

870123
2
2y

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD
DEL DITERBUTILDIBENZO-18-CORONA-6
SOBRE LOS HONGOS: FUSARIUM SP
Y PYRICULARIA ORYZAE.**

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
JAVIER SALAS SANDOVAL
GUADALAJARA, JALISCO. 1984



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E .

CAPITULO I		Pág.
INTRODUCCION		1
CAPITULO II		
GENERALIDADES		2
1).- Eteres de Corona		2
1.1).- Nomenclatura y Estructura de Polieteres Cíclicos		2
1.2).- Métodos de Obtención de Polieteres Cíclicos		3
Propiedades físicas e Identificación del diterbutildi-- benzo-18-corona-6		4
2).- Características de los Hongos		5
2.1).- Fusarium sp		6
2.2).- Pyricularia oryzae		11
CAPITULO III		
MATERIAL Y METODO		12
CAPITULO IV		
PROCEDIMIENTO		14
I).- Pruebas semicuantitativas		15
II).- Pruebas cuantitativas		15
CAPITULO V		
RESULTADOS		17
TABLA para la obtención del PROBITO		22
CAPITULO VI		
CONCLUSIONES		23
BIBLIOGRAFIA		24

I N T R O D U C C I O N .

Entre los Eteres de Corona recientemente sintetizados en el laboratorio del Depto. de Química del Instituto de Ciencias Exactas y Terrestres de la Universidad Autónoma de Guadalajara se encontró que algunos de ellos muestran actividad fungicida significativa. Entre los eteres de corona probadas, el diterbutilbenzo-15-corona-5 y el diterbutilbenzo-12-corona-6 mostraron actividad inhibitoria relativamente altas contra Fusarium sp y Pyricularia oryzae.

En este estudio se efectuaron pruebas de inhibición semicuantitativas y cuantitativas con respecto al diterbutilbenzo-12-corona-6. La prueba semicuantitativa nos da una idea de la concentración del inhibidor necesaria para un 50% de inhibición. Se efectúa con una sola concentración de diferentes eteres de corona a los cuales se le va a probar su grado de actividad inhibitoria utilizando como referencia un "blanco", en el cual solo se haya disuelto el solvente Tetrahidrofurano en el medio de cultivo. En base a esto se lleva a cabo una prueba cuantitativa con varias concentraciones del inhibidor dentro de las cuales se encuentra una concentración que esta cercana a la que corresponderia al 50% de inhibición el cual nos daría la Dosis Eficaz Media.

Se realizan gráficas con el fin de ver la linealidad del crecimiento de los hongos.

El objetivo principal a seguir del presente estudio es la determinación de la Dosis Eficaz Media (ED₅₀) por medio de las pruebas anteriormente mencionadas, del éter de corona: di-t-butildibenzo-12-corona-6 sobre los hongos Fusarium sp y Pyricularia oryzae.

GENERALIDADES.

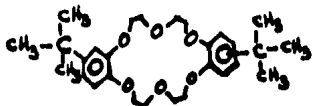
1).- ETERES DE CORONA.

Los eteres de corona son químicamente polieteres macrocíclicos, solubles en solventes orgánicos, sólidos a temperatura ambiente.

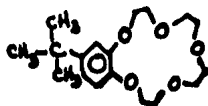
1.1).- NOMENCLATURA Y ESTRUCTURA DE POLIETERES CICLICOS.

Desde hace algún tiempo muchos de los nombres de los polieteres son incómodos para su uso común, los nombres abreviados han sido acuñados para su rápida identificación. De la apariencia de su modelo molecular y su habilidad de "coronar" los cationes, el dibenczo-18-corona-6, fué llamado "corona" y los polieteres cíclicos, como una clase, componentes de corona.

Los nombres triviales se basan en este concepto. Consisten de, en orden: (1°) el número y clase de las cadenas hidrocarbonadas, (2°) el número total de átomos en la cadena del políeter, (3°) la clase de nombre, "corona", y (4°) el número de átomos de oxígeno en la cadena del políeter. - La posición de la cadena hidrocarbonada y de los átomos de oxígeno son en la mayoría de los casos simétricas, y en excepciones son indicados como "asym" (asimétricas). Como ejemplo se citan los siguientes compuestos:



dibutildibenczo-18-corona-6

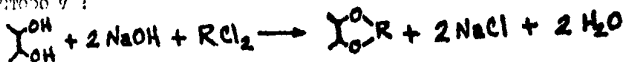


terbutilbenzo-15-corona-5

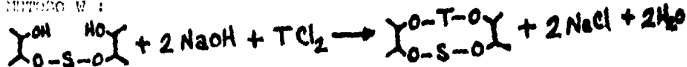
1.2).- METODOS DE OBTENCION DE POLIETEROS CICLICOS.

Los diferentes métodos usados para la obtención de los poliéteros cíclicos según Pedersen en su artículo -- "Cyclic Polyethers and Their Complexes with Metal Salts" son mostrados en las siguientes ecuaciones, donde X, S, T, U y V representen grupos orgánicos divalentes los cuales pueden o no ser idénticos.

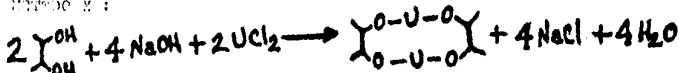
MÉTODO V :



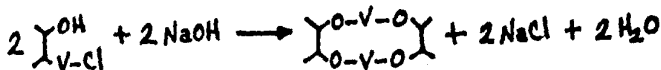
MÉTODO W :



MÉTODO X :

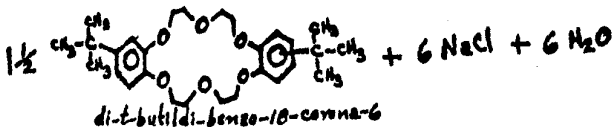
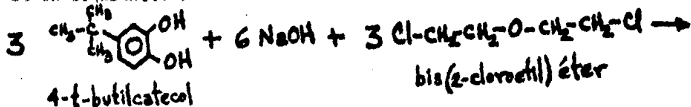


MÉTODO Y :



El compuesto ditertbutildibenzo-18-corona-6 se obtuvo de acuerdo con el método X en el laboratorio del Dpto. de Química de la Universidad Autónoma de Guadalajara por algunos colaboradores bajo la dirección del Dr. Koji Yagi.

