



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales  
IZTACALA - U. N. A. M.  
CARRERA DE BIOLOGIA

"AISLAMIENTO Y ELUCIDACION TOTAL DEL  
PRINCIPIO ANTIMICROBIANO EXTRAIDO  
DEL MOLUSCO Littorina aspera."

T E S I S

Que Para obtener el Título de:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

DARIO RUBEN OSNAYA MENDOZA

MEXICO, D. F.

1986.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria para las Ciencias de la Salud y Educación (UIICSE) de la E.N.E.P. Iztacala, UNAM. Bajo la Dirección del QFI. Rosa Martha Pérez Gutiérrez.

Con mi más profundo agradecimiento  
a mi director de Tesis QFI. Rosa Martha  
Pérez Gutiérrez, quién me ayudó a dar un  
paso más en mi Carrera.

Con mi más sincero agradecimiento a los integrantes del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, de la UIICSE, en la E.N.E.P. Iztacala y en especial a los Biólogos: Cárdenas Quintanilla Ma. de Jesús, Hernández Delgado Tzasná y Germán Yescas L.

Con mi más sincero agradecimiento a  
mis Padres Vicente y Cármen , quienes  
me brindaron su apoyo a lo largo de mi  
Carrera.

En agradecimiento a mis  
Abuelos

A la mujer que más admiro  
mi Madre.

A mis Hermanos.

RESUMEN

INTRODUCCION

MATERIAL Y METODO

RESULTADOS

DISCUSION

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA



## RESUMEN :

Se realizó el estudio del aislamiento y purificación del principio antimicrobiano extraído del molusco Littorina aspera.

Para desarrollar este estudio se tomaron cuatro muestras de 30 gr del molusco Littorina aspera, previamente extraído de su concha, cada muestra se mantuvo a reflujo durante 12 hrs con un disolvente distinto : hexano, cloroformo, acetato de etilo y etanol.

De los extractos así obtenidos se les determinó en el Laboratorio de Microbiología la actividad antimicrobiana " in vitro " sobre los siguientes microorganismos patógenos : Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mycrosporium canis y Pseudomonas aeruginosa.

De acuerdo al reporte Microbiológico, el extracto que provocó inhibición al crecimiento de Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Mycrosporium canis, fue el obtenido en acetato de etilo, mismo que se empleó para reflujo un kilogramo del molusco Littorina aspera, durante 48 hrs y mediante tratamiento químico se obtuvo un compuesto blanco amorfo que presentó un punto de fusión de 80-82°C, en un rendimiento de 10 mg lo que equivale a 0.001 % del total.

Mediante espectroscopía infrarroja y espectros de masas se observó que el compuesto pertenece al tipo de los heterocíclicos y comparable al macrólido de la Metimicina.

Debido al bajo rendimiento fue imposible continuar su estudio como fármaco de origen natural.

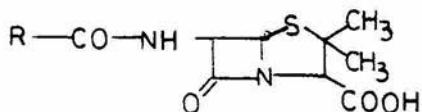
## I N T R O D U C C I O N :

Muchos de los antimicrobianos utilizados hoy en día se descubrieron hace veinte, treinta o cuarenta años, desde que se realizaron estos descubrimientos se han sometido a pruebas antimicrobianas cientos de miles de productos naturales y sintéticos , de los cuales miles de ellos inhiben el crecimiento de los microorganismos, algo así como un 5% se han utilizado en clínica humana y menos del 1% podrían considerarse adecuados para uso general, entre la gran variedad de estos productos existen muchos que presentan estructuras químicas idénticas, las cuales nos conducen a la determinación de su mecanismo de acción para cada uno de ellos. De acuerdo a estos criterios es posible efectuar una clasificación de los antibióticos y antifúngicos.(16)

## CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS Y ANTIFUNGICOS DE ACUERDO A SU ESTRUCTURA QUIMICA (16) :

BETALACTAMINAS: Las Betalactaminas se denominan así porque su molécula posee un ciclo B-Lactámico. Estas incluyen a las ;

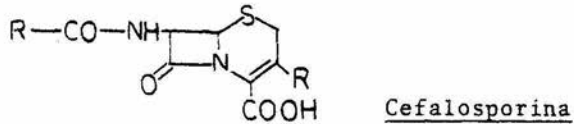
PENICILINAS:Las cuales poseen en común un núcleo (El ácido 6-amino penicilánico) formado por la unión de dos ciclos ; un ciclo Beta-lactámico y un ciclo Tiazolidina, las distintas penicilinas(Penicilina G , Meticilina y Ampicilina, siendo esta última una penicilina de amplio espectro), difieren entre sí por el radical R. Su toxicidad al organismo es nula.



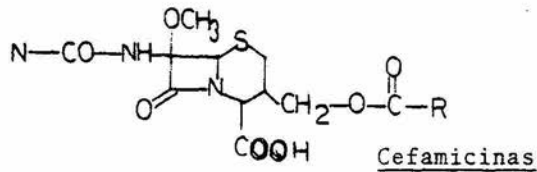
Penicilina

CEFALOSPORINAS:Los productos de este grupo utilizados en terapéutica son derivados semisintéticos (en este caso, también por sustitución de las cadenas laterales) de la Cefalosporina C, antibiótico natural producido por el hongo Cephalosporium acremonium, y cuya estructura química es próxima a las penicilinas.

Las Cefalosporinas poseen un núcleo común (El ácido 7-aminocefalosporánico), constituido por un ciclo Betalactámico asociado a un ciclo dehidrotiazina, sobre el que se fijan dos cadenas laterales que varían según los productos.



CEFAMICINAS: Las Cefamicinas poseen la estructura básica de las Cefalosporinas, diferenciándose de ellas por la existencia de un grupo metoxi en el C-7.

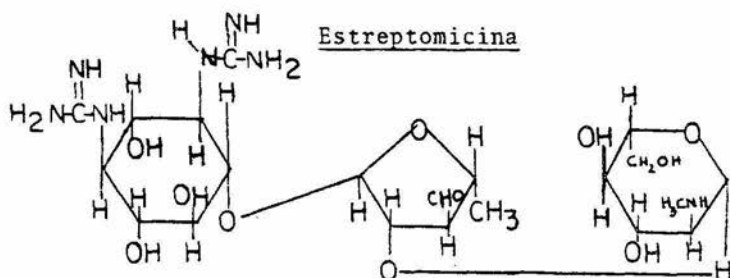


El mecanismo de acción de las Betalactaminas es la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana sin destruir la pared ya formada, estos antibióticos bloquean enzimas involucradas en la síntesis de la mureína, el cual es el constituyente químico que garantiza la rigidez de la pared.

#### OLIGOSACARIDOS (AMINOGLUCOSIDOS) :

Entre los antibióticos de este grupo se incluyen a la Estreptomina, Kanamicina, Gentamicina, Neomicina, etc., el primer antibiótico de este grupo que se aisló fue la Estreptomina, cuyo hallazgo, al contrario de la penicilina, fue el resultado de una investigación deliberada de una cepa de Streptomyces griseus por parte de Waksman y cols., en 1944.

La estructura química de este grupo se basa en azúcares y especialmente en aminoácidos de lo que deriva la denominación de éstos.

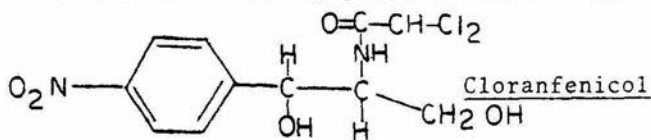


El mecanismo de acción en la mayoría de estudios a este respecto se han llevado a cabo con la Estreptomina. La cual reacciona con los ribosomas bacterianos, especialmente con la sub-unidad más pequeña del ribosoma(30s), el acoplamiento del antibiótico provoca una distorsión del ribosoma suficiente para prevenir la interacción normal entre el codón del RNAm. y el anticodón RNAt.

Esto produce un error en la codificación de las proteínas fabricadas que conducen a la formación de pseudoproteínas, de forma que la síntesis de proteínas normales prácticamente se detiene.

#### GRUPO DEL CLORANFENICOL :

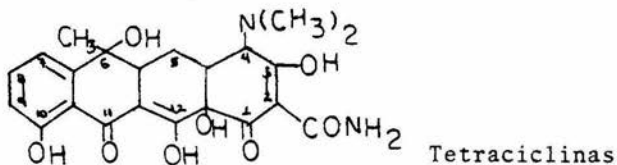
CLORANFENICOL: Su molécula es relativamente sencilla, su fórmula consta de 2 átomos de carbono asimétrico, lo que justifica la existencia de 4 estereoisómeros. Únicamente el isómero D(-) threo, que corresponde al antibiótico natural, posee actividad antimicrobiana.



El mecanismo de acción; actúa por inhibición de la síntesis proteica a nivel del ribosoma al cual se fija en la fracción 50s, para inhibir la formación de la unión peptídica.

TETRACICLINAS :Incluye muchos antibióticos de fórmulas químicas muy parecidas. El núcleo de la molécula está constituido por la unión de 4 ciclos hexagonales, lo que explica el nombre dado a estos productos. Cada uno de ellos se caracteriza por la naturaleza de los

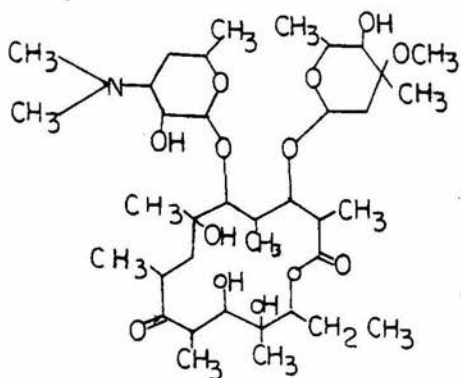
radicales unidos a este núcleo.



