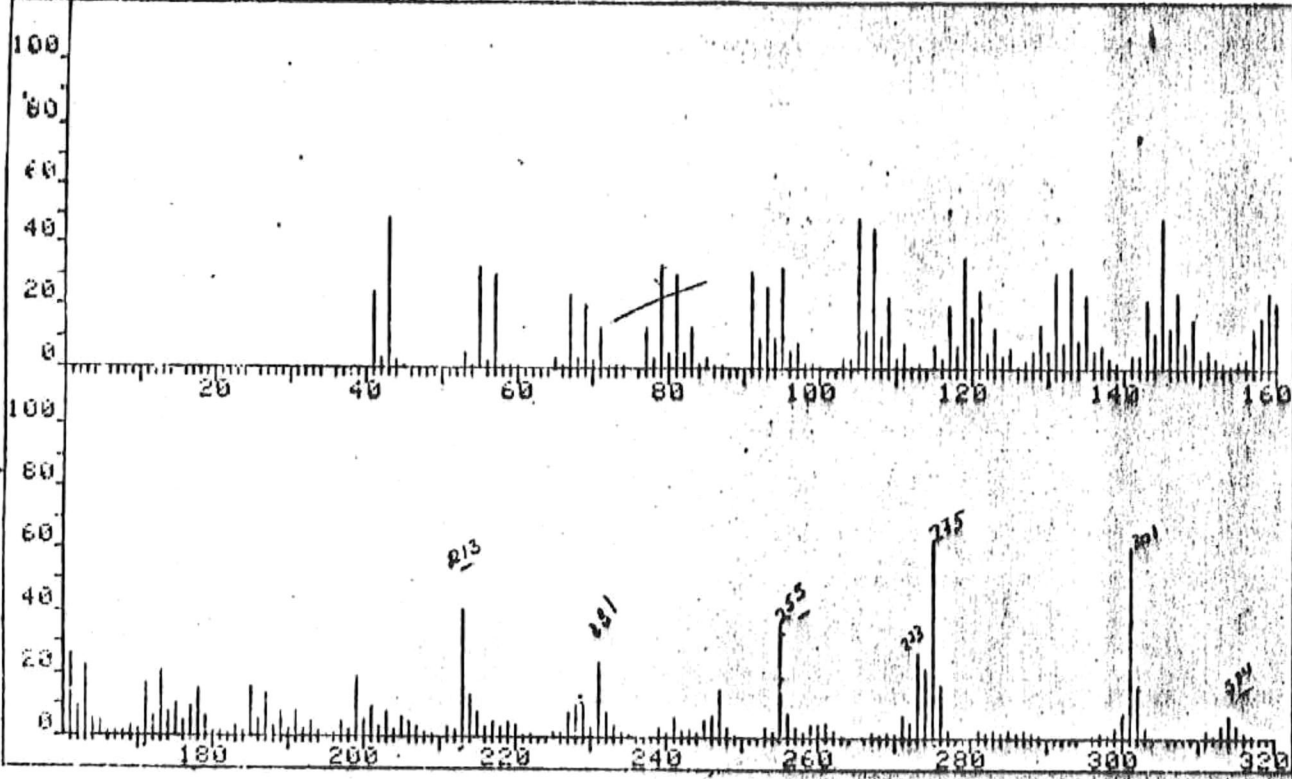
DECOUPLER MODE (DM)         
 DECOUPLER OFFSET (DO)         
 NOISE BANDWIDTH (NB)         
 ACQUISITION MODE (AM)       

DISPLAY  
 SENS. ENHANCEMENT (SE)         
 WIDTH OF PLOT (WP)         
 END OF PLOT (EP)         
 WIDTH OF CHART (WC)         
 END OF CHART (EC)         
 VERTICAL SCALE (VS)         
 REFERENCE LINE (RL)       

ESPECTRO-2

XXXXIII colata 5 en 3 p of colesterol

FRN 5009	SPECTRUM 30		RETENTION TIME 1.3	
LARGST 4:	386.4, 100.0	276.3, 63.4	301.3, 60.0	43.2, 48.4
LAST 4:	412.4, 1.0	413.4, .6	414.4, 1.6	446.2, 1.1
				PAGE 1 Y = 1.00