La ecuación de la reacción de la síntesis química es la siguiente:



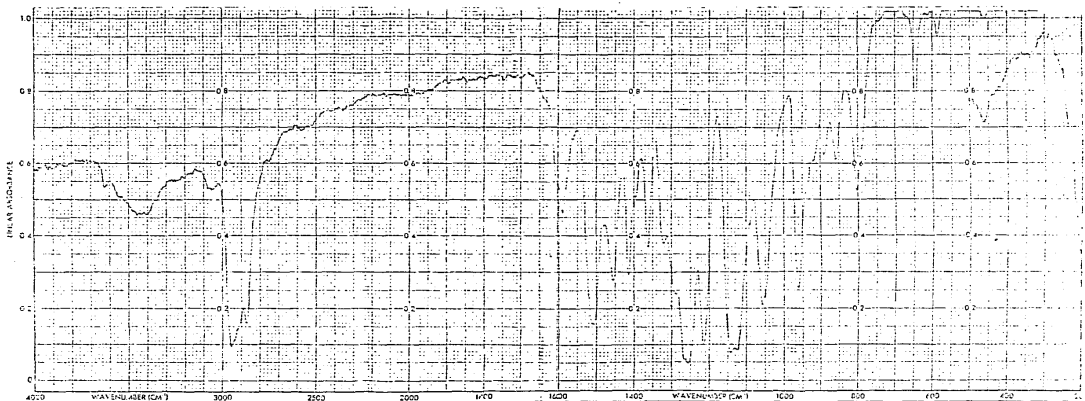
4
El compuesto di-t-butildi-benzo-18-corona-6 es una mezcla de los isómeros en cis y trans.


Su fórmula molecular es $C_{28}H_{40}O_6$.

Su peso molecular es de 472 dalton.

Su punto de fusión determinado es de 60° - 68° C.

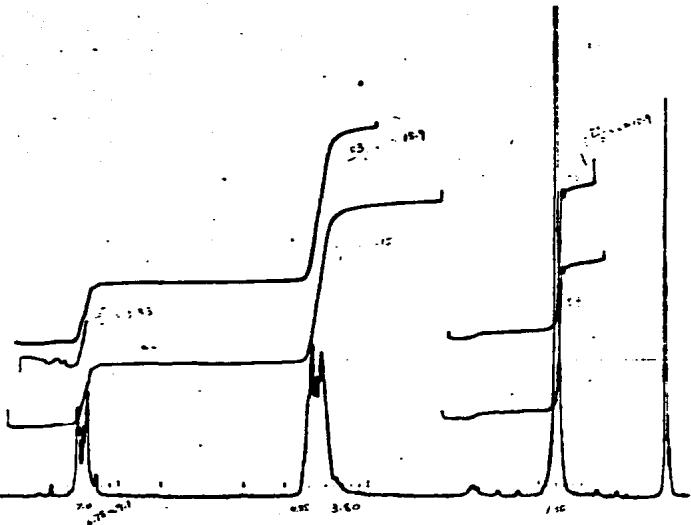
Su espectro infrarrojo y su RMN son mostrados más adelante.



SAMPLE  NAME	II REMARKS KBr	SOLVENT	KBr	ABSCISSA		ORDINATE		PLP/MS/CL/CTA
		CONCENTRATION		EXPANSION		NT		CHART NO. 222 2N
CELL PATH		HIGH LIMIT		SUPPRESSION		RESPONSE	ASS	OFFSCALE
REFERENCE		LOW LIMIT		TIME DRIVE		PLP PROGRAM		BY 1-3
						SCAN TIME		DATE
						SINGLE BEAM		BY 2/2/68
						PER SCALE OFFSETS		



Sample No 5
 1% TMS CDCl₃



R_f 0.12 mμ
 Amp. 1x10⁸

2).- CARACTERISTICAS DE LOS MOHOS.

Los mohos comprenden hongos predominantemente multicelulares y filamentosos; por otra parte, las levaduras son, por lo regular, unicelulares. La diferenciación general entre -- estos dos grupos es bastante insatisfactoria, dado que los -- hongos son clasificados parcialmente basándose en los métodos de reproducción sexual, y los mohos y levaduras pueden reproducirse en la misma forma.

Los mohos crecen por un fenómeno vegetativo de agrandamiento y división celulares, especialmente en el extremo de una hifa. Los fenómenos sexuales y asexuales hacen que se -- produzcan miles de esporas de las que nacerán nuevos mohos. Las esporas son un poco más resistentes que las células vegetativas.

Los mohos crecen en medios muy diversos. Su crecimiento es facilitado por la acidez, necesidad de humedad pero no necesariamente substratos húmedos, y abundancia de oxígeno. Suelen asociarse con la descomposición de alimentos, pero también son fuente importante de sustancias químicas y antibióticos. Algunas especies son patógenas para el hombre, y otras para las plantas.

Generalmente hay 4 clases consideradas en los hongos -- verdaderos o eumicetos: Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes y Deuteromycetes (Fungi Imperfecti).

2.1).- FUSARIUM SP.