El mecanismo de acción es el siguiente; presenta la propiedad de complejos con diversos iones metálicos(propiedad quelante),inhibe la síntesis de proteínas ya que se fija al complejo aminoácido - RNA<sub>t</sub>. sobre el complejo ribosoma-mensajero.

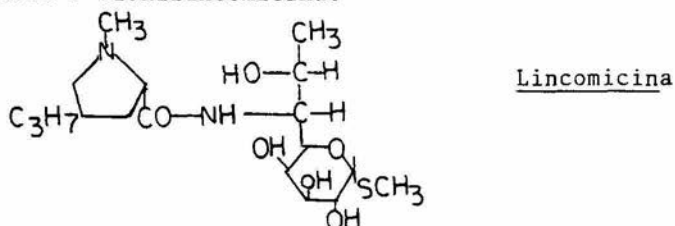
#### MACROLIDOS Y ANTIBIOTICOS SIMILARES:

Tres grupos de antibióticos (Macrólidos, Lincomicinas y Estreptograminas) presentan numerosos puntos comunes en sus propiedades, su espectro antibacteriano y sus formas de acción, lo que justifica su relación aún cuando sea diferente su estructura química. Macrólidos: presenta diversos antibióticos como la Eritromicina, Oleandomicina, Espiramicina, Midecamicina, etc., la fórmula química de estas sustancias comprenden un ciclo Lactona u Orido, de lo que se deriva en denominación macrólido, a este ciclo se une uno o muchos azúcares aminados o no, el ciclo y los azúcares varían de uno a otro macrólido.

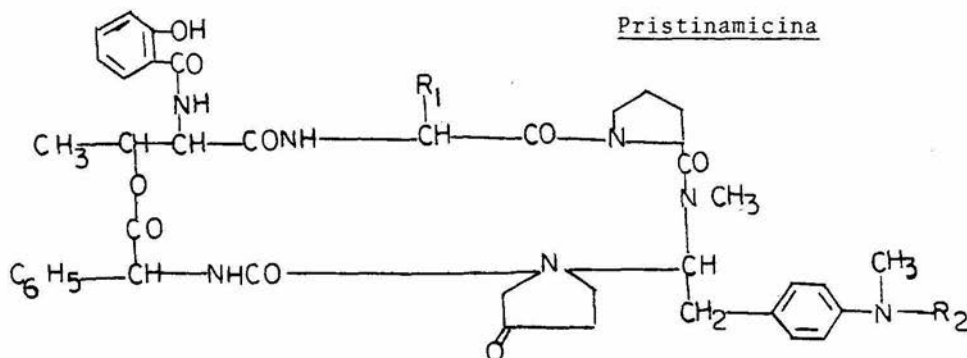


Eritromicina

Lincomiomas: su fórmula es claramente diferente y más sencilla que la de los macrólidos, se utiliza la Lincomicina y un derivado, la 7-cloro-7-dioxilincomicina.

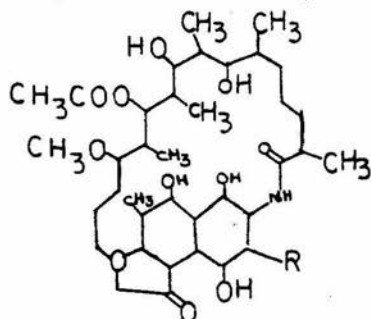



Estreptograminas: (peptólidos); todos los miembros de este grupo son mezcla de al menos dos componentes cuya naturaleza y propiedades están estrechamente relacionadas de uno a otro antibiótico, los cuales se pueden clasificar en dos grupos; el primer grupo referente Pristinamicina II, Virgimicina II, etc., son Lactonas Macroscílicas que poseen algunas analogías con los macrólidos; los del grupo II incluye a Pristinamicina I y Virgimicina I, son polipéptidos cíclicos que poseen funciones Lactona.



El mecanismo de acción de todos estos antibióticos es la de inhibir la síntesis de proteínas a nivel de la fracción 50s del ribosoma, pero el mecanismo exacto de esta acción es aún controvertido.

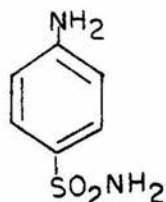
RIFAMICINAS: Este compuesto posee un cromóforo aromático rodeado por un amplio puente alifático, y un radical R el cual si es sustituido produce la Rifampicina.



R=H ; Rifamicina y si R=CH=N——CH<sub>3</sub> Rifampicina

El mecanismo de acción, es la inhibición de la síntesis de RNA por bloqueo de la RNA-Polimerasa.

SULFAMIDAS: La estructura química de la Sulfamidocrisoidina es inactiva " in vitro " , su actividad terapéutica es debida a que en vivo se escinde la molécula con liberación de Para Aminobencenosulfamida(Sulfanilamida), la cual es activa tanto "in vivo" como "in vitro" . Modificaciones de la fórmula original por sustituciones a nivel de los grupos -NH<sub>2</sub> o del grupo -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, han demostrado ser interesantes, más activos, especialmente los conseguidos por adición de un radical heterocíclico pentagonal o hexagonal.



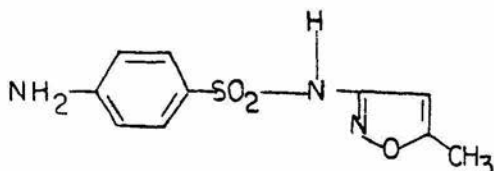
Sulfamilamida

El mecanismo de acción; debido a la similitud de su estructura con la del ácido Paraaminobenzoico(PABA), las Sulfamidas se conducen como inhibidores competitivos del mismo en la síntesis de los folatos (llevan a cabo la transferencia de los radicales monocar-

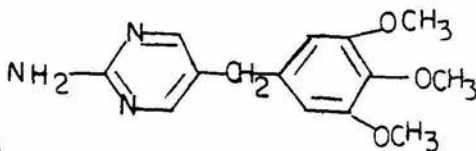
bonados: formil, formaldehído, etc., para la síntesis de las bases purínicas) bloqueando la enzima sintetasa, del ácido tetrahidropterico, responsable de la incorporación del PABA, al ácido fólico.

#### ASOCIACIONES TRIMETROPRIMSULFAMIDAS :

La terapéutica sulfamídica se ha utilizado por la aparición de la asociación de una sulfamida de acción semiretardada, Sulfametoxazol con una diamino-pirimidina; El Trimetropim, en una proporción de cinco partes de sulfamida por una parte de Trimetropim. Una preparación del mismo tipo asocia Trimetropim.



Sulfametoxazol o metil-5-  
sulfaniamida-3-isoxazol.



Trimetropim o diamino-2,4  
(trimetoxi-3,4.5,bencil)-5 pi-  
rimidina.

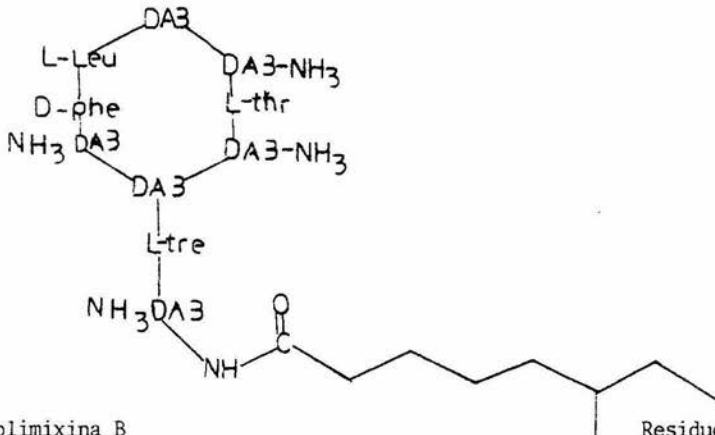
El mecanismo de acción es el bloqueo de la síntesis de los folatos de la inhibición competitiva de la hidrofolato reductasa que transforma el ácido dihidrofólico en ácido tetrahidrofólico (estadio que sigue inmediatamente al que inhiben las Sulfamidas), de este modo, los dos compuestos refuerzan su acción, actúan en sinergia.

#### ANTIBIOTICOS POLIPEPTIDICOS :

Polimixinas: son un grupo de polipéptidos cíclicos producidos por Bacillus polimixa, que se parecen a los detergentes catiónicos, ya que poseen grupos básicos (correspondientes al nuevo aminoácido, diaminobutilato) y una cadena lateral formada por un ácido graso.



DAB= , - Diamino Butirato  
(NH<sub>2</sub> CH<sub>2</sub> CH(NH<sub>2</sub>) COOH).

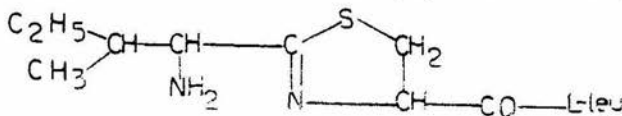


Polimixina B

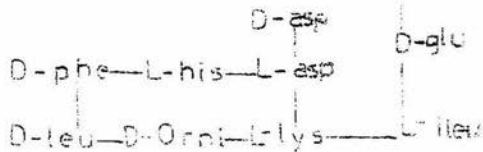
Residuo alifático  
el ácido ó-metil  
octanoico.

El mecanismo de acción; es la combinación con los fosfolípidos de la membrana, esto tiene por consecuencia una desorientación de las capas de la membrana, cuya función por tanto se altera especialmente la de la barrera osmótica, el equilibrio osmótico de la célula se rompen y se liberan constituyentes del contenido celular, lo que acarrea la muerte de la bacteria.