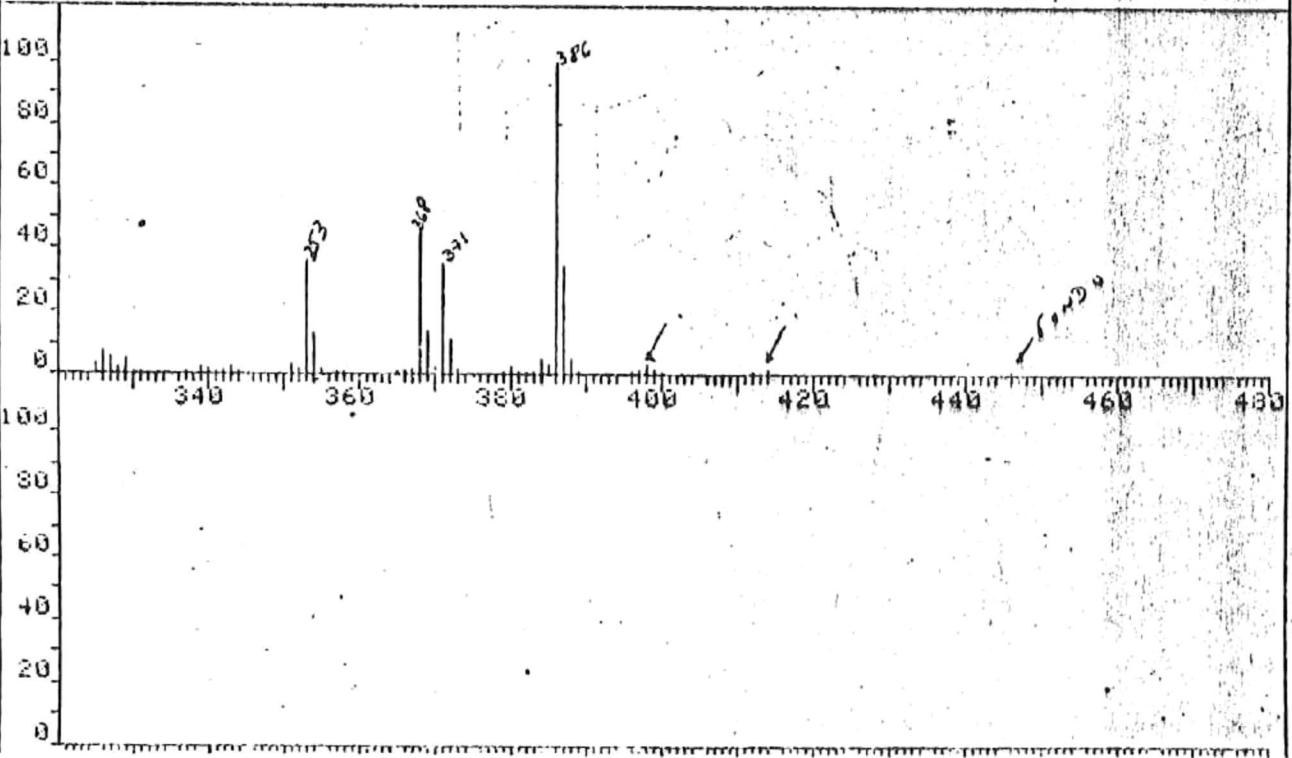


ESPECTRO 3

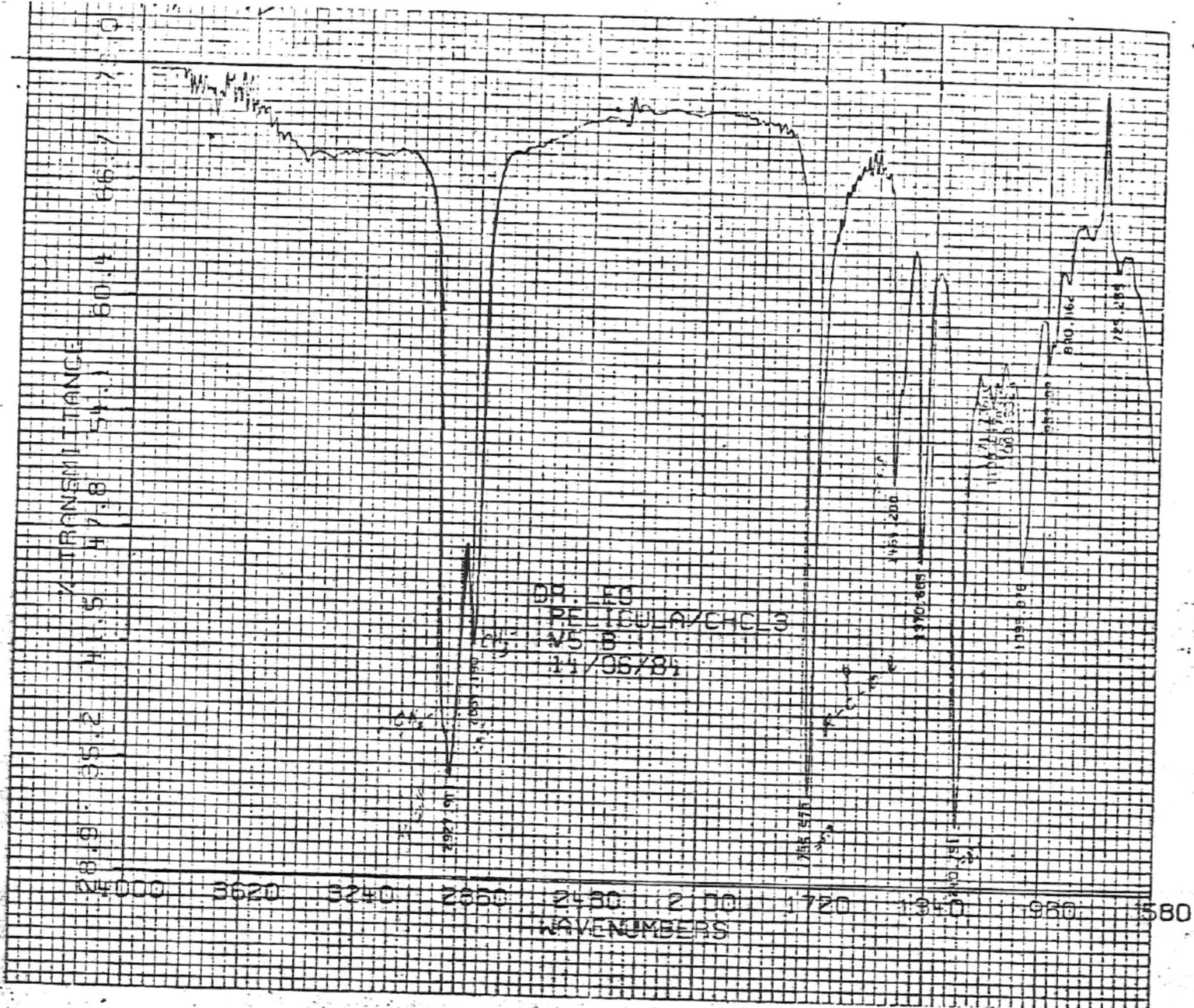
Dr. T. Rios PICI Pt. 42.5°C (M) = 40-21

XXXIII colestá 5 en 3 $\beta$  ol colestero

FRN 5009	SPECTRUM 30		RETENTION TIME 1.3	
LARGST 4:	386.4, 100.0	275.3, 63.4	301.3, 60.8	43.2, 48.4
LAST 4:	412.4, 1.0	413.4, .6	414.4, 1.6	446.2, 1.1
				PAGE 2 Y = 1.00