El género Fusarium comprende muchas especies y muchas variedades dentro de cada especie. Los macroconidios son hialinos, fusiformes, a veces pediculados; uni o pluritabcados, y con inserción acrógera. Los conidióforos son ramificados, pudiendo aparecer, bien salpicados, bien en ramilletes cubiertos por una capa de conidios más o menos mucilaginosos, que forman el cuerpo fructífero tuberculado conocido como esporodogio. Este último puede presentar una base plana, conocida como plectóquima. Algunas especies producen macroconidios esporádicamente. Los microconidios son hialinos y de uni a tetratabcados. Las clamidosporas, unicelulares o unitabcadas, poseen gruesas paredes y son de inserción terminal o intercalar. Pueden presentarse esclerocios plectenquimáticos. Las masas de esporas, los esclerocios y el micelio son generalmente coloreados.

Wollenweber dividió el género en varias secciones: Elegans, Martiella, Discolor, Gibbosum, Roscum, Ventricosum; y este sistema de clasificación fué muy utilizado durante unos 30 años. Snyder y Hansen indicaron, en 1940, que la variabilidad entre las especies y las líneas puras, procedentes de cultivos de esporas aisladas, era de categoría suficiente - como para invalidar muchas de las identificaciones específicas mencionadas en el sistema de Wollenweber, y propusieron reducir el número de especies al de las que pueden describirse aceptablemente, tomando como base las diferencias morfológicas constantes, y designar con el nombre de variedades o razas todos aquellos biotipos que aparecen dentro de una especie.

Al aplicar este método, todas las especies incluidas en la sección Tleas se agrupan bajo la denominación Fusarium oxysporum; todas las especies de la sección Martiella, bajo la de Fusarium solari; etc.

Todas las especies de Fusarium presentan una fase saprofitica. Muchas de ellas son únicamente parásitos facultativos de escaso grado de patogenicidad. Algunas son principalmente organismos de descomposición que actúan sobre órganos vegetales latentes. Otras son parásitos poco activos de las raíces. Por último, otras especies atacan específicamente los tejidos corticales, provocando la descomposición de las plántulas antes de su emergencia, podredumbres en corona y tumefacciones en los tallos. Los patógenos de mayor grado de especialización dentro de este género son los agrupados dentro de la especie Fusarium oxysporum, que invaden los vasos del xilema de sus huéspedes, provocando las enfermedades conocidas como fusariosis vasculares.

Se indica a continuación algunas de las enfermedades más importantes del grupo Fusarium oxysporum y sus patógenos respectivos:

- Marchitez del tomate, F. oxysporum f. lycopersici.
- Marchitez del algodón, F. oxysporum f. vasinfectum.
- Marchitez de la sandía, F. oxysporum f. niveum.
- Amarillez del repollo, F. oxysporum f. conglutinans.
- Marchitez del plátano, F. oxysporum f. cubense.
- Amarillez del apio, F. oxysporum f. apii.
- Marchitez del melón, F. oxysporum f. melonis.
- Marchitez de las habas, F. oxysporum f. fabae.

Fusarium sp se presenta también como frecuente colonizador de la piel quemada y como agente importante de queratitis micótica.

Las especies de Sporotrichiella han traído amplia atención por su capacidad de formar toxinas peligrosas para el hombre y los animales. Las más notables de estas son Fusarium monae y Fusarium sporotrichioides, los cuales crecen en la Unión Soviética en cereales de invierno y causa frecuentemente la fatal enfermedad alimentaria tóxica en el hombre, y Fusarium tricinctum, el cual crece en los Estados Unidos en el maíz y trigo ensilados y produce síntomas tóxicos en muchos animales.

Otro grupo de Fusarium de considerable interés toxicológico es el de la sección Discolor, comprendiendo especies tales como Fusarium graminearum, Fusarium sabulinum y Fusarium cultorum; la sección libocum y la sección Rosaeum; todos causantes de enfermedad en los cereales. La toxicidad de Fusarium graminearum, Fusarium sabulinum, Fusarium cultorum, Fusarium capiceti, y Fusarium avenaceum ha sido estudiada extensivamente, especialmente con respecto a los efectos estrogénicos y cánceros observados en el cerdo y algunos otros animales en los Estados Unidos, y toxicosis en humanos, animales y plantas.

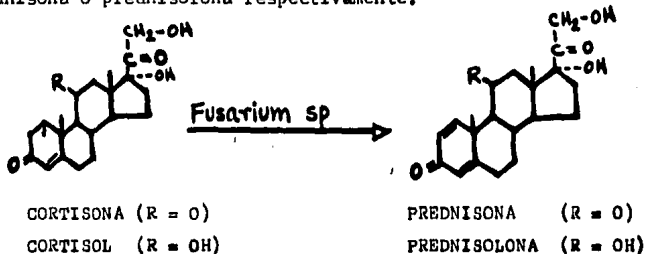
Fusarium ovale, el cual es altamente letal a animales, induce cambios patológicos, degeneraciones, y necrosis en varios órganos, y produce efectos citotóxicos y fuertemente irritantes sobre la piel del conejo.

Fusarium moniliforme es el hongo más común sobre las semillas de cereales en los Estados Unidos, como también en el sur de África y otras partes del mundo. La toxicidad aguda en diferentes animales ha sido reportada por varios investigadores.

Algunos metabolitos de Fusarium moniliforme produjeron un componente citotóxico con actividad antitumoral, síndrome neurotóxico y necrosis en el cerebro de caballos en Sud - Africa.

Fusarium solani esta difundido en todo el mundo en el suelo y plantas en las cuales es el causante de enfermedades destructivas. Fusarium solani también es causante de intoxicación de caballos en Japón, y que se caracteriza por perturbaciones del Sistema Nervioso Central, hemorragias y formación de costra sobre la piel del conejo; es responsable en algunos casos de enfermedad corneal (queratitis) en el hombre.

Fusarium sp tiene la capacidad de deshidrogenar en la posición $\Delta 1$ la cortisona o el cortisol para producir prednisona o prednisolona respectivamente.



Colonias de *Fusarium* sp:

Hongo de crecimiento rápido (45 mm de diámetro en 5 - días); es al principio blanco y algodónoso, pero rápidamente desarrolla color rosa intenso en el centro y rosado claro en la periferia. Debido a la pigmentación en color de rosa, este hongo puede confundirse a menudo con *Tricophyton nemini*.