BACITRACINA: es un péptido cíclico, la parte de este compuesto que se detalla, está formado formado por una isoleucina y un residuo de cisteína que se condensan para formar un anillo Tiazolidina, en lugar de establecer el clásico enlace peptídico de un polipéptido.



Bacitracina



El mecanismo de acción ; es provocar la formación de esferoblastos y acumulación de nucleótidos precursores de los Péptidoglucanos, probablemente debido a su acción bloqueadora del portador lipídico, lo que da lugar a una desorganización de la membrana.

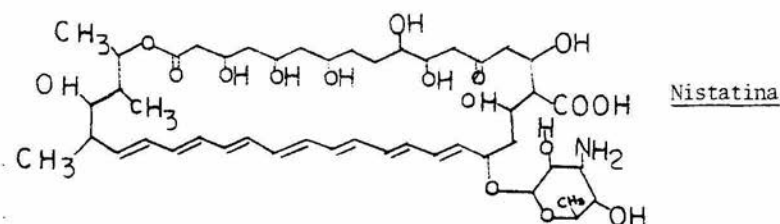
TIROTRICINA: es un polipéptido cíclico y actúa sobre la membrana citoplasmática.

#### DROGAS ANTIFUNGICAS :

Los compuestos antimicóticos de que se disponen actualmente para el tratamiento de infecciones por hongos, se dividen en antibióticos y compuestos obtenidos mediante síntesis química.

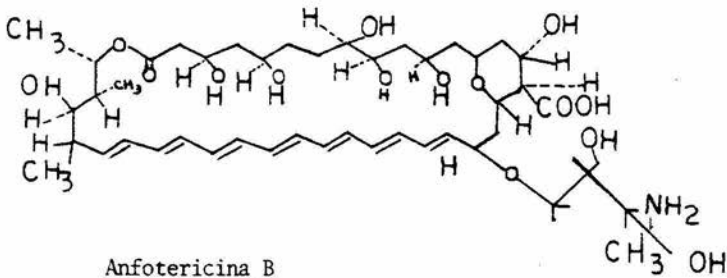
#### ANTIBIOTICOS ANTIMICOTICOS:

NISTATINA: se obtiene de Streptomyces noursei, mediante procesos de fermentación, presenta una fórmula química  $C_{46} H_{77} N O_{19}$  y posee cuatro grupos C-metilo, una porción molecular amino-azúcar y micosamina, pero no grupos metóxido, etóxido o N-metilo, el antibiótico contiene cuatro dobles ligaduras conjugadas las cuales la colocan en el grupo de los antibióticos poliénicos tetraénicos.



El mecanismo de acción; es fungistático y fungicida y se lleva a cabo por la alteración de la membrana celular tras fijación sobre los esteroides de la misma, de lo que derivan trastornos de la permeabilidad.

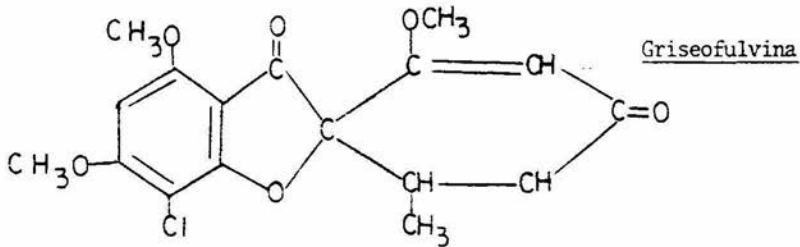
ANFOTERICINA B : su estructura química nos indica que es un poliéno químicamente muy próximo a la Nistatina, contiene carbono, hidrógeno y nitrógeno pero no contiene halógenos, azufre o grupos metóxido o acetilo



Anfotericina B

Su mecanismo de acción es el mismo que la Nistatina ya que presenta gran similaridad en su estructura.

GRISEOFULVINA: este antibiótico se obtiene del crecimiento micelial de especies de Penicillium, y presenta la siguiente estructura química.

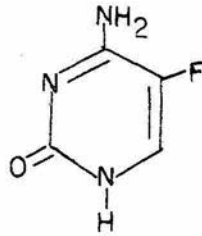


Se puede preparar de clorogriseofulvina y bromogriseofulvina reemplazando el átomo de cloro con un átomo de hidrógeno o de bromo pero estos compuestos son menos activos.

El mecanismo de acción; es fungistático pero no fungicida, se cree que produce gran distorsión, engrosamiento y rizado de las hifas, todo lo cual indica que interfiere con el crecimiento y desarrollo normales de las hifas terminales.

ANTIFUNGICOS DE SINTESIS QUIMICA :

5-FLUOROCITOSINA : es un producto reciente, atóxico aunque es un antimetabolito análogo a la citosina y que actúa exclusivamente sobre algunos hongos levaduriformes.

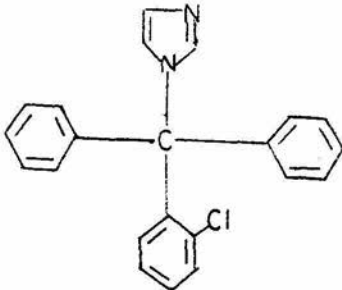


5-Fluorocitosina

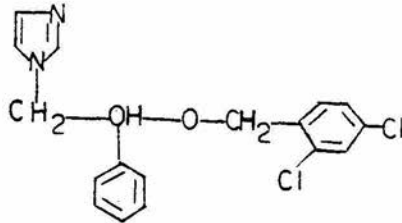
El mecanismo de acción; es de que la 5-Fluorocitosina se transforma por acción de una desaminasa de las levaduras en 5-Fluorouracilo, cuya acción anti-metabolito es conocida. La ausencia de toxicidad de la 5-Fluorocitosina para el organismo superior se explica porque las células de los mamíferos no poseen esta enzima.

DERIVADOS DEL IMIDAZOL :

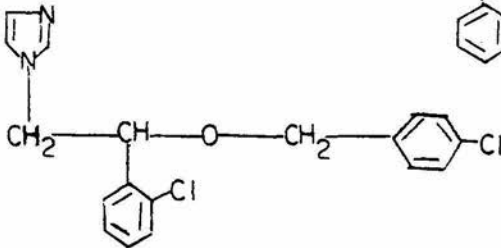
Clotrimazol, Econazol y Miconazol; son antifúngicos de amplio espectro cuya actividad incluye a los hongos levaduriformes y filamentosos responsables de micosis superficiales y profundas.



Clotrimazol



Miconazol



Econazol

En la década de los cincuentas, se despertó el interés en la flora y fauna marina como fuentes potenciales capaces de producir sustancias con propiedades antimicrobianas, entre otros atributos. Como consecuencia de este interés comienzan las primeras investigaciones de química y farmacología de sustancias bioactivas de la flora y fauna marina. Durante 1959, por ejemplo Nigrelli y cols., fueron los primeros en obtener un agente antimicrobial de amplio espectro de una esponja marina. Esta sustancia la cual fue llamada Ectionina, fue extraída de la esponja Microciana prolifera y demostraron sus propiedades antimicrobianas en contra de bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y en el hongo Candida albicans. (31)

Después de una serie de experimentos, Jakowska y Nigrelli en 1960, concluyeron que las sustancias antimicrobiales son producidas por las esponjas mismas y no por las bacterias que viven en asociación con ella. Además, estos investigadores obtuvieron sustancias con un grado variable de actividad antimicrobiana de las siguientes esponjas: Cliona celata, Dysidea etheria, Halichondria panicea, Haliclona viridis, Oligocereas hemorrages y Tedania ignis. (22)

En 1961, Ruggieri y cols., reportaron que los extractos de algunas de las esponjas mencionadas resultaron ser tóxicas en la fertilización de los huevos del erizo de mar Arbacia punctulata, produciendo citolisis y aberraciones durante la crianza y la formación de larvas. (35)

Baslow y Read, en 1968 descubrieron que los extractos de las esponjas: Haliclona magniculosa, Haliclona viridis y Toxadocia violacea, tienen efectos hipotensivos sobre ratas. (4)

Sharma y cols., en 1968 reportaron las propiedades químicas de algunas de las siguientes esponjas: Dysidea herbacea, Homaxinella sp., Verongia fistularis y Verongia cauliformis. (3)

En 1969, Baslow y Turlapaty reportaron que extractos acuosos de Haliclona viridis, cuando se inyectan intraperitonealmente en el ratón blanco, previenen el crecimiento de células tumorales incubadas después de un tratamiento por cuatro días posterior a la inoculación. (5). Burkholder y Ruetzler, en 1969 reportaron en sus investigaciones sobre la actividad antimicrobial de un número de esponjas colectadas del Mar Caribe, Mar Mediterráneo y el Océano Pacífico. (10)

En 1970, Sigel y cols., reportaron los resultados de su trabajo sobre la actividad antitumoral y anticelular de extractos de 104 géneros de invertebrados marinos tropicales. Ellos encontraron que extractos alcohólicos de las especies de las esponjas Chondrilla nucula, Haliclona substrangularis e Ircinia fasciculata, presentan alguna protección contra la formación de tumores en ratas con leucemia. (3)

Stempien y cols., en 1970 reportaron los resultados de sus investigaciones en extractos de esponjas colectadas en Jamaica y las Islas Vírgenes, extractos de 23 especies presentaron actividad antibiótica. (3)

En 1973, Andersen y Faulkner reportaron los resultados de su investigación sobre la actividad antibacterial de invertebrados del Golfo de California. (2)

En 1977, Green y cols., reportaron los resultados de la investigación de la Ecología y Toxicidad de las esponjas marinas, colectadas a diferentes latitudes del continente Norte Americano. (18)