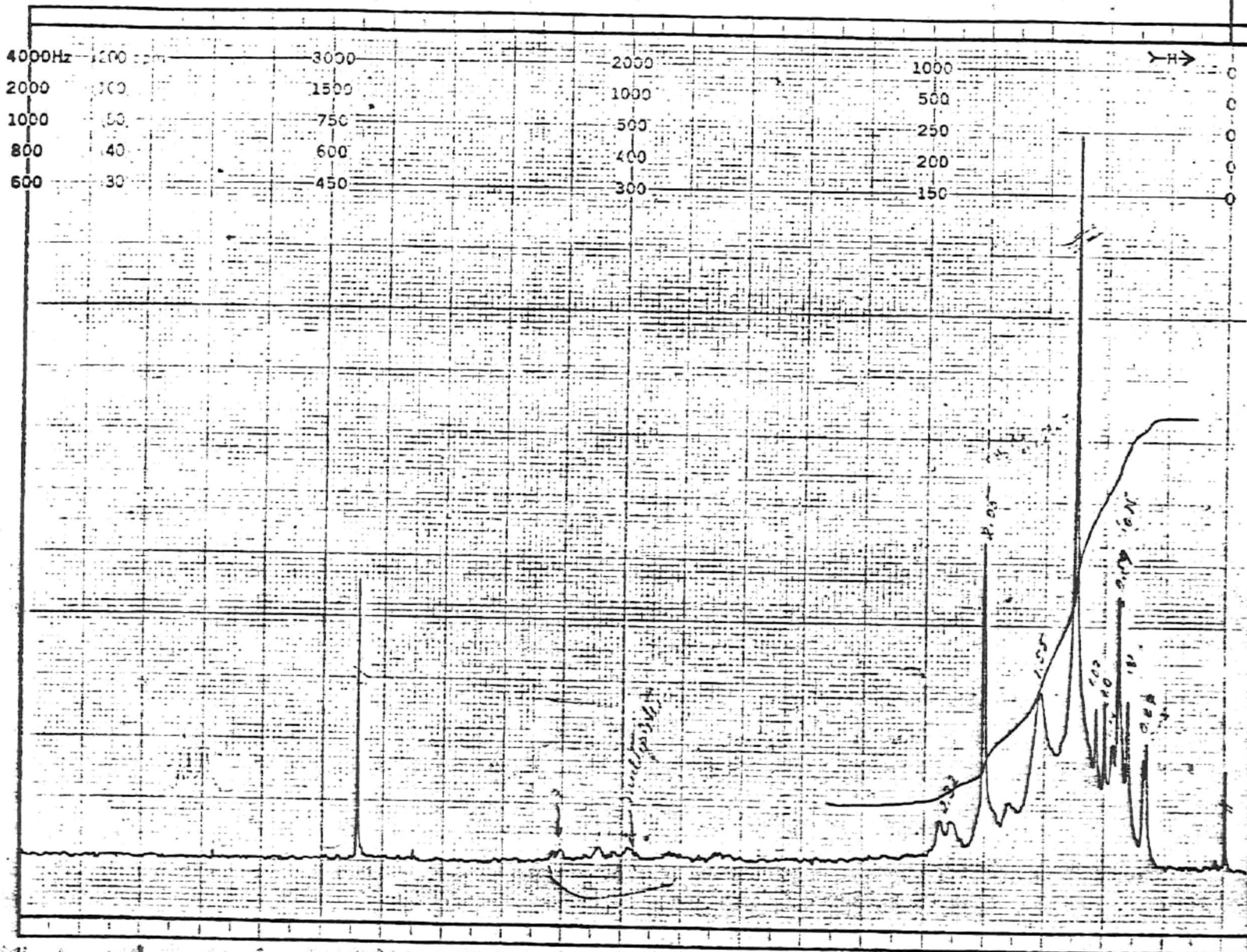
ESPECTRO 4



122  
15

LXVIII colecția 4, 22 din. 3 $\beta$  acetato

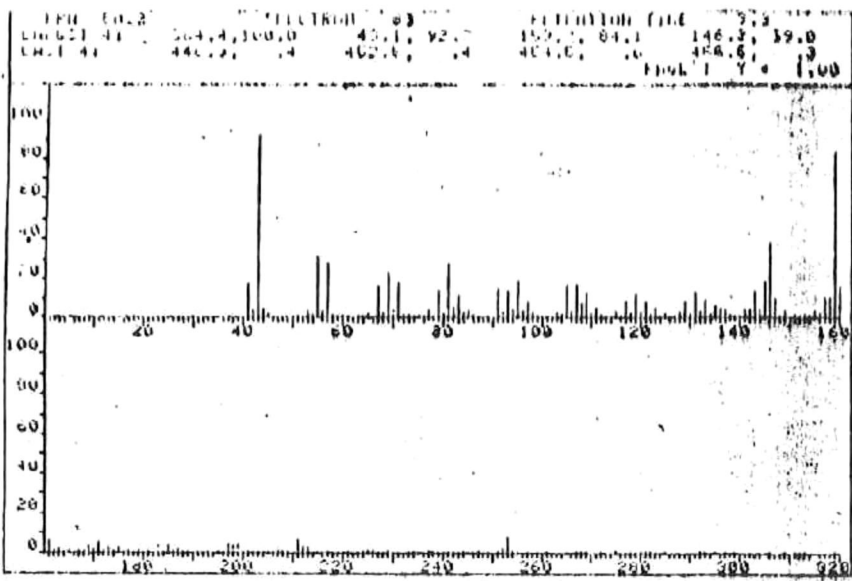
ESPECTRO 5



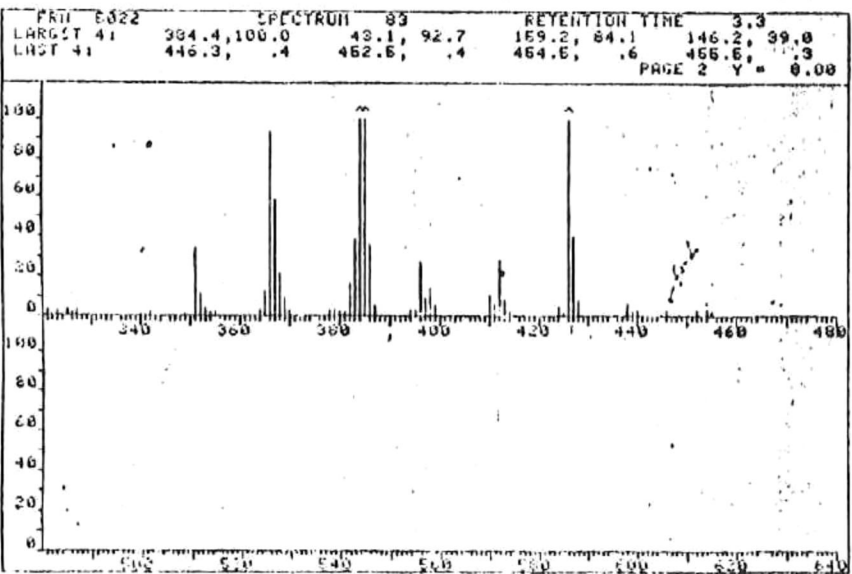
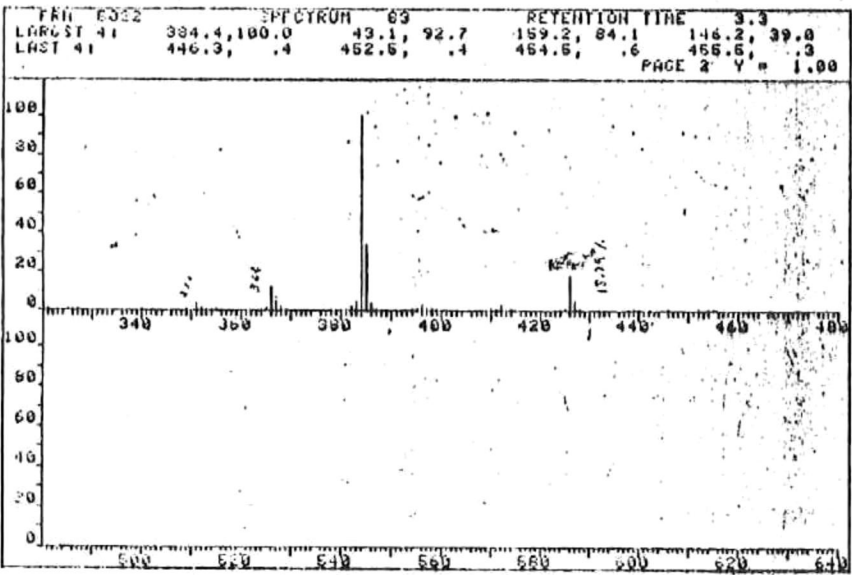
FT-80A SPECTRUM NO. 1200  
 OPERATOR SC DATE ...  
 NUCLEUS \_\_\_\_\_ FREQUENCY \_\_\_\_\_  
 SYNTHESIZER SETTING \_\_\_\_\_  
 EXPERIMENT NAME \_\_\_\_\_  
 FILE NAME \_\_\_\_\_  
 SAMPLE Leucidine  
 V 5b  
 LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL CD  
 SPIN RATE \_\_\_\_\_ TEMP. °C \_\_\_\_\_  
 INSERT \_\_\_\_\_ mm \_\_\_\_\_  
 ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) 1502 Hz  
 NO. OF TRANSIENTS (NT) 50  
 ACQUISITION TIME (AT) \_\_\_\_\_ sec  
 PULSE WIDTH (PW) \_\_\_\_\_ sec  
 PULSE DELAY (PD) \_\_\_\_\_ sec  
 DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_  
 TRANSMITTER OFFSET (TO) \_\_\_\_\_  
 HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_  
 RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_  
 NOISE BANDWIDTH (NB) \_\_\_\_\_ kHz  
 ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_  
 DISPLAY  
 SENS. ENHANCEMENT (SE) \_\_\_\_\_  
 WIDTH OF PLOT (WP) \_\_\_\_\_ Hz  
 END OF PLOT (EP) \_\_\_\_\_ Hz  
 WIDTH OF CHART (WC) 500 Hz  
 END OF CHART (EC) \_\_\_\_\_ Hz  
 VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_  
 REFERENCE LINE (RL) THS

mona campo display  
 nucleo de pirimidina

LX UM Colest 4,22 dien 3p acetato

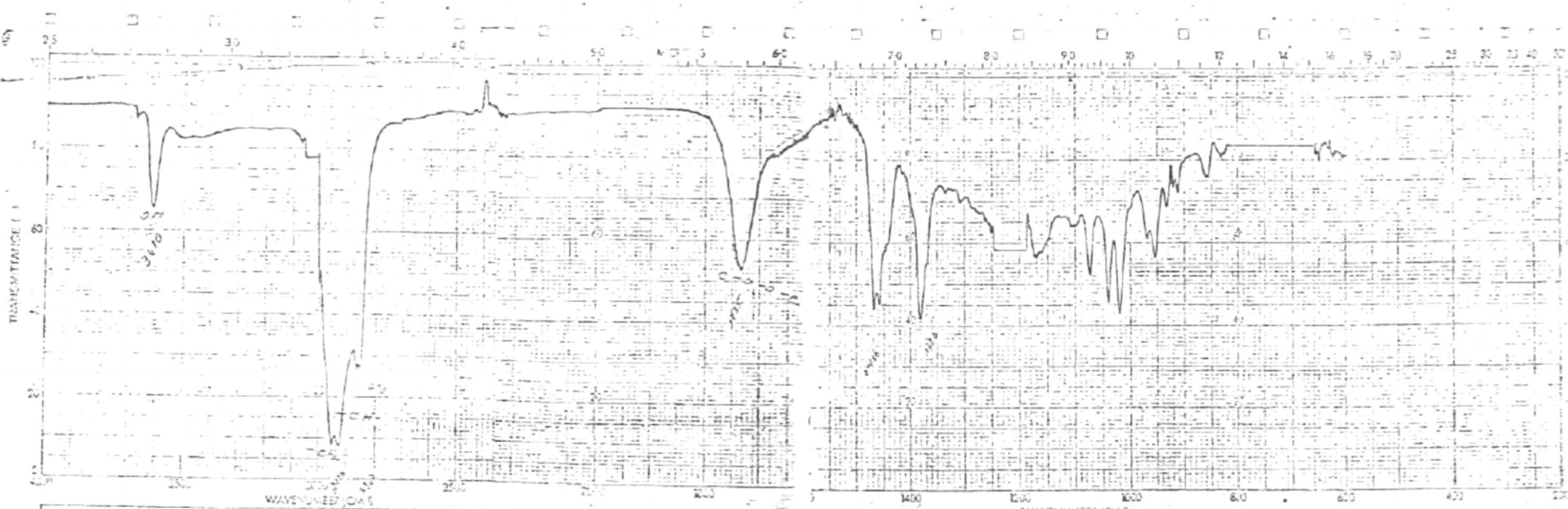


ESPECTRO 6



Lxvml coltest 4, 23, dien 3A acetato

D. Loo VS-6 Pm 454



SAMPLE F051 58546  
 CRIGN Dr T. L. G.