Microscópico:

Ramas cortas de hifas dan origen a conidióforos verticilados (a) de los cuales parten conidios multiseptados, largos, en forma de uña o de media luna, terminados en punta (b,c).



2.2).- RYRICULARIA ORYZAE.

Ryricularia oryzae es un hongo fitopat6geno altamente destructivo responsable del malogro del arroz, que ataca el tallo y la hoja de la planta y cuya infecci6n se manifiesta por medio de una mancha color caf6. El hongo ha sido reportado tener una ligera actividad en la descomposici6n de amilosa y pectina, y descomponerlas considerablemente con sus actividades proteol6ticas e hidrol6ticas.

Ryricularia oryzae degrada tambi6n la Carboximetilcelulosa y libera az6cares reducidos dentro del medio de cultivo. R. oryzae puede utilizar la celulosa en su forma insoluble.

La degradaci6n biol6gica de fungicidas sobre las superficies de las plantas por enzimas de la planta o su microflora ha sido muy descuidado comparado a la atenci6n puesta al proceso realizado en el suelo o in vitro usando microorganismos del suelo. Por analogia, la superficie de la planta parece ser un lugar apropiado para la degradaci6n biol6gica que ocurre, y seguramente algunos pat6genos de plantas a6reas como Ryricularia oryzae, son activos in vitro.

Hifa de Ryricularia oryzae:



Tanto Fusarium sa como Ryricularia oryzae crecen bien en Papa Dextrosa Agar (PDA) al 20% como medio de cultivo a un pH 6cido alrededor de 5.6. Se resiembran aproximadamente cada mes en PDA en tubo inclinado.

CAPITULO III

M A T E R I A L Y M E T O D O .

Tanto el material como las sustancias utilizadas durante el desarrollo de la tesis incluyen lo siguiente:

MATERIAL:

Cajas Petri
 Pipetas graduadas
 Pipetas volumétricas
 Tubos de ensayo
 Matraces Erlenmeyer
 Vasos de precipitados
 Agitadores de vidrio
 Bateros de plástico
 Cucharilla
 Microespátula
 Asa de Colle
 Tapones de algodón
 Tapones de corcho
 Papel aluminio
 Papel pH
 Mechero de Bunsen
 Mangueras de hule
 Horadador del # 3
 Balanza analítica
 Horno
 Autoclave

SUSTANCIAS:

Alcohol al 70%
 Tetrahidrofurano dest.
 Esteres de Corona
 Papa
 Dextrosa
 Agar-Agar
 Acido Clorhídrico
 Agua destilada

El método se basa en la medición del porcentaje de inhibición de los hongos en crecimiento en cuyo medio de cultivo se encuentra el éter de corona, con respecto a un "blanco" o medio de cultivo de referencia del hongo, el cual solo contiene el disolvente del éter de corona.

Una porción circular del hongo se siembra en el centro del medio de cultivo y se va midiendo su crecimiento desde el centro a la periferia, tomando 4 valores para una mejor representación estadística. El porcentaje de inhibición se calcula tomando como el 100% el crecimiento del hongo sin inhibidor ("blanco"); y como el porcentaje de inhibición, la diferencia entre el valor del crecimiento del hongo sin inhibidor y el valor del crecimiento del hongo con inhibidor.

Tomando los valores de los porcentajes de inhibición para cada concentración del éter de corona, se obtiene mediante una TABLA, el PROBITO que nos da los valores para una relación directa con los valores de las distintas concentraciones del inhibidor. Se grafica los valores del PROBITO contra números enteros desde cero, se extrapola un punto cuyo PROBITO es de 5.0 que corresponde a un 50% de inhibición y así se -- obtiene un número que es el exponente del número 2, y que -- multiplicando este resultado por el valor de la concentración mínima utilizada del inhibidor nos da la Dosis Eficaz Media.

CAPITULO IV

P R O C E D I M I E N T O .

Se preparó medio de cultivo PDA al 5 y 20% utilizando: Extracto de papa (5 ó 20 grs de papa/ 100 ml de solución), - Dextrosa al 2% y Agar al 1.5%. Se ajustó el pH a 5.6 aproximadamente con ácido clorhídrico.

Se prepararon soluciones de éteres de corona en tetrahidrofurano (THF) destilado a las concentraciones requeridas, almacenándolas en refrigeración.

Se esterilizó el material de vidrio utilizado en el trato directo con los hongos en el Horno por calor seco a 160°C durante dos horas. El medio de cultivo y los hongos desechados se esterizaron por calor húmedo a 121°C, con 15 lbs de presión y un tiempo mínimo de 15 minutos.

Se preparó un "hongo madre" de la siguiente forma: se tomó una pequeña porción del hongo desde su cultivo y se le suspendió en agua destilada esterilizada; esta "suspensión" se le añadió a un medio de cultivo PDA al 20% cuando todavía se encontraba líquido (a unos 35° - 40°C), se agitó bien y enseguida se vertió rápidamente a las cajas Petri esterilizadas, se dejó que solidifiquen en estas, y se incubó a temperatura ambiente para su crecimiento. Creció uniformemente sobre la superficie del medio de cultivo.

La prueba semicuantitativa y la prueba cuantitativa técnicamente se efectúan igual, lo que difiere entre ambas es que mientras en la prueba semicuantitativa se utiliza solo una concentración para varias clases de éteres de corona, en la prueba cuantitativa se utilizan varias concentraciones -- para una sola clase de éter de corona.

Las pruebas se efectuaron en general de la siguiente forma:

Se prepararon matraces Erlenmeyer conteniendo 100 ml de medio de cultivo PDA al 5% y se les aplicaron a cada uno, un ml. de las soluciones de éteres de corona cuando el medio de cultivo se encontraba líquido y enseguida se vertieron en las cajas Petri esterilizadas y se esperó a que solidifiquen bien.