Kennet y Renhart, en 1981 reportaron los resultados de sus investigaciones en diferentes extractos de especies marinas de Baja California y del Caribe, las cuales al presentar una amplia variedad de bioactividad se les examinó sus constituyentes químicos por medio de cromatografía y espectrometría de masas. (23)

#### FUENTES BIOLÓGICAS DE ANTIMICROBIANOS :

MONERA: si bien se ha discutido (28) la existencia de bacterias marinas, se ha establecido que existe un número de especies vivientes, aproximadamente unas 1,500. De estas el 95% son formas activas flageladas y Gram-negativas. Cerca del 70% son productores de pigmentos, de enzimas libres y algunas presentan fluorescencia. (13)

Rosenfeld (34) reportó actividad antimicrobiana de al menos 60 microorganismos marinos y encontró que 6 especies de Bacillus y Micrococcus, fueron activos contra varios microorganismos no marinos. Grein y cols., (20) encontraron 70 compuestos activos aislados de actinomicetes de aproximadamente 166 derivados de sedimentos marinos y materiales suspendidos en el agua de mar, éstos fueron efecti-

vos contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Un estudio de estas propiedades antibióticas de microorganismos extraídos a grandes profundidades (100-3,500 m) de los océanos del mundo en el que Krasilnikova (25) encontró 124 compuestos activos antimicrobiales de 326 microorganismos colectados, de donde 217 resultaron ser bacterias no esporuladas, 79 fueron coccus, 21 formadores de esporas, 8 levaduras y uno resultó ser un actinomicete. Este último presentó un gran espectro antibacterial. La antibiosis fue mostrada sobre microorganismos como son: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Mycobacterium luteum y Saccharomyces cerevisiae.

~~En la División~~ Cyanophyta (Holt, John, en 1979 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, antiguamente Phylum Cyanophyta) se encuentran varios géneros marinos y de agua dulce que presentan interesantes actividades antimicrobiales, tal es el caso de la cianobacteria Lyngbya majuscula, la cual presenta actividades antibacteriales, antifúngicas, antivirales y otro tipo de propiedades que inhiben el crecimiento en estudios farmacológicos preliminares. (3) Lewin y Jackson (3) reportaron sustancias bacteriales producidas por cianobacterias marinas, así como otras propiedades. Lefebvre, en 1964 (3) investigó las propiedades que inhiben el crecimiento de bacterias, en cultivos de tejidos animales y vegetales. Se han reportado diferentes sustancias antibióticas producidas por la cianobacteria de agua dulce Oscillatoria splendida (3). Y se ha establecido que los extractos de Oscillatoria princeps, presentan actividad contra Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Bacillus thyphosa, Escherichia coli y Brucella branchiseptica. (21)

PROTISTAS: dentro de los protistas se incluyen a las algas rojas, cafés, verdes, a las diatomeas y los dinoflagelados, los cuales presentan una amplia producción de sustancias antibióticas reportadas por Welch y Cierezko, en 1962. (12,36)

Extractos acuosos de Zooanthus sp; presentó inhibición al crecimiento de los hongos Aspergillus niger, Candida albicans y Cryptococcus neoformans. (36)

Burkholder y cols., (10) reportaron que los extractos acuosos homoge-

nizados del dinoflagelado Gonyaulax tamerensis, inhiben el crecimiento de Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Candida albicans y Mycobacterium sp.

Extractos de criptomonádidos fueron reportados por inhibir especies de bacterias terrestres pertenecientes a los géneros: Corynebacterium, Diplococcus, Escherichia, Staphylococcus y especies marinas pertenecientes a los géneros Corynebacterium, Brevibacterium, Mycrococcus y Flavobacterium. (15)

El crecimiento de cultivos de diatomeas de los géneros Skeletonema y Niteschia son reportadas por ser activos en contra de bacterias Gram-negativas. (3)

Duff, Bruce y Antia, en 1966(15) reportaron que extractos de diferentes solventes orgánicos de un número de especies de algas fueron antibióticos para una variedad de bacterias terrestres y marinas. La mayoría de los análisis extensivos de sustancias antibióticas presentes en algas, se han realizado en miembros de los phylum Chlorophyta, Phaeophyta y Rhodophyta. (Baslow en 1969). Chesters y Stott, en 1956(3) reportaron extractos de 17 especies de algas y encontraron que los extractos de 5 especies mostraron actividad antimicrobial cuando se pusieron sobre sensibilizadores en medios de cultivo. El extracto Polisiphonia fastigiata, mostró un amplio espectro bacterial inhibiendo a Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa y Pseudomonas fluorescens. Las algas marinas Chlorella stigmatophora y Dunaliella sp., son reportados, por producir sustancias con actividad antibiótica en contra de Staphylococcus aureus, (Accorinti, en 1964) (1)

Extractos del alga Pitophora sp ; son reportados por inhibir el crecimiento de Mycobacterium tuberculosis " in vivo " en el humano e "in vitro " y por atenuar la patogenicidad de este organismo en el cerdo de Guinea (cobayo). (24)

#### INVERTEBRADOS MARINOS :

PORIFERA: existen una amplia representación de animales sobre la tierra, pero el número mayor se encuentra en el medio ambiente marino; sin tener un órgano o tejidos verdaderos las esponjas son consideradas como los organismos más primitivos de todos los animales multi-



celulares. Su resistencia a la descomposición bacterial es debida a ciertas sustancias antibacteriales las cuales son producidas por ellas mismas. La sustancia Ectionona de Mycrociona prolifera es un agente antimicrobial el cual induce inhibición al crecimiento de por lo menos 6 diferentes bacterias(31). Las esponjas de Bahamas como Haliclona viridis y Tedonia ignis, también contienen sustancias antibióticas.(3). Nigrelli (32) reportó que los principios activos aislados de diferentes esponjas con diferentes solventes orgánicos, mostraron un amplio espectro antibiótico, particularmente contra Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, en bacterias ácidos-resistentes en levaduras patógenas similares a Monilia, además de una lista de no menos de 15 especies de esponjas, que muestran actividad contra varios organismos patógenos.

#### CELENERADOS(CNIDARIOS) :

Este phylum incluye a los hidroides, medusas, anémonas de mar y corales, los cuales se caracterizan por presentar una simetría radial y células especializadas portadoras del veneno, llamadas nematocistos.(Baslow, en 1969). Sustancias antimicrobiales de extractos de coral "cuerno" fueron reportadas por Burkholder, en 1958.(9) Otros valores potencialmente farmacéuticos pueden ser encontrados en dos compuestos aislados (Crassinina-Eumicina). De los corales: Plexaura crassa y Eunica mammosa respectivamente, ambos compuestos poseen actividad antibiótica y son tóxicas para Entamoeba hystolitica e inhiben el crecimiento de Clostridium fesi y Staphylococcus aureus. El acetato de Crassinina se describió como un componente policíclico, con un punto de fusión de 144-145°C, y que Eumicina es una lactona sesquiterpénica con una fórmula empírica  $C_{15} H_{22} O_3$  y con un punto de fusión de 150-152°C. (11,12)

#### MOLUSCOS:

El phylum agrupa a organismos marinos tales como las ostras, caracoles, abulones, almejas, pulpos, etc., como características principales presentan una concha calcárea(no presente en algunos casos) con un manto o tejido no delimitado.

La clase Gasterópoda y Pelecípoda son los únicos que presentan estudios sobre sustancias antibióticas y antivirales(Baslow,1969).

En una interesante serie de reportes hechos por Li y cols., (26,27,33) han indicado que Gasterópodos como Strombus gigas, Tegula gallina y Haliclona rufescus, presentan sustancias activas antibacteriales y antivirales. Dichas sustancias activas fueron designadas como Paolin I y II (Paolin nombre chino del abulón), El Paolin I es la Fracción antibacteriana y la No. II es la antiviral. (33)

Li y cols., reportaron que ambas fracciones Paolines son no dializables y moderadamente estables a la temperatura. (27). El Paolin I parece tener un peso molecular de 5,000-10,000 y puede ser una mucoproteína. (27)

Además de la actividad antibacterial y antiviral de ciertos moluscos, también muestran actividad antitumoral, esta fue recientemente notada con experimentos de extractos de la almeja Mercenaria mercenaria, los cuales inhiben el crecimiento de tumores. (Baslow, 1969). La producción de antibióticos por organismos marinos es considerada como un fenómeno común, sin embargo, sólo algunos constituyentes químicos que son capaces de inhibir el crecimiento microbiano se han descrito, actualmente se han iniciado programas de investigación para la valorización de sustancias de origen marino que presenten propiedades antimicrobianas, tal es el caso del molusco Littorina aspera.

DESCRIPCION, TAXONOMIA Y ECOLOGIA DEL MOLUSCO: Littorina aspera (29)

El molusco Littorina aspera, pertenece al phylum Mollusca, el cual esta integrado por animales cuyo cuerpo es blando e insegmentado, presenta una región cefálica bien diferenciada, la presencia de un pie ventral y una masa visceral protegida por una concha con simetría bilateral. El phylum comprende 6 Clases: Monoplacóphora, Amphineura, Escaphopoda, Gasterópoda, Pelecípoda y Cephalopoda.

La Littorina aspera, pertenece a la Clase Gasterópoda, la cual se distingue por ser la más importante de los moluscos que existen desde el Cámbrico. Se han censado cerca de 35,000 especies actuales y cerca de 15,000 especies fósiles. Los Gasterópodos poseen una concha habitualmente en forma de espiral (en algunos casos está desarrollada, reducida o ausente). Presentan una cabeza bien diferencia-

da en la cual está la rádula, presentan un ancho pie y una masa visceral que ha sufrido una torsión de 180°. Estos moluscos han invadido el medio ambiente marino, como las aguas dulces y el medio ambiente terrestre.