SOLVENT \_\_\_\_\_  
 CONCENTRATION 100%  
 CELL PATH NaCl  
 REFERENCE CaCl₂

REMARKS

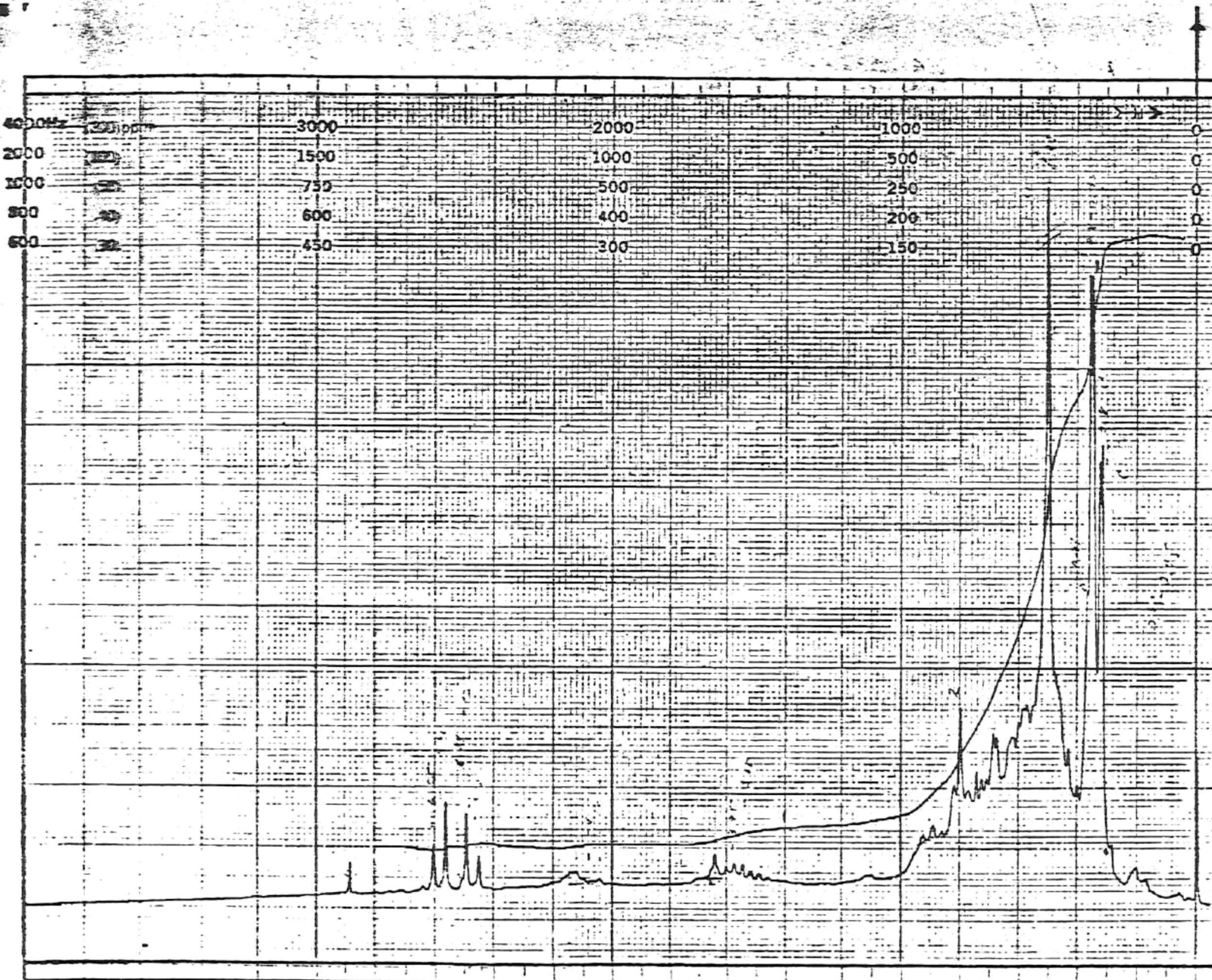
SCAN MODE \_\_\_\_\_ OPERATOR EV  
 SUT. & TIME CONSTANT \_\_\_\_\_ DATE 4-20-68  
 PRINTED BY W. G. G. REF. NO. 2152  
 PART NO. 5100-437

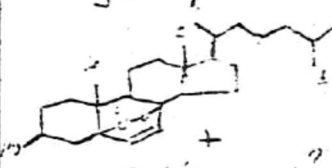
ESPECTRO 7

LXIX celestia-6-en-5di, 8a epideri 3B

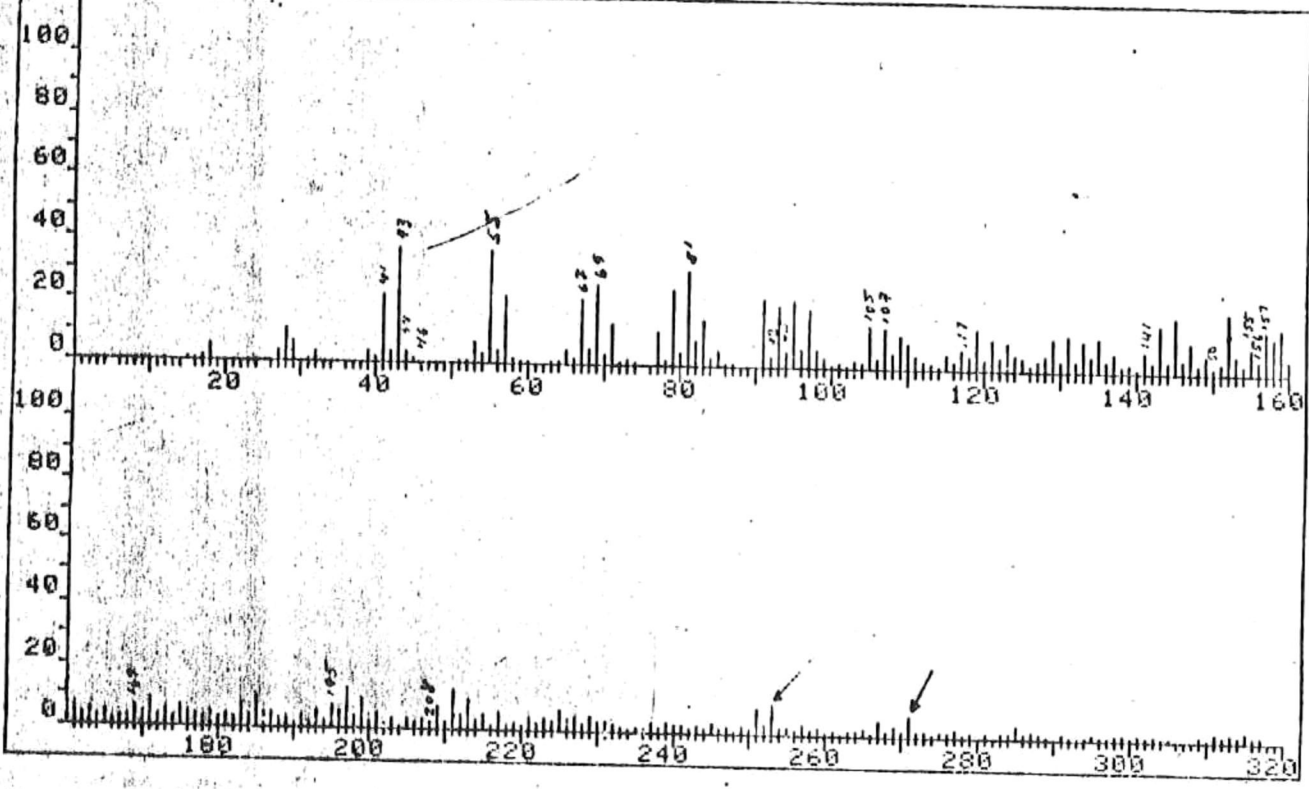
LXIX colest-6-en-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$  epidioxi 3 $\beta$ ol