Se horadó el "hongo madre" con un horador # 3 para obtener círculos del hongo que a su vez se inocularon en los medios de cultivo PDA al 5% en cajas Petri exactamente a la mitad de estos. Enseguida se anotó el día y la hora de la operación efectuada y se incubó a temperatura ambiente. En los días siguientes se fué midiendo el micelio conforme este crecía, anotando el día y la hora de las lecturas realizadas.

I).- PRUEBAS SEMICUANTITATIVAS.

1).- Los éteres de corona utilizados son los siguientes:

terbutilbenzo-15-corona-5, terbutilbenzo-13-corona-6, -
diterbutilbenzo-15-corona-5 y diterbutildibenzo-13-corona-6.

2).- Concentración utilizada: 50 micromoles/lit.

3).- Medio de cultivo utilizado: PDA al 5%.

4).- Fecha de siembra:

Para Disarium sp: 8 de Agosto de 1983 a las 13:30 hrs.

Para Puccinularia pryeri: 23 de Junio de 1983 a las 16:00 hrs.

II).- PRUEBAS CUANTITATIVAS.

1).- Las concentraciones utilizadas fueron:

6.25 micromoles/ lit.	
12.50	"
25	"
50	"

2).- Medio de cultivo: PDA al 5%.

3).- Fecha de siembra:

Para Ficarium sp: 24 de Octubre de 1983 a las 15:00 hrs.

Para Pyricularia oryzae: 11 de Octubre de 1983 a las 16:30 hrs.

Las lecturas hechas de la longitud del micelio en mm, el tiempo en hrs. de las lecturas efectuadas y los porcentajes de inhibición respectivos se muestran en el capítulo de RESULTADOS, así como las gráficas que muestran el comportamiento del crecimiento de los hongos o sea la linealidad en el crecimiento.

El porcentaje de inhibición se calcula como sigue:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \quad \text{donde:}$$

A_0 = longitud del micelio sin el éter de corona

A = longitud del micelio con el éter de corona

CAPITULO V

R E S U L T A D O S .

Los resultados obtenidos son mostrados en las siguientes páginas. Se incluye una TABLA para la obtención del PROBITO desde el % de inhibición.

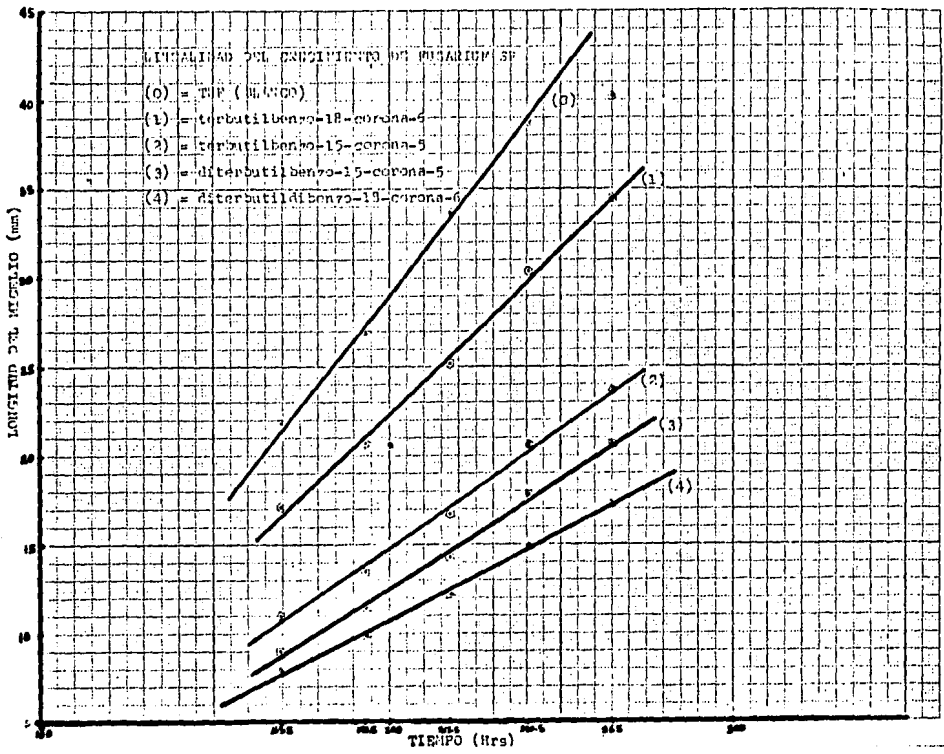
PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE VARIOS ÉTERES DE CORONA
CONTRA FUSARIUM SP.

LONGITUD DEL MICELIO (mm)

SUSTANCIA INHIBIDORA	No. de Copias Fértil	169.5 Hrs	193.5 Hrs	217.5 Hrs	240.5 Hrs	265 Hrs		% de inhibición
THF (BLANCO)	A	21.63	26.5	33.63	38.75	39.87		Cero
	B	22 $\overline{21.82}$	27.25 $\overline{26.87}$	33.75 $\overline{33.67}$	38.75 $\overline{38.75}$	40.63 $\overline{40.25}$		
t-butil-benzo-18-corona-6	A	17.87 $\overline{17.72}$	21.5 $\overline{20.67}$	25.37 $\overline{25.17}$	30.87 $\overline{30.37}$	35 $\overline{34.5}$		21%
	B	16.37 21.54%	14.87 22.3%	25 25.23%	24.87 21.63%	34 14.28%		
t-butil-benzo-15-corona-5	A	11 $\overline{11}$	15.63 $\overline{15.5}$	17.13 $\overline{16.78}$	21 $\overline{20.87}$	23.67 $\overline{23.71}$		48%
	B	11 49.59%	13.37 49.78%	16.37 50.28%	20.13 46.92%	23.75 41.09%		
dit-butil-benzo-15-corona-5	A	10.37 $\overline{9}$	13.37 $\overline{11.43}$	16.63 $\overline{14.31}$	20 $\overline{17.81}$	23.37 $\overline{20.67}$		55%
	B	7.63 58.75%	4.5 57.46%	12 57.52%	15.63 54.04%	18 48.60%		
dit-butil-dibenzo-18-corona-6	A	7.75 $\overline{7.87}$	9.87 $\overline{9.93}$	11.87 $\overline{12.17}$	14.63 $\overline{14.77}$	16.87 $\overline{17.25}$		62%
	B	8 63.93%	10 63.04%	12.5 63.82%	15.25 61.44%	17.63 57.14%		