Se distinguen 3 sub-Clases: Prosobranchia, Opistobranchia y Pulmonata (estos últimos corresponden a las especies de agua dulce y a las terrestres).

La sub-Clase Prosobranchia, son Gasterópodos que han sufrido torsión y traslado de las branquias, ano y cavidad paleal hacia adelante, con branquias y con una sola aurícula, con un par de nefridios, sistema nervioso retorcido en forma de 8, ésta se divide en 3 Ordenes: Archeogasterópoda, Mesogasterópoda y Neogasterópoda.

El Orden Mesogasterópoda: los organismos presentan una branquia reducida a una hilera de filamentos, concha (excepto en una familia) de textura porcelanizada, son de hábitos alimenticios herbívoros, con rádula en forma de cinta con dientes marginales.

La Familia Littorinacea: son organismos con un tamaño medio o pequeño, concha lisa o con débiles nódulos esculpidos, apertura opercular sólida y entera, la textura de la concha es porcelanizada.

La Littorina aspera, presenta un sin número de sinónimos entre los cuales destacan; Littorina glabrata, Philipii 1846; Littorina parrulata. Philipii 1849; Littorina appicina, Menke 1850 y Littorina penicillata, Carpenter 1864.

La concha de Littorina aspera, es blanca y ocasionalmente azulada con líneas ondulantes de color café, presenta una superficie con nódulos débilmente esculpidos o lisa, su concha es un poco angular, su talla es de 7-16 mm (en promedio 11 mm) y con un diámetro de 5-10 mm (en promedio 7 mm).

#### ECOLOGIA:

La Littorina aspera, o caracol marino, es uno de los organismos más comunes en el mundo. Habita principalmente en áreas rocosas en la zona litoral (línea de costa), en donde se adhieren en racimos durante la marea alta o media, son similares a las Neritas, presentan un opérculo el cual no es calcáreo como en las Neritas, sino que es sólido y de una apertura entera que ayuda a mantener la humedad in-

terna de la concha cuando el animal se retrae, se alimentan principalmente de plantas microscópicas que ellas mismas raspan con su rádula, se presentan en una época del año durante los meses de Octubre-Noviembre y durante las horas diurnas, desapareciendo al bajar las corrientes frías del norte. La Littorina aspera, se extiende desde Baja California hasta el Ecuador, al molusco no se le ha encontrado ninguna utilidad económica.

JUSTIFICACION :

Tiempo atrás, las únicas fuentes de moléculas activas naturales eran los metabolitos secundarios aislados de los microorganismos y de los vegetales terrestres. Sin embargo, el descubrimiento de nuevas sustancias activas a partir de estos precursores es cada día menos frecuente. De ahí que sea necesario el estudio de nuevas fuentes naturales, como es el caso de las especies marinas, con miras a obtener nuevos compuestos antimicrobianos, para que con su uso cuidadoso y adecuado se puedan y así lo esperamos, reducir de manera dramática el grado de resistencia antibiótica en las poblaciones microbianas y hacer posible la síntesis de nuevos y potentes antimicrobianos con un espectro mayor, con mayor velocidad de penetración en las bacterias, con mayor afinidad por el lugar de acción y con menos efectos tóxicos colaterales.

El presente trabajo es parte constitutiva del programa de investigación de antimicrobianos de origen marino, que se realiza en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, de la UIICSE, en la ENEP. Iztacala, UNAM, patrocinado por CONACyT.

O B J E T I V O S :

.-Aislamiento y Purificación del Principio Activo Antimicrobiano.

.-Elucidación de la Estructura del Compuesto con Actividad Anti -  
microbiana.

#### MATERIAL Y METODO :

El molusco Littorina aspera, se colectó en la Bahía de Pichilingue, La Paz Baja California Sur, durante el mes de Octubre de 1984.

#### METODO DE COLECTA:

La colecta del organismo se realizó de forma manual y empleando en ocasiones cuchillo de campo, para el desprendimiento del organismo de su habitat rocoso de la zona litoral, en donde se adhieren en racimos durante la marea alta o media. La colecta se realizó de las cuatro de la tarde en adelante, siendo está la hora cuando sube la marea. El material colectado se preservo en etanol absoluto, dentro de bolsas de plástico amarradas con ligas de hule y previamente etiquetadas para su transportación al Laboratorio.

#### PRUEBAS PRELIMINARES :

A partir del material colectado se tomaron 4 alícuotas de 30 gr cada una con los cuales se montaron 4 reflujos con disolventes diferentes cada uno, los cuales se eligieron de acuerdo a su polaridad, por lo que se empleó Hexano, Cloroformo, Acetato de Etilo y Etanol, (todos químicamente puros). Para montar los reflujos se utilizaron 300 ml de cada disolvente y se mantuvieron a temperatura de ebullición durante 12 hrs , después se dejaron enfriar a temperatura ambiente, observándose la coloración que tomó cada solución que fue la siguiente:

Amarillo claro-----Hexano

Amarillo fuerte-----Cloroformo

Anaranjado -----Acetato de Etilo

Rojizo -----Etanol

Posteriormente los extractos se concentraron a un volumen de 50 ml a presión reducida en un rotavapor (Buchler), a cada uno de los concentrados se les colocó en tubos de ensaye con tapón de rosca y se enviaron al Laboratorio de Microbiología\* , para la determinación de actividad antimicrobiana(bacterias y hongos), " in vitro " sobre los siguientes microorganismos patógenos :

Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Escherichia coli, Staphy-

lococcus aureus, Mycrosporium canis y Pseudomonas aeruginosa.

Los resultados reportados por el Laboratorio de Microbiología fueron, del tubo marcado con la clave de Acetato de Etilo presentó la actividad inhibitoria en el crecimiento de los microorganismos de Escherichia coli, Mycrosporium canis, Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa, con lo cual se procedió al aislamiento del principio activo.

#### AISLAMIENTO DEL PRINCIPIO ACTIVO :

El siguiente paso para el aislamiento del principio activo fue tomar aproximadamente 1 kg (peso húmedo) del molusco Littorina aspera, el cual se liberó de su concha por medio de unas pinzas de disección y se sometió a una extracción exhaustiva durante 48 hrs a una temperatura de reflujo, se filtró la solución de Acetato de Etilo de Littorina aspera, usando fibra de vidrio para después empezar a concentrarla lo que se llevó a cabo en un rotavapor (Buchler) a presión reducida hasta un volumen de 200 ml dejándose reposar a una temperatura de 6°C durante 24 hrs obteniéndose así un precipitado de color verde claro.

#### FRACCIONAMIENTO CON DISOLVENTES :

El precipitado obtenido fue filtrado bajo presión reducida y lavado consecutivamente en un embudo de separación con diferentes disolventes (Q.P.) : con Hexano con objeto de eliminar grasas, con Cloroformo con la finalidad de eliminar compuestos de polaridad intermedia y con Acetona con el fin de separar sustancias de polaridad moderada. En todas las separaciones se obtuvo una fracción soluble y una fracción insoluble, a las cuales se les envió a determinar " **rastrear** " la actividad antimicrobiana.

#### PURIFICACION :

Al término del lavado con los diferentes disolventes, se obtuvo un compuesto, el cual se recrystalizó 4 veces con 25 ml de Etanol caliente, dejándose cristalizar durante varios días, hasta resultar un compuesto amorfo de color blanco.

Para verificar la pureza de este compuesto, se empleó Cromatografía de placa fina usando cromatofolios de placa fina de 0.2 mm de grosor de Silica Gel 60 sin indicador fluorocente (Merck), y se utilizaron varios sistemas de disolventes (Q.P.) como :

Acetato de Etilo-Cloroformo, en una proporción 1:2 vol./vol.

Tolueno-Acetato de Etilo, en una proporción 2:1 vol./vol.

Eter Etilico-Pentanol, en una proporción 2:8 vol./vol.

En todos los casos se obtuvo una sola mancha, las Comatografías se revelaron dentro de una cámara de vidrio saturada con Iodo sublimado, presentando la mancha un color café.

#### ELUCIDACION DE LA ESTRUCTURA :

El siguiente paso fue pesar en una balanza Analítica el compuesto puro y el total fue de 10 mg. También se le determinó su punto de fusión por medio de un aparato Fisher Johns\*\*.

Posteriormente se recurrió al estudio espectroscópico de Infrarojo (IR) , utilizando un aparato Beckman Acculab model 10 Spectrometer,\*\* y un Espectro de Masas, realizado en un aparato Hewlett Packard - 5985, instrumento a 70eV con introducción directa.\*\*\*.

\* Laboratotio de Microbiología de Post-Graduados de la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlan, U.N.A.M.

\*\*Estudios realizados en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, de la UIICSE, E.N.E.P. Iztacala, U.N.A.M.

\*\*\*Espectrometría de Masas realizada en el Instituto de Química de la U.N.A.M.



## RESULTADOS :

El resultado de las pruebas preliminares antimicrobianas realizadas por el Laboratorio de Microbiología, con los cuatro extractos de disolventes de diferente polaridad: Hexano, Cloroformo, Acetato de Etilo y Etanol, reportaron como activo al extracto de Acetato de Etilo por inhibir el crecimiento de Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Mycrosporium canis.