ESPECTRO 8



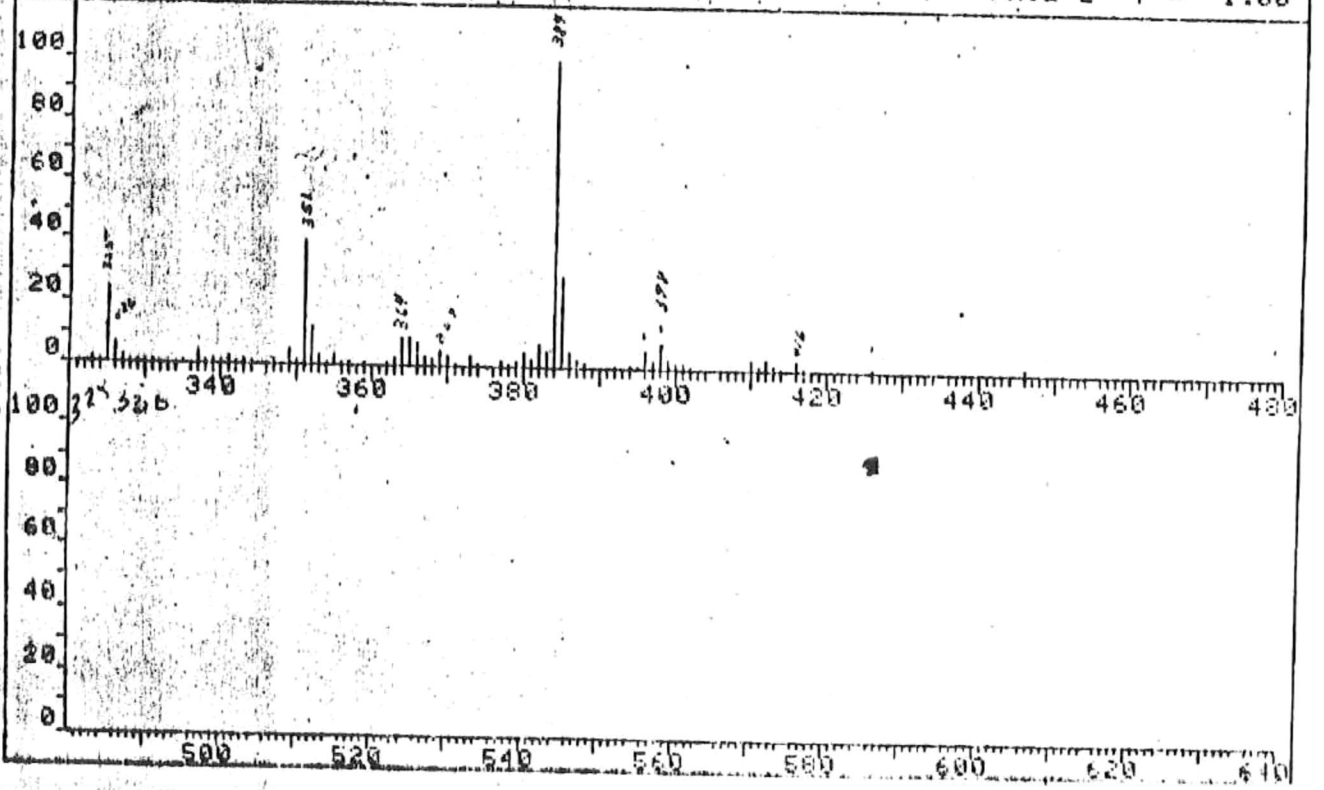
FT-80A SPECTRUM NO. 3098  
 OPERATOR \_\_\_\_\_ DATE 7/2/66  
 NUCLEUS \_\_\_\_\_ FREQUENCY \_\_\_\_\_  
 SYNTHESIZER SETTINGS \_\_\_\_\_  
 EXPERIMENT NAME \_\_\_\_\_  
 FILE NAME \_\_\_\_\_  
 SAMPLE T. Rio  
FOG 53/566  
  
 LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL \_\_\_\_\_  
 SPIN RATE \_\_\_\_\_ rps. TEMP \_\_\_\_\_ °C  
 INSERT \_\_\_\_\_ mm  
 ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) \_\_\_\_\_  
 NO. OF TRANSIENTS (NT) \_\_\_\_\_  
 ACQUISITION TIME (AT) \_\_\_\_\_ s  
 PULSE WIDTH (PW) \_\_\_\_\_ μs  
 PULSE DELAY (PD) \_\_\_\_\_ μs  
 DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_  
 TRANSMITTER OFFSET (TO) \_\_\_\_\_  
 HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_  
 RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_  
 NOISE BANDWIDTH (NB) \_\_\_\_\_  
 ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_  
 DISPLAY  
 SENS. ENHANCEMENT (SE) \_\_\_\_\_  
 WIDTH OF PLOT (WP) \_\_\_\_\_  
 END OF PLOT (EP) \_\_\_\_\_  
 WIDTH OF CHART (WC) \_\_\_\_\_  
 END OF CHART (EC) \_\_\_\_\_  
 VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_  
 REFERENCE LINE (RL) \_\_\_\_\_

FRN 5228 SPECTRUM 90 RETENTION TIME 3.8  
 LARGST 4: 384.6, 100.0 351.5, 39.8 43.1, 36.9 55.1, 36.5  
 LAST 4: 416.6, 2.9 417.6, 1.0 426.6, .6 446.5, 1.4  
 PAGE 1 Y = 1.00



ESPECTRO 9

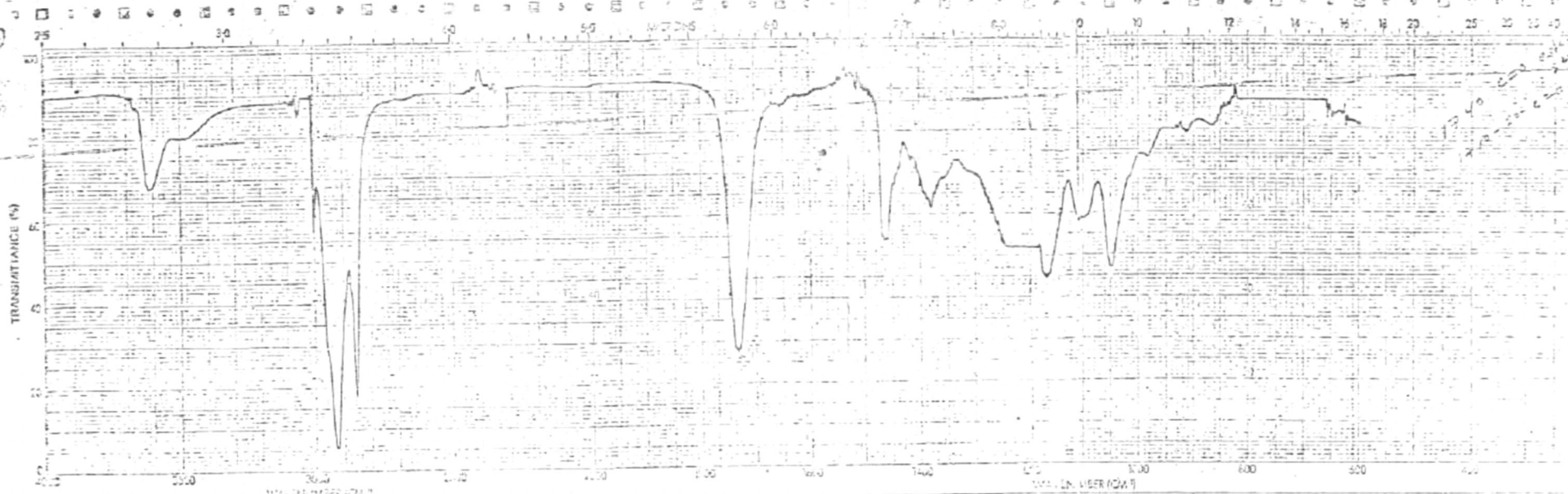
FRN 5228 SPECTRUM 90 RETENTION TIME 3.8  
 LARGST 4: 384.6, 100.0 351.5, 39.8 43.1, 36.9 55.1, 36.5  
 LAST 4: 416.6, 2.9 417.6, 1.0 426.6, .6 446.5, 1.4  
 PAGE 2 Y = 1.00