EFICACIA DEL ENQUEMADO DE PUSARIUM SP

- (0) = T.M. (BLANCO)
- (1) = terbutilbenzo-18-corona-5
- (2) = terbutilbenzo-15-corona-5
- (3) = diterbutilbenzo-15-corona-5
- (4) = disterbutildibenzo-15-corona-6

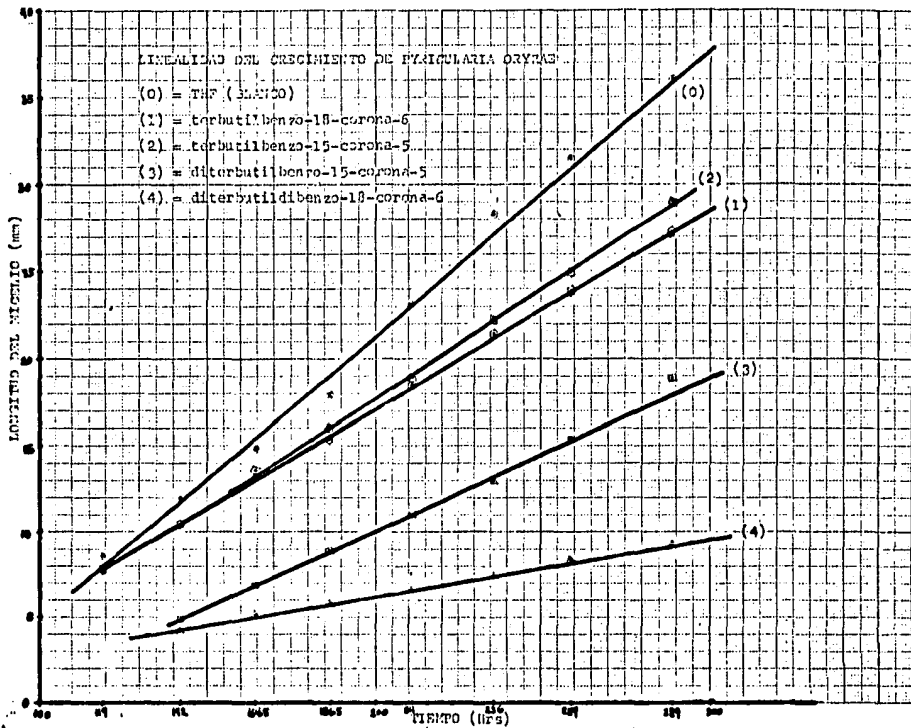


PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE VARIOS ETERES DE CORONA
CONTRA PYRICULARIA ORYZAE.

LONGITUD DEL MICELIO (MM)

SUSTANCIA INHIBIDORA	25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100	119 Hrs	142 Hrs	164.5 Hrs	186.5 Hrs	211 Hrs	236 Hrs	259 Hrs	289 Hrs	% de inhibición
THF (BLANCO)	A	10.25	13.07	17.25	20.07	23.13	28.25	31.5	36	cero
	B	8.63	11.43	12.93	14.79	17.05	23.73	31.5	36	
t-butil-benzo-10-corona-6	A	8.63	11.13	13.07	16.37	19.63	22.87	25.25	28.75	17%
	B	7.81	10.5	12.63	15.44	18.5	21.43	23.97	27.25	
t-butil-benzo-15-corona-5	A	9.67	11.5	—	—	—	—	—	—	12%
	B	7.02	11.64	13.23	16	17	22.33	25	29	
dit-butil-benzo-15-corona-5	A	3.5	5.75	8.15	10.5	13.33	15.33	17.5	21	54%
	B	3.07	4.07	6.08	8.07	11.04	13.04	15.43	18.07	
dit-butil-dibenzo-10-corona-6	A	2.97	4	4.63	5	6.25	7	8	8.67	70%
	B	2.67	4.19	5.06	5.81	6.63	7.43	8.43	9.15	

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



DETERMINACION DE ED₅₀

20

Diterbutildibenzo-18-crona-6 sobre Fusarium sp

concentra- cion (μ moles/lit)	LONGITUD DEL MICELIO (mm)					
	164 hrs	210.5 hrs	262 hrs	381 hrs	428.5 hrs	
THF (BLANCO)	A	5.75	8	11.25	21	23.25
	B	5.38	8.25	16.88	21.5	24
	C	5	8.13	11.75	21	24.25
	D	5	8.38	14.5	21	27
6.25	A	3	5.25	6.38	11.25	12.5
	B	2.88	5	6.38	10.75	13.13
	C	3	5	6.25	10.63	12.85
	D	3.25	5	6.13	10.25	12.38
12.50	A	2.83	4	5	8.75	10.67
	B	2.63	3.63	5	8.67	10.5
	C	2.5	4.13	5	8.75	10.25
	D	2.5	4	5	8.38	10
25	A	2	3.13	4	7.75	9.25
	B	2	3	4	7.75	9.13
	C	2.13	3.25	4.88	7.88	9.88
	D	2	3.13	4.75	8.17	10.38
50	A	1.63	2.5	4	6	8.63
	B	1.63	2.88	3.5	6.75	8.13
	C	1.88	3	4	7	8.83
	D	1.88	2.75	4	6.67	8.67
conv. (μ moles/lit)	500 hrs	525 hrs	548.5 hrs		%inhibición	
THF (BLANCO)	A	33.5	35.5	37		
	B	31.5	36.13	38.25		
	C	32	36.33	37		
	D	31	35	38		
6.25	A	15.25	17	18		
	B	15	16.25	17.13		
	C	14.17	16.25	17.5		
	D	15	16.5	17.88		
12.50	A	12.67	14.17	15.33		
	B	13	14.17	15.17		
	C	12.75	14	15		
	D	12.75	13.75	14.5		
25	A	11.5	12.5	13.75		
	B	12.13	13.25	14.13		
	C	12	12.5	13.75		
	D	13	13.38	14.88		
50	A	11.5	11.75	12.5		
	B	11	11.69	12.25		
	C	11	12	13.25		
	D	11.17	12	12.75		