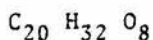
De acuerdo al resultado se aisló el principio activo antimicrobiano del molusco Littorina aspera, en una extracción de reflujo con el disolvente Acetato de Etilo, obteniéndose un precipitado de color verde claro, el cual se lavó con diferentes disolventes (Hexano, Cloroformo y Acetona) obteniéndose 3 fracciones solubles en los disolventes y 1 insoluble, a las cuales se les envió a determinar actividad antimicrobiana, reportando a la fracción insoluble como la activa sobre los mismos organismos patógenos: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Mycrosporium canis.

A la fracción insoluble activa se le determinó pureza empleando Cromatografía en placa fina con varios sistemas de disolventes, en todos los casos se obtuvo una sola mancha, la cual indicó una pureza aceptable, lista para realizar el estudio espectroscópico.

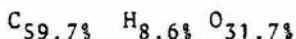
La sustancia blanquesina amorfa, que se aisló finalmente, presentó una solubilidad en Etanol caliente, con un punto de fusión de 80-82°C y un rendimiento de 10 mg (0.001 % del total).

Los resultados del Análisis Estructural practicado al compuesto puro obtenido del extracto de Acetato de Etilo, es el siguiente :

Presenta una fórmula empírica =



Y un Análisis elemental calculado de =



Con un peso molecular(calculado por masas) de = 400.

El espectro infrarojo de la sustancia pura mostró las siguientes bandas de absorción(ver gráfica de I.R.).

Una banda de intensidad gruesa es observada en el pico de 1700  $cm^{-1}$ , las siguientes señales de bandas de intensidades de 2910  $cm^{-1}$ , 1440  $cm^{-1}$ , 1250  $cm^{-1}$ , 1530  $cm^{-1}$  y 1060  $cm^{-1}$ , tanto débiles como gruesas

respectivamente son picos característicos de las Vibraciones Stretching de los diferentes grupos funcionales químicos de la molécula, la Estereoquímica de la molécula está dada por las señales de banda de  $710\text{ cm}^{-1}$  y  $455\text{ cm}^{-1}$  de los dobles enlaces.

La masa de los iones principales del compuesto de acuerdo al espectro de masas se muestra a continuación (ver gráfica cerrada del espectro de masas).

m/e = masa por unidad de carga del ión.

% = por ciento de abundancia

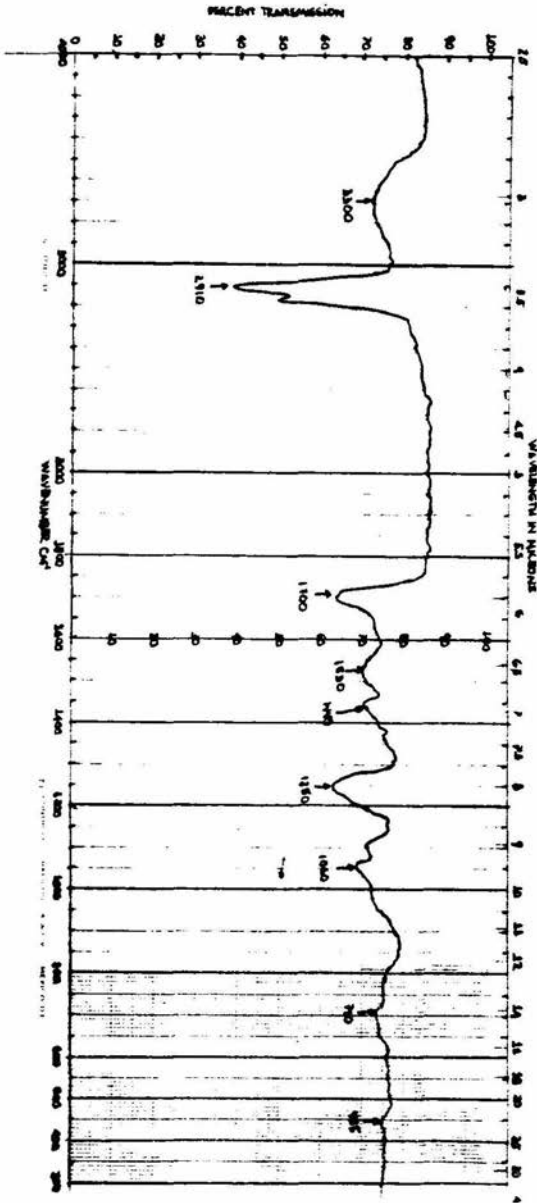
M/z = peso molecular del compuesto = 400.

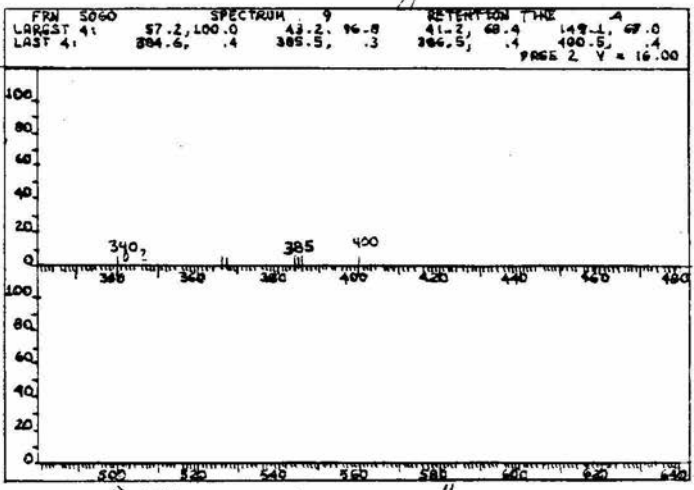
m/e=385(7.5%) , m/e=340(5%) , m/e=279(7.5%) , m/e=162(42.5%) ,  
m/e=149(67.5%) , m/e=129(12.5%) , m/e=119(5%) , m/e=113(15%),  
m/e=102(7.5%) , m/e=101(10%) , m/e=97(12.5%) , m/e=91(5%) ,  
m/e=85(17%) , m/e=84(15%) , m/e=73(50%) , m/e=69(40%) , m/e=60(47%),  
m/e=57(100%) , m/e=55(65%) y m/e=43(97%).

El mapa de fragmentación propuesto para el compuesto puro se presenta en la figura No. 3.

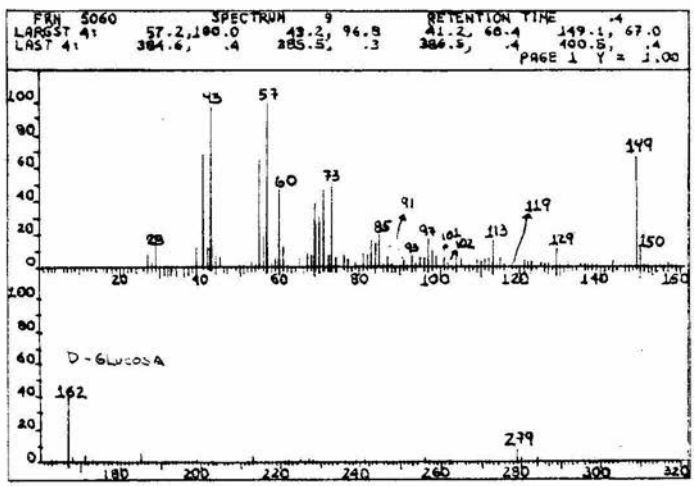
De acuerdo al mapa de fragmentación y a la información del espectro de I.R. , la estructura propuesta para el compuesto antimicrobiano extraído del molusco Littorina aspera se presenta en la fig. No.4.

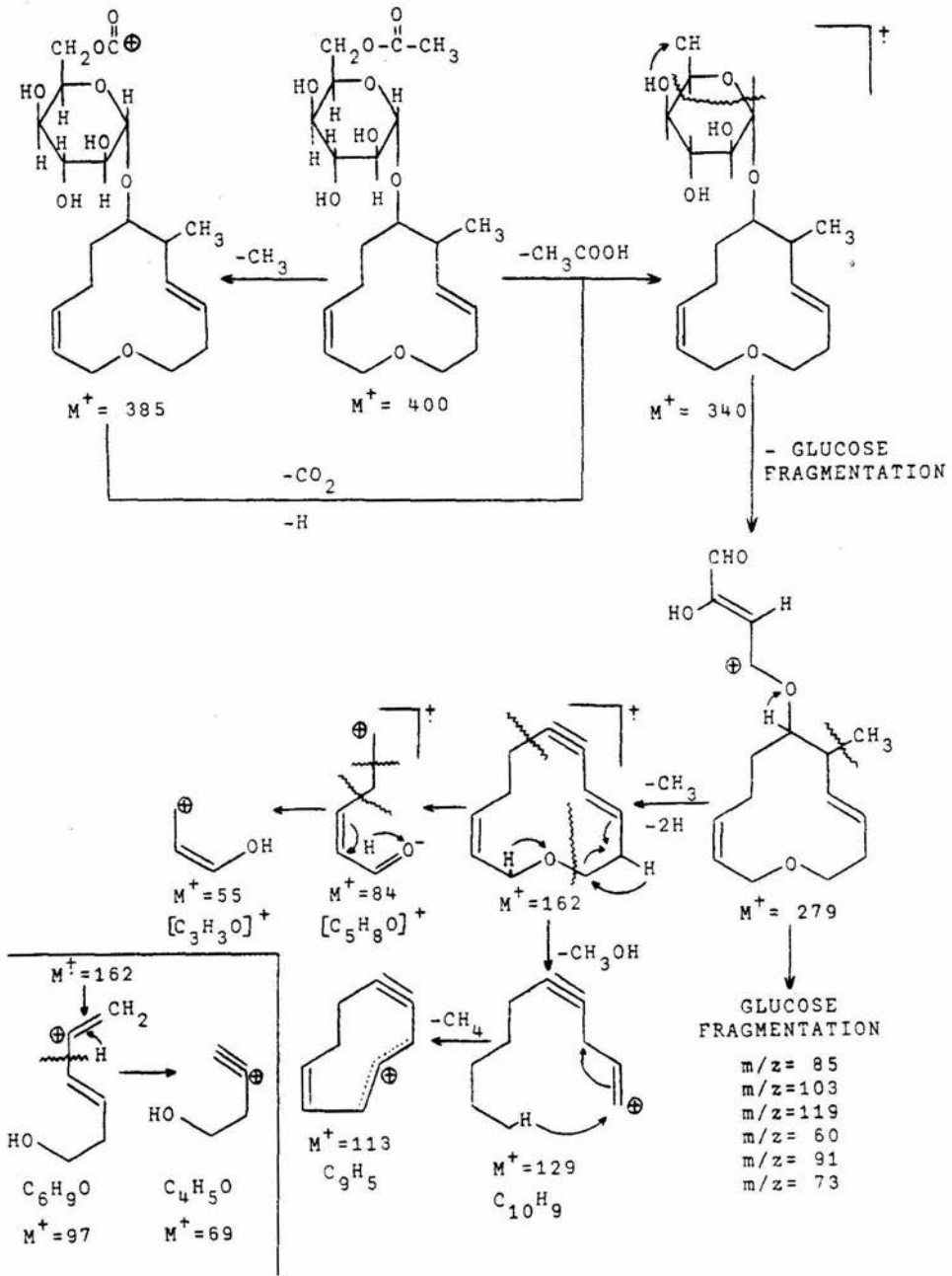
INSTITUTE NO. \_\_\_\_\_  
 DATE \_\_\_\_\_  
 SAMPLE \_\_\_\_\_  
 ANALYST \_\_\_\_\_  
 STRUCTURE, IUPAC NAME \_\_\_\_\_  
 NAME \_\_\_\_\_  
 COMMENTS \_\_\_\_\_  
 PREPARED BY \_\_\_\_\_  
 SPECTROSCOPIC CENTER \_\_\_\_\_