FOGA

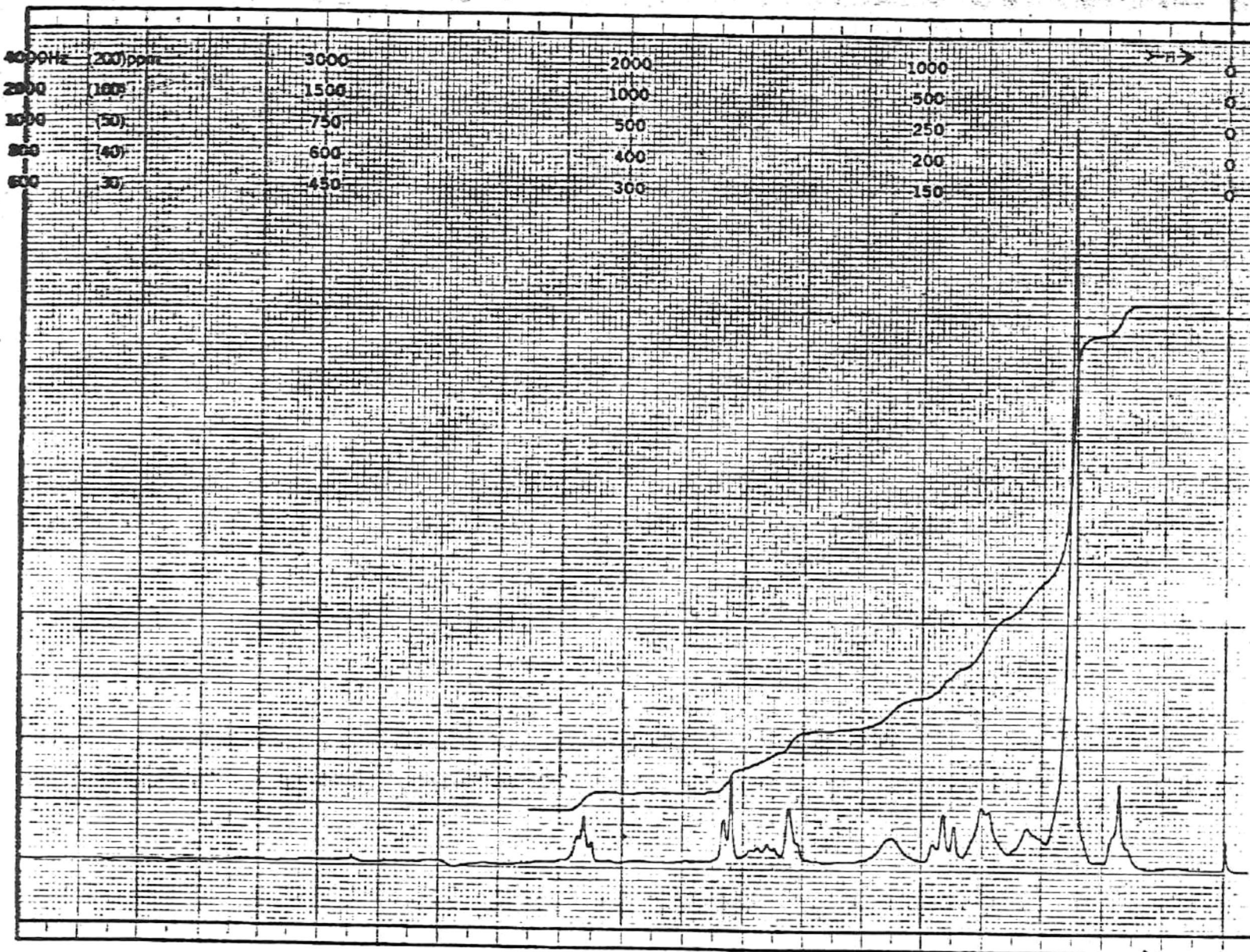
LXIX colesha - 6-en-5H. 8x eaidior 3 Bol.

M 7 1103 5828 A1



SAMPLE <b>FOGATC77</b>	SOLVENT <i>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></i>	REMARKS	SCAN MODE	OPERATOR <i>SL</i>
OPERATOR <i>SL</i>	CONCENTRATION <i>100</i>		SUI TIME CONSTANT	DATE <i>10/10/84</i>
	WAVELENGTH (CM) <i>2.5</i>		WAVELENGTH (CM)	REF No <i>2151</i>

*2º y 3º series de la Cromatografía 3  
 (parte II de 2º y 3º)*



FT-80A SPECTRUM NO. 3528

OPERATOR ci DATE ...

NUCLEUS H FREQUENCY ...

SYNTHESIZER SETTING ...

EXPERIMENT NAME ...

FILE NAME ...

SAMPLE Ters. Ries

*Diglicéridos?*

*...*

*FOGA 95/99*

LOCK  INTERNAL  EXTERNAL

LOCK SIGNAL ...

SPIN RATE ... rps. TEMP ... °C

INSERT ... mm

ACQUISITION

SPECTRAL WIDTH (SW) ...

NO. OF TRANSIENTS (NT) ...

ACQUISITION TIME (AT) ... s

PULSE WIDTH (PW) ... s

PULSE DELAY (PD) ... s

DATA POINTS (DP) ...

TRANSMITTER OFFSET (TO) ...

HIGH FIELD ... LOW FIELD ...

RECEIVER GAIN (RG) ...

DECOUPLER MODE (DM) ...

DECOUPLER OFFSET (DO) ...

NOISE BANDWIDTH (NB) ...

ACQUISITION MODE (AM) ...

DISPLAY

SENS. ENHANCEMENT (SE) ...

WIDTH OF PLOT (WP) ...

END OF PLOT (EP) ...

WIDTH OF CHART (WC) ...

END OF CHART (EC) ...

VERTICAL SCALE (VS) ...

REFERENCE LINE (RL) ...

*Diglicéridos de la Cromatografía 3  
(sds IR y RMN)*

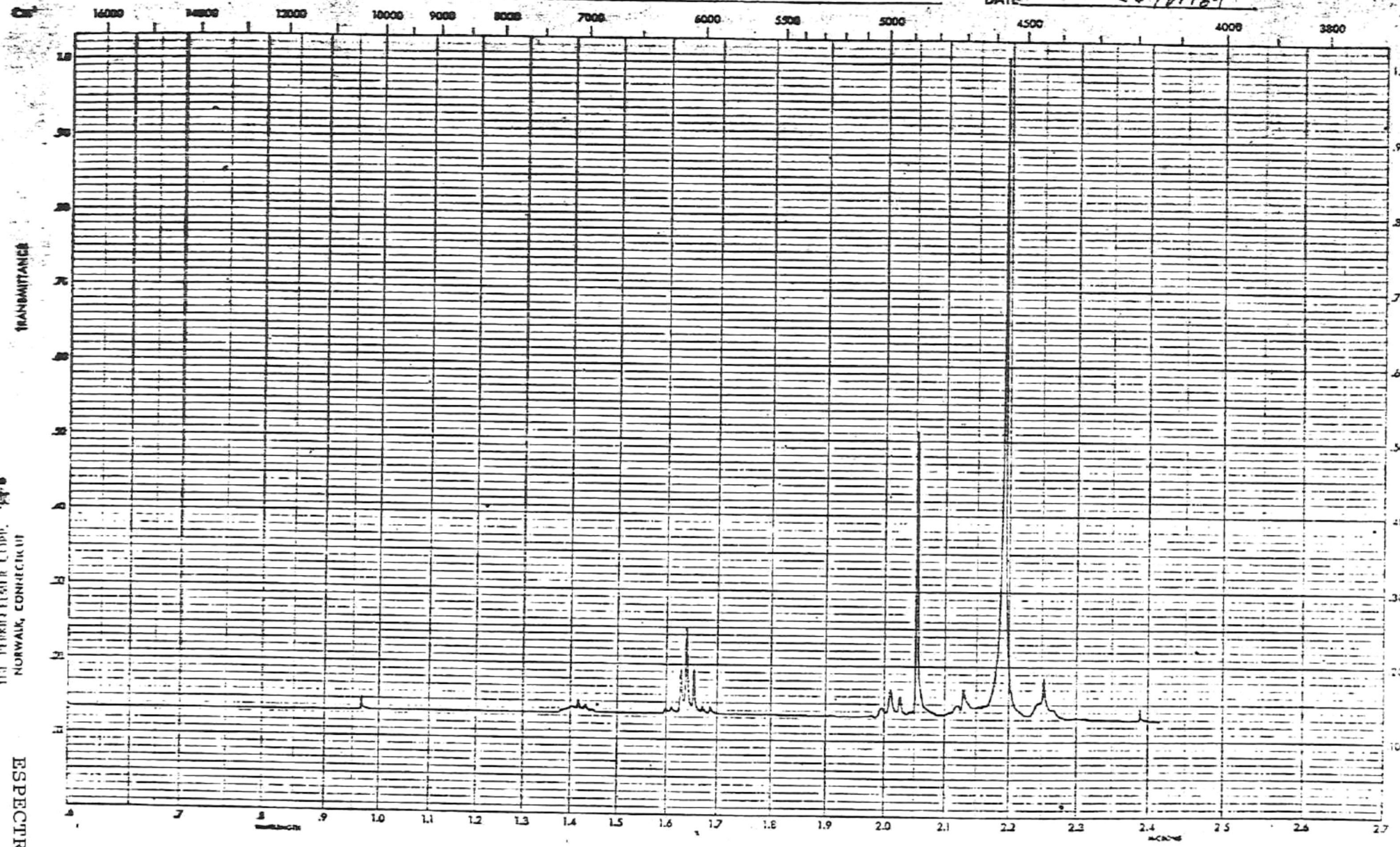
SAMPLE                       
ORIGIN Levigil de  
SOLVENT CHCl<sub>3</sub>  
CONC                     

CELL PATH                       
REFERENCE TMS  
OPERATOR JL  
REMARKS                     

SLIT WIDTH                       
RESOLUTION                       
SCAN SPEED                     

CURVE NO. 44141  
ORD. EXP.                       
PEN RESPONSE                       
DATE 26/VI/84

NIR  
30-1002



TRANSMITTANCE

ESPECTRO 12

Dióxidos de la Cromatografía 4  
(sols. KAN y Masas)



#### ANEXO IV

Resultados de la identificación de ácidos grasos, provenientes del análisis de sus correspondientes ésteres metílicos en el cromatógrafo de gases.