LINEALIDAD DEL CRECIMIENTO DE FUSARIUM SP

Concentraciones:

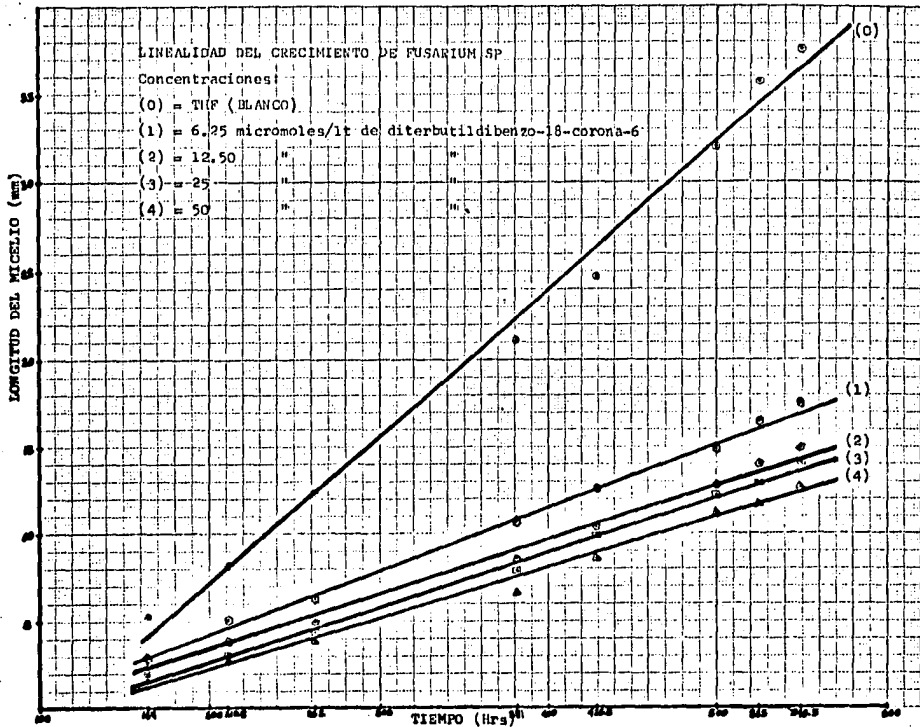
(0) = TWF (BLANCO)

(1) = 6.25 micrómoles/lit de diterbutildibenzo-18-corona-6

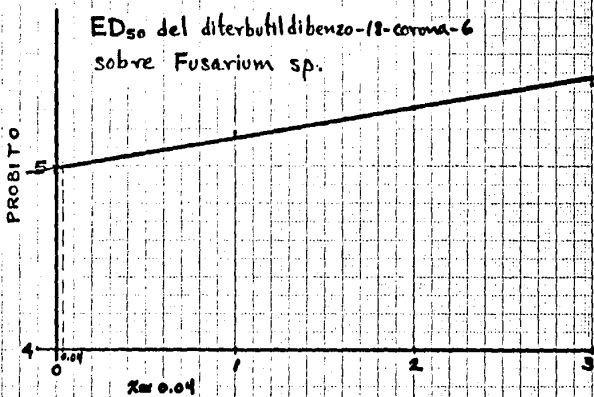
(2) = 12.50 " " "

(3) = 25 " " "

(4) = 50 " " "



conc. del dit-butil-dibenzo-18-corona-6 ($\mu\text{moles/lt}$)	% de inhibición	Probita (ordenada)	abscisa
6.25	49	4.97	0
12.50	57	5.18	1
25	62	5.31	2
50	67	5.44	3