72 = *Littorina aspera*





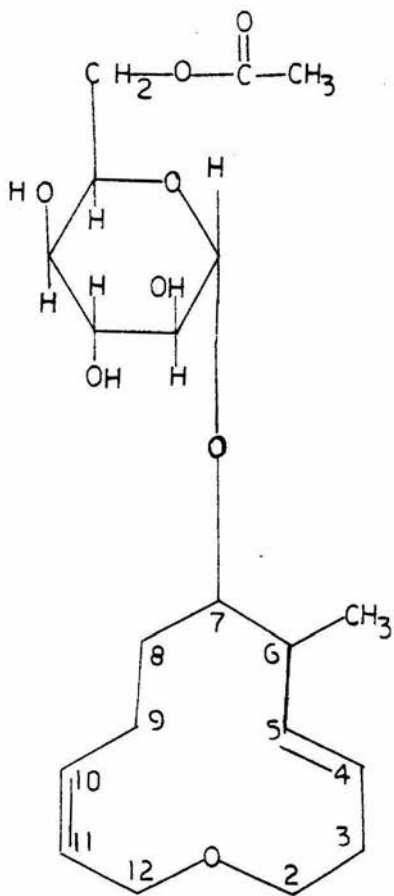


FIG: No. 4.

## D I S C U S I O N :

Al molusco Littorina aspera, recolectado en La Paz ,Baja California Sur, se le extrajo el principio antimicrobiano reportado sobre los microorganismos patógenos : Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Mycrosporium canis.

En las pruebas preeliminares donde se usaron los 4 diferentes disolventes de diferente polaridad, en un sólo extracto(Acetato de Etilo) se encontró la actividad antimicrobiana, por lo que se efectuó el trabajo de aislamiento y purificación del principio activo.

En el aislamiento del principio activo el precipitado de color verde claro resultó ser el compuesto activo, por lo que el aislamiento resultó ser sencillo ya que sólo bastó una precipitación en frío del extracto concentrado(200 ml) de Acetato de Etilo para obtenerlo.

El paso de fraccionamiento con disolventes(Q.P.) de distinta polaridad se realizó con la finalidad de eliminar impurezas al precipitado de color verde claro(activo) y descubrir su solubilidad en disolventes orgánicos, el Etanol caliente fue el indicado para su recristalización durante varios días este proceso involucra cristalizaciones consecutivas hasta la obtención de cristales libres de impurezas, el compuesto obtenido cristalizó de forma amorfa y de color blanco, al cual se le verificó pureza por medio de técnicas cromatográficas en placa fina y diferentes sistemas de disolventes, comprobando así la presencia de una sola mancha de color café.

La determinación del punto de fusión al compuesto activo fue necesario para conocer la naturaleza química de éste, el cual presentó un P.f.=80-82°C y por lo tanto es de naturaleza orgánica.

El uso de la espectroscopía orgánica fue esencial para el estudio de como los fotones son absorbidos por moléculas orgánicas, conociendo la clase de estos fotones que una molécula orgánica contiene , pudimos encontrar la forma, el tamaño y elucidación de la estructura del compuesto activo.

El espectro de I.R. se usó para determinar cuales grupos químicos pudieron ser responsables de una banda de absorción en una posición dada y ayudarnos a determinar parte de la estructura de interés.

Los resultados del espectro de I.R. muestra las características de

los diferentes grupos funcionales :

Una banda fuerte de absorción a  $1700\text{ cm}^{-1}$  es debida a la vibración Stretching del gupo carbonilo(C=O). Las bandas de  $1250\text{ cm}^{-1}$  y  $1060\text{ cm}^{-1}$  son asociadas con la vibración Stretching asimétrica de los enlaces Eter(C-O-C) característicos de los éter cíclicos, la otra banda débil de  $1530\text{ cm}^{-1}$  corresponde a los alquenos(-C=C-) no conjugados. La banda de  $1440\text{ cm}^{-1}$  corresponde a las uniones C-H, la banda de  $2910\text{ cm}^{-1}$  es de apareamiento de los gupos -OH(hidroxisilos).

La estereoquímica de la molécula está dada por la banda de absorción de  $455\text{ cm}^{-1}$  la cual indica la presencia de un doble enlace en Trans y la banda de absorción de  $710\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al enlace Cis. De acuerdo a estos resultados, sabemos que nuestro compuesto presenta los grupos funcionales tales como: el carbonilo, 2 enlaces éter cíclico, alquenos no conjugados, grupos hidroxisilos, enlaces carbono-hidrógeno, 2 dobles enlaces uno Cis y otro Trans.

Con estos datos aún es imposible elucidar la estructura del compuesto activo, por lo que se recurrió a la espectrometría de masas, la cual presentó los siguientes datos:

La presencia de un ión el cual da el peso molecular del compuesto con un valor de 400, el cual es muy fácil de determinar, solamente se observa el último pico dentro del espectro de gráfica cerrada (ver espectro de masas), las variables que presenta el espectro es la masa por unidad de carga del ión(m/e), contra por ciento de abundancia(%), así los primeros iones en m/e 385 y m/e 340 corresponden a una pérdida del grupo  $\text{CH}_3$  y ácido acético respectivamente del fragmento molecular correspondiente a la glucosa acetilada.(17)

La descomposición de la glucosa y el resto de la molécula produjo el ión en m/e 279, este ión es un precursor del ión fragmentado m/e 162 y de la aparición de todos los iones correspondientes a la fragmentación de la glucosa.

Sin embargo el ión m/e 162 del anillo se solapa con el m/e de la glucosa, esto se demuestra en el incremento de la intensidad del ión la cual es de 42,5%, en cambio en el espectro de masas de la glucosa aislada es de 2.25%.

La fragmentación posterior del resto de la molécula corresponde a



una fragmentación con pérdida de metanol y el ataque del doble enlace en el fragmento(ver figura del mapa de rompimiento).

Esta ruta es la que corresponde a los iones m/e 84, m/e 129 y m/e 113 que coinciden con la propuesta por Nakanishi de fragmentación de compuestos policíclicos.(6)

Así con estas técnicas nos llevan a determinar un compuesto heterocíclico (inclusión de un átomo de O<sub>2</sub> en el anillo) de 12 átomos de carbono, el cual contiene un heteroátomo de O<sub>2</sub> y 2 dobles enlaces unido a este se encuentra una molécula de glucosa acetilada (presenta un grupo acetato).

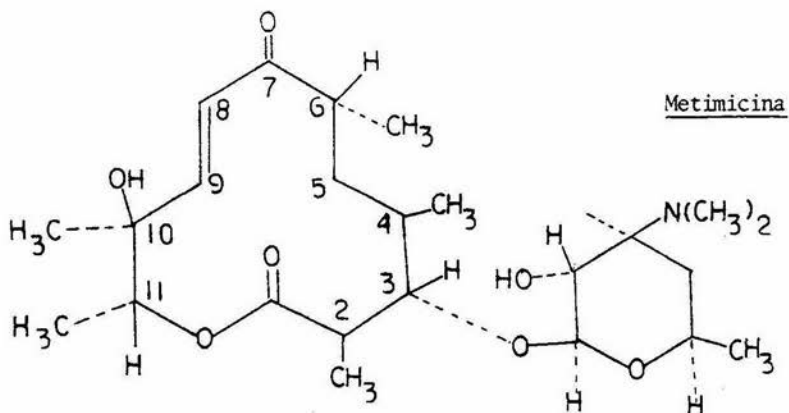
El compuesto obtenido, presentó una ligera semejanza en su estructura química con el Macrólido (Metimicina), el cual es un antibiótico obtenido de Streptomyces venezuelae,(14) su estructura química y propiedades físicas son las siguientes :

P.f. = 203-205°C

U.V. =(Etanol)=225(4.06)

I.R. =2.93 , 5. 82 , 5.85 y 6.14

La estructura fue determinada por Djerass y cols., en 1958.(14)



De acuerdo a esta semejanza nuestra nueva molécula es casi parecida a la Metimicina : la última presenta 5 grupos metilo ( $\text{CH}_3$ ) en diferentes posiciones del anillo macrólido, a comparación de la obtenida que sólo presenta 1 metilo( $\text{CH}_3$ ) en la posición del átomo de carbón 6.