E X T R A C T O S

Gónada B		Espinás	
Acido graso	%	Acido graso	%
Mirístico	22.82	Palmítico	18.10
Palmítico	18.25	Mirístico	16.83
Linolénico	13.98	P	14.04
Palmitoléico	10.49	Linolénico	13.16
A	10.20	Palmitoléico	7.52
Oléico	7.88	Oléico	6.60
Behénico	3.17	Araquidónico	4.95
B	2.58	Behénico	4.77
C	2.58	Q	3.55
Linoléico	2.07	Esteárico	3.37
Esteárico	1.93	R	3.08
Araquidónico	1.84	Linoléico	1.59
D	0.61	Láurico	1.07
Araquídico	0.54	S	0.70
E	0.37	Araquídico	0.31
Láurico	0.26	T	0.15
F	0.21	U	0.12
G	0.12	V	0.09
H	0.06		
J	0.03		

A, B, C, D, E, F, G, H, J, P, Q, R, S, T, U y V son ácidos - que no fueron identificados y continúan en estudio.

ANEXO V

Descripción general y algunos aspectos del erizo de mar  
*Strongylocentrotus franciscanus*.

Backer, 1973; describe la biología general del *Strongylocentrotus franciscanus*, motivo del presente estudio.

*S. franciscanus* es rojo, con espinas primarias mucho mayores que las secundarias; es el más grande de los equinoideos con diámetro de testa mayor de 10cm., aunque se han reportado tamaños mayores de 17cm. en el límite norte de su distribución.

Su conducta de alimentación se efectúa usando las espinas, pies y linterna de Aristóteles simultáneamente; la importancia relativa de estas porciones varía con el tipo de alimentación; en áreas donde hay pequeñas cantidades de algas macroscópicas o algas flotantes, se alimentan casi exclusivamente por pastoreo, una vez que las algas han sido capturadas por un erizo, otros parecen detectarlas aparentemente por quimiorrecepción, se acercan y comen (Arce, F. A., et al 1982).

La limpieza del caparazón constituye para todos otra fuente de alimento.

Las pinzas o tenazas de los pedicelarios se mueven constantemente, recogiendo los granos de arena caídos sobre la piel que recubre se caparazón, así como cualquier animal pequeño que ahí pueda posarse, como larvas de lapas, percebes y otros diminutos crustáceos que son luego llevados a la boca.

El movimiento de *S. franciscanus* es inversamente proporcional a la disponibilidad de alimento, siendo hasta de 10m/día en un área de alimento limitado (Vacquier, 1956, de Backer, S., 1973).

Uno de los alimentos preferidos del *Strongylocentrotus franciscanus* son las algas del género *Macrocystis* sp, además de lamelibranquios, gasterópodos y crustáceos.

Los organismos de esta especie son dioicos de tipo regular. Machos y hembras expulsan respectivamente sus espermatozoides y óvulos en el agua donde se verifica la fecunda-

ción que da lugar a una larva conocida como Equinopluteo, -- que es semejante a la de los demás equinodermos, presentando unos finos brazos cubiertos de bandas ciliadas. Antes de posarse en el fondo marino posee ya boca, rodeada de unos cuantos tentáculos tubulados y espinas, mientras que los brazos o extremidades son más cortos. Cuando estos miembros son de masiado cortos para nadar, el diminuto erizo de mar, apenas semiformado, se fija en el fondo marino.

Los erizos poseen conco gónadas suspendidas a lo largo de los interbulacros sobre la parte interna del caparazón -- (Ver figura 1). Cada gónada está cubierta por su lado externo de peritoneo celómico y revestida en su interior de epitelio. Entre estas dos capas destaca la presencia de células musculares. De cada gónada parte un gonoducto corto que se extiende aboralmente para abrirse por un gonoporo localizado sobre una de las cinco placas genitales (Ver figura 2).

Los estudios experimentales realizados en huevos de erizo de mar, se han utilizado para la citología, la fisiología y la bioquímica y han servido para dar solución a muchos problemas de biología experimental. Los óvulos de erizo de mar dada su forma esférica, de unas 100 $\mu$  de diámetro, hacen posilble observar cualquier cambio que se opere en la célula, además de resistir cambios no bruscos en el agua de mar, como - puede ser la introducción de sales, anestésicos u otras sustancias químicas, cambios de temperatura, luz, presión y otros factores químicos (Caso, M. E., 1984).

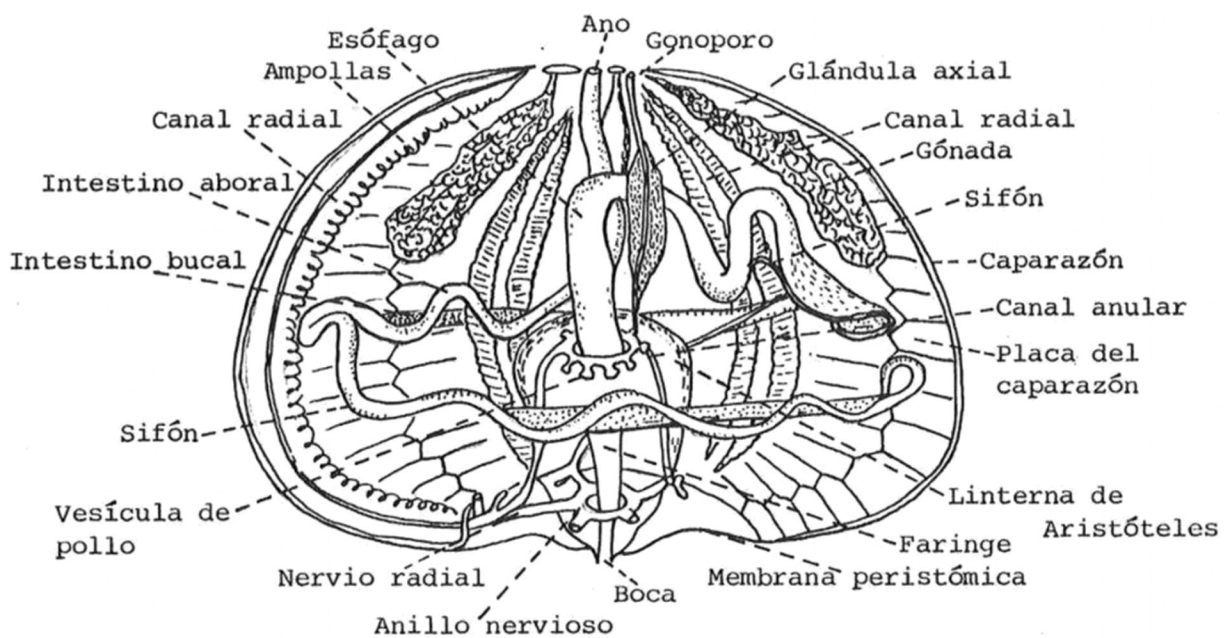


Figura 1. Estructura interna del erizo.