La Metimicina presenta un grupo Lactona en su anillo macrólido y la molécula obtenida no presenta grupo Lactona, la Metimicina presenta el heteroátomo de  $\text{O}_2$  en diferente posición en comparación al obtenido, la otra diferencia es la presencia del enlace glicosídico unido a una dimetilaminoazúcar en la Metimicina y en el compuesto obtenido el enlace glicosídico unido a una D-Idosa(glucosa) Acetilada. Por lo tanto podemos sugerir que nuestro compuesto podría pertenecer al grupo de los Macrólidos.

Su mecanismo de acción no se conoce, pero posiblemente sea parecido al grupo de los Macrólidos.

Existe un gran número de compuestos Heterocíclicos con aplicación farmacéutica, donde se han realizado considerables investigaciones encaminadas a deducir relaciones entre la estructura de un compuesto y su actividad, y aunque se han encontrado varias pistas en este sentido, quedan todavía muchos puntos por investigar y esclarecer.

#### CONCLUSIONES :

El extracto del molusco Littorina aspera, posee un efecto antimicrobiano que inhibe el crecimiento de Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Mycrosporium canis, los cuales los 2 primeros son considerados como organismos patógenos oportunistas que ofrecen resistencia a los antimicrobianos convencionales, Escherichia coli, es microorganismo de flora normal y el hongo Mycrosporium canis es un microorganismo dermatofito

Por lo que se considera que el uso de extracto del molusco ,pueda ser realmente importante en el tratamiento de enfermedades producidas por estos microorganismos patógenos, desafortunadamente aún falta por realizar muchas investigaciones a nivel farmacológico y toxicológico del compuesto activo.

Se debe remarcar la importancia de la búsqueda de nuevos fármacos antimicrobianos de origen marino, que pueden ser utilizados en enfermedades producidas por microorganismos resistentes a los fármacos actuales.

De tal manera, que los resultados obtenidos al concluir este estudio sean de trascendencia para el conocimiento de nuevos fármacos de origen natural.

B I B L I O G R A F I A :

- 1.-Accorinti,J.,(1964).Competencia Interespecifica e inhibidores antibacteriales de microalgas marinas. Phytton(Buenos Aires),21: 95-101.
- 2.-Andersen,R.J. and Faulkner,D.J.,(1973). Antibiotics from marine organisms of the Gulf of California. In Food-Drugs from the sea, Proceeding 1972, Edited by L.R.Worhin. Washington,D.C., Marine Technology Society.pp.111-115.
- 3.-Baslow,D.,(1969). Marine Pharmacology. A Study of toxins and other biologically active substances of marine origin. Edited by the Willians & Willkins Co. Baltimore. pp. 1-161.
- 4.-Baslow,D., and Read,G.W.,(1968). Hypotensive and other Pharmacologic action of agents from the sponges Toxadocia violacea, Haliclona viridis and Haliclona magniculosa. Proc. West. Pharmacol. Soc.,11:117-120.
- 5.-Baslow,D., and Turlapaty,(1969). In vivo antitumor activity and other Pharmacological properties of Halitoxine obtained from the sponge Haliclona viridis.Proc. West. Pharmacol. Soc., 12: 6-7.
- 6.-Brown.Peter, Brins,F.. and Pethit,R.,(1971).Organic Mass Spectrometry. J. Spectroscop.,Vol. 5: 575.
- 7.-Buck,J.D.,Ahearn,D.C.,Roth,F.J., and Meyers, S.P.,(1963).Inhibitions of yeasts by a marine bacterium. J. Bacteriol. 85 : 1132-1135.
- 8.-Buck,J.D.,Meyers.S.P., and Kamp,K.M.,(1962). Marine bacteria with antiveasts activity. Science.138 :1339-1340.
- 9.-Burkholder,P.R., and Burkholder,L.M.,(1958).Antimicrobial activity of horny corals. Science. 127 :1174-1175.
- 10.-Burkholder,P.R., andRuetzler,K.,(1969).Antimicrobial activity of some marine sponges. Nature. Lond.,222 :938-939.

- 11.-Cierezko,L.S.,Sifford,D.H., and Weinheimer,A.J.,(1960).Chemistry of Coelenterates I Occurrence of Terpenoid compounds in gorgonians.Ann.N.Y.Acad.Sci.,90:917-919.
- 12.-Cierezko,L.S.,(1962).Chemistry of Coelenterates III Occurrence of antimicrobial Terpenoid compounds in Zooxantellae of Alcyonaria.Trans.N.Y.Acad.Sci.,24:502-503.
- 13.-Der Manderosian,A.,(1969).Marine Pharmaceuticals.Journal of Pharmaceutical Sciences.58:1-33.
- 14.-Djerass,C.,Halpern,O.,(1958).Methymicina I Isolation.Tetrahedron. Vol: 3,255.
- 15.-Duff,D.C.,Bruce,D.L., and Antia,N.J.,(1966).The antibacterial activity of marine planktonic algae. Can. J. Microbiol.,12: 887-894.
- 16.-Duval,J.,Soussy,C.J.,(1980).Manual de antibioterapia,"Fundamentos bacteriológicos para la utilización de los antibióticos".Edit. Toray-Masson,S.A.,Paris,Francia 1<sup>a</sup> Edicc., pp. 1-176.
- 17.-Fulkomiya,N.,Karueda,M., and Nakanishi,K.,(1971). Mass Spectrum. Phytochemistry. 10:1617.
- 18.-Green,G.,(1977). Ecology of Toxicity in Marine Sponges. Marine Biology. 40: 207-215.
- 19.-Green,G.,(1981).Farmacología Marina.Información Científica y Tecnológica . (Biomedicina),3: No. 51, 32-33.
- 20.-Grein,A., and Meyers,S.P.,(1958). Growth Characteristics and antibiotics production of Actinomicetes Isolated from Litoral Sediments and Materials Suspend in sea water. J. Bacteriol., 76 : 157-163.
- 21.-Gupta,A.B., and Shrivostava,G.C.,(1965).On antibiotics Properties of Some Fresh-Water Algae. Hidrobiología. 25 : 285-288.

- 22.-Jakowska,S., and Nigrelli,R.F.,(1960). Antimicrobial Substance From Sponges. Ann.N.Y.Acad. Sci.,90 : 913-916.
- 23.-Kennet,H.L.,Renehart,J.,Paul,D.S.,(1981). Marine Natural Products as Sources of Antiviral, Antibacterial and Antineoplastic Agents.Pure & Appl. Chem.,53:795-817.
- 24.-Klein,S.,(1964). A New Anti-tubercular Substance. Bot. Mar. , 6 : 247-250.
- 25.-Krasilnikova,E.N.,(1962).Antibiotics Properties of Microorganisms Isolated From Various Depths of World Oceans. Microbiology., 30: 545-550.
- 26.-Li,C.P.,(1960).Antimicrobial Effect of Abalone Juice. Proc.Soc. Exp.Biol.Med., 103: 522-524.
- 27.-Li,C.P.,Prescott,B.,Jahnes,N.G., and Martino,E.C.,(1962).Antimicrobial Agents From Mollusks. Trans.N.Y.Acad.Sci., Ser.II,24:504-509.
- 28.-Mac Leod,R.A.,(1965). The Question of the Existence of Specific Marine Bacteria. Bacteriol.Rev.,29:9-23.
- 29.-Myra,K.A.,(1971).Sea Shells of Tropical West American. Marine Mollusks from Baja California to Peru. Second. Edit. Stanford, University Press Stanford, California, pp. 363-365.
- 30.-Nakanishi,K.,Goto,T.,Ito,S.,Natori,S., and Nozoe,S.,(1975). Natural Products Chemistry.Macrolide ,Acad. Press. Inc.N.Y. and London. A subsidiary of Harcourt Brace Jovonovichs, Publishers.Tokyo. 2: pp.70-86.
- 31.-Nigrelli,R.F.,Jakowska,S., and Calventi,I.,(1959). Ectyonina an antimicrobial agents from the Sponge, Microciona prolifera Verill. Zoologica(N.Y.),44:173-176.

- 32.-Nigrelli,R.F.,Stempien.M.F.,Ruggieri,G.D.,Liguori,V.R., and Cecil,J.T.,(1967).Substances of Potential Biomedical Importance from Marine Organisms. Fed. Proc. 26 : 1197-1205.
- 33.-Prescott,B., and Li.C.P.,(1960). Abalone Juice Fractionation and Antibacterial Spectrum.Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 105 : 498-500.
- 34.-Rosenfeld,W.D., and Zobell,C.E.,(1947). Antibiotics Production by Marine Microorganisms. J. Bacteriol.,54:393-398.
- 35.-Ruggieri,G.D.,(1961). Developmental Aberrations in Sea Urchin Eggs Induced by Sponges Extracts. Am.Zool. 1:384-385.
- 36.-Welch,A.M.,(1962). Preeliminary Survey of Fungistatic Properties of Marine Algae. J. Bacteriol., 81: 97-99.

Agradecemos el apoyo financiero proporcionado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, [CONACyT], ref. PCECBNA-20662, para la realización de este trabajo.