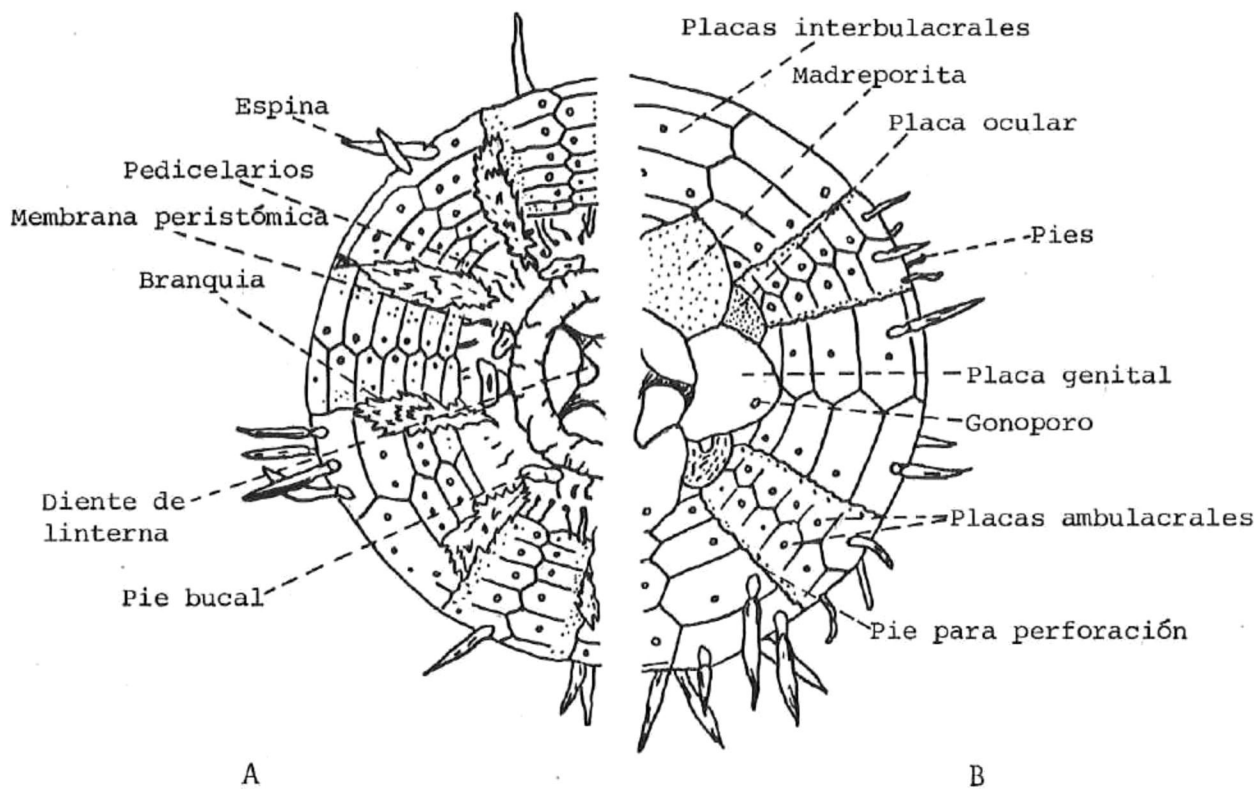


Figura 2. Vista bucal (A) y vista aboral (B) del erizo donde puede apreciarse el gonoporo localizado en la placa genital.

## BIBLIOGRAFIA

- ACOSTA R., F., 1977. Estudio químico de las esponjas *Hali-  
clona rubens* e *Incinia campana*. Tesis Profesional de -  
Químico, Universidad Nacional Autónoma de México, Méxi-  
co.
- ARCE D., F. A.; S. Franco A. y J. L. Peña M., 1982. Reporte  
final de Química de Productos Naturales Marinos. Escue-  
la Superior de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma -  
de Baja California.
- BACKER, S., 1973. Growth of red sea urchin *Strongylocentro-  
tus franciscanus* (Agassiz) in two natural habitats. - -  
Thesis (MS). Cal. U.S.A.
- BERNFELD, P., ED., 1963. Biogenesis of Natural Compounds. -  
Pergamon Press LTD, Oxford. 930pp.
- BOTTICELLI, C. R., F. L. Hisaw, Jr. y H. H. Wotiz, 1961. - -  
Proc. Soc. Expl. Biol. Med. 106, 887-9. -----(22)
- CARDENAL, L., 1960. Diccionario Terminológico de Ciencias -  
Médicas. Salvat Editores, S. A., 7a. ed., Barcelona.
- CASO M., M. E., 1984. Los equinodermos: importancia cientí-  
fica y alimentaria. Gaceta U.N.A.M., agosto/23, p12-13.
- CLARK, H. L., 1948. A report on the Echini of the warmer --  
Eastern Pacific, based on the collections of the Velero  
III. Allan Hancock Pa. Exp., 8(5): 225-351.
- DE NICOLA, M. y A. Monroy-Oddo, 1952. Chem. Abs. 46, - -  
11466c -----(37)
- Dictionary of Organic Compounds. 1965. Vol. I-V-Formula - -  
Index and Cumulative Supplements. Eyre and Spottiswood  
Publishers LTD. E. and F. N. Spon. London.
- DUQUE, C., A. Bernal, R. De Correa, M. Morisaki y N. Ikekawa  
1983. Chem. Abs. 99, 119558x -----(31)
- FATTORUSSO, E., 1974. Sterol peroxides from the sponge *Axi-  
nella cannabina*. Gazzata Chimica Italiana. 104, 409-13.
- GARDNER, W. y E. I. Cooke, 1971. Chemical Synonyms and Tra-

- de Names. The Technical Press LTD, 7th. ed., London.
- HEILBRON, I. y A. H. Cook, ED., 1953. Dictionary of Organic Compounds. Vol. I-IV. Oxford University Press, New - - York.
- HOLLEMAN, A. F. y F. Richter, 1942. Tratado de Química Orgánica. Ed. Manuel Marín, 4a. ed., p206, 708pp. Barcelona.
- KARRER, P. y Jucker, 1950. Carotenoids. Elsevier Publishing Co., Inc. New York, p3-9.
- KIRK, R. E. y D. F. Othmer, 1962. Enciclopedia de Terminología Química. Vol. I-XVI. Unión Topográfica Editorial - Hispano Americana, 1a. ed., México. -----(2)
- KLYNE, W., 1970. Química de los Esteroles. Cía. Editorial Continental, S. A., 1a. ed., Barcelona, p67-149, 287pp.
- KOCHETKOV, N. K., I. G. Zhukova y G. P. Smirnova, 1968. Chem. Abs. 69, 49252x -----(23)
- KURODA, Ch. y M. Okajima, 1942. Chem. Abs. 47, 6386h -----(27)
- KURODA, Ch. y M. Okajima, 1954. Chem. Abs. 47, 4492c -----(33)
- KURODA, Ch. y M. Okajima, 1955. Chem. Abs. 49, 12425e -----(40)
- KURODA, Ch., 1958. Chem. Abs. 52, 14692d -----(24)
- KURODA, Ch., 1958. Chem. Abs. 52, P14692d -----(38)
- KURODA, Ch., 1958. Chem. Abs. 52, 14692e -----(30)
- KURODA, Ch., 1958. Chem. Abs. 52, 14692g -----(25)
- KURODA, Ch., 1958. Chem. Abs. 52, 14692h -----(26)
- KURODA, Ch. y M. Okajima, 1963. Chem. Abs. 58, 9446g -----(34)
- MILLOT, N., 1957. Chem. Abs. 51, 6019h -----(29)
- MIYAUCHI, T. y M. Okajima, 1971. Chem. Abs. 75, 1831g -----(35)
- MOORE, R. E., H. Singh y P. J. Scheuer, 1968. Chem. Abs. - 69, 106426h -----(32)

- RADT, F., ED., 1940-1953. Elsevier's, Encyclopaedia of Organic Chemistry. Series III. Carboisocyclic Condensed - Compounds. Vol. 12B, Naphtalene, quinones, etc.. Vol. 14, Tetracyclic and Higher Cyclic Compounds. Elsevier Publishing Co., Inc. New York. -----(4)
- RALSTON, A. W., 1948. Fatty Acids and their derivates. John Wiley and Sons, Inc., New York, Chapman and Hall, LTD, 986pp. London.
- RICKETS, F. E. y J. Calvin, 1968. Between Pacific Tides. -- Stanford University Press, 4th. ed., Cal. U.S.A.
- RUIZ R, A., 1976. Química de los Equinodermos. Tesis Profesional de Químico, Universidad Nacional Autónoma de México. México. -----(7)
- SADTLER. The Sadtler Standard Spectra,  
IR Spectra (Prisma), No. 723  
MNR Spectra, No. 11902.
- SALVAT, ED., 1972. Enciclopedia de la Vida Animal. Vol III México.
- SANDOVAL L., A., 1963. Un aparato para la extracción continua de líquidos. Bol. Inst. de Quím. 15, 23-25.
- SCHEUER, P. J., ED., 1978. Marine Natural Products. Chemical and Biological Perspectives. Vol. I, II, III, IV. - Academic Press. New York. -----(16)
- SCHEUER, P. J., ED., 1981. Marine Natural Products. Chemical and Biological Perspectives. Vol. IV p147-186. Academic Press. New York.
- SEGATORE, L. y G. Poli, 1975. Diccionario Médico. Ed. Teide 5a. ed., Barcelona.
- SHEIK, Y. M. y C. Djerassi, 1974. Steroides from sponges. Tetrahedron 30, 4095-4103.
- SINGH, H., R. E. Moore y P. J. Scheuer, 1967. Chem. Abs. 67 106292v -----(36)
- THOMSON, R. H., 1971. Naturally occurring quinones. Academic Press, 2nd. ed., 734pp. London. -----(18)

- THOMSON, R. H. y J. W. Mathieson, 1971. Chem. Abs. 74, -  
50948 p -----(39)
- TSUYUKI, H. y A. Mochizuki, 1967. Chem. Abs. 66,  
114712b -----(28)
- TURSCH, B., H. Barreto y N. Sharapin, 1963. Bull. Soc. Chim.  
Belges 72(11-12), 807-8.