$$ED_{50} = \text{conc. mínima} \times 2^x$$

$$ED_{50} = 6.25 \mu\text{moles/lt} \times 2^{0.04}$$

$$ED_{50} = 6.4 \mu\text{moles/lt}$$

DETERMINACION DE ED₅₀

21

Diterbutildibenzo-18-corona-6 sobre *Pyricularia oryzae*

concentra- cion (μ molec/st)	LONGITUD DEL MICELIO (mm)									
	139.5 hrs		165.5 hrs		187.5 hrs		211.5 hrs		235.5 hrs	
THF (BLANCO)	A	11		14		17.50		21.17		24.83
	B	11.87	11.72	15	15	18.75	18.44	21.65	21.73	25.75 25.61
	C	11.75		15.78		19		22.13		26.37
	D	12.25		15.23		18.50		22		28.80
6.25	A	7	6.84	9	8.87 8.72	10.37		12		13.87 13.87
	B	7		9		10.63	10.31	12.13	12.06	14 15.87
	C	7		9		10.63		12.37		14 15.87
	D	6.37	41.64%	8	41.87%	9.63	44.09%	11.75	44.30%	13.63 45.84%
12.50	A	5.37	5.59	7.15	7.31	8.63	8.87	10		11.75 12.03
	B	5.75		7.50		9		10.50	10.55	12 12.03
	C	5.50	52.30%	7.13		8.87	8.90%	10.25	52.37%	12.13 53.03%
	D	5.75		7.50	51.27%	9		10.63		12.25 53.03%
25	A	5		6.50		8		9.25		11 11.81 14.81
	B	4.87	4.81	6.50	6.22	7.87	7.78	9.25	9.09	10.87 14.81
	C	4.63		6.50		7.25		8.37		10.87 14.81
	D	4.75	58.96%	6.37	58.53%	8	57.81%	9.50	58.17%	11 57.74%
50	A	3.75		5.13		5.97		7		8.37 8.75
	B	3.50	4.03	4.63	5.37	5.87	6.40	6.87	7.57	8.13 8.75
	C	4.62	65.61%	5.87	64.20%	7	65.29%	7.87	66.08%	9.37 68.83%
	D	4.25		5.87		6.87		7.75		9.13
conc. (μ molec/st)	259.5 hrs		283.5 hrs		307 hrs		331 hrs		%inhibición	
THF (BLANCO)	A	28.50		32.50		36.67		39.17		
	B	29.63	29.41	33.37	33.31	36.75	36.73	39.50	39.87	cero
	C	29.37		33.87		37.63		40.50		
	D	29.63		33.50		36.87		39.13		
6.25	A	15.75	15.75	17.63		19.37		21		
	B	16		17.75	17.72	19.50	19.37	21.63	21.35	
	C	16		17.87		19.87		21.63		
	D	15.25	46.45%	17.63	46.80%	18.75	47.26%	21.13	46.04%	45%
12.50	A	13.37	13.93	15.13	15.50	16.50		18.37		
	B	13.37		15.37		17.13	16.97	18.75	18.91	
	C	14	52.64%	15.63	53.47%	16.87		19		
	D	14.80		15.87		17.37	53.80%	19.50	52.21%	53%
25	A	12.13		13.75		15		16.63		
	B	12.13	12.19	14	13.81	15	14.97	17	16.78	
	C	11.87	58.55%	13.25	58.84%	14.37	59.84%	16.13	57.57%	
	D	12.63		14.25		15.50		17.37		58%
50	A	9.50		10.87		11.37		13.13		
	B	9.25	10	10.50	11.34	11.37	12.15	12.63	13.63	
	C	10.75	66%	12	65.96%	12.87	66.92%	14.37	65.85%	
	D	10.50		12		13		14.37		66%

LINEALIDAD DEL CRECIMIENTO DE PYRICULARIA ORYZAE

Concentraciones:

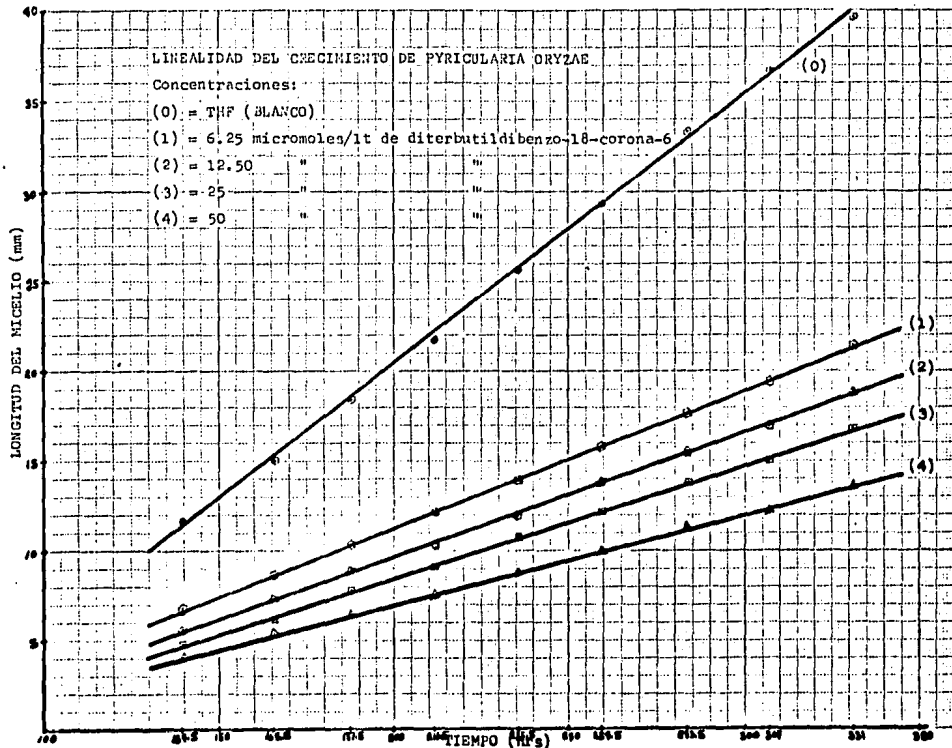
(0) = THF (BLANCO)

(1) = 6.25 micromoles/lit de diterbutildibenzo-18-corona-6

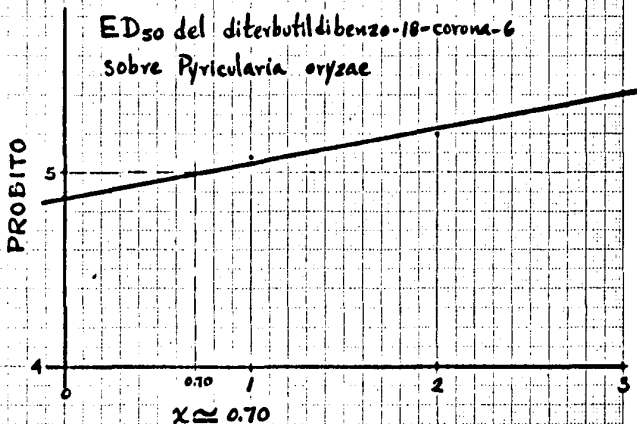
(2) = 12.50 " " " "

(3) = 25 " " " "

(4) = 50 " " " "



conc. del dit-butil-dibenzo-13-corona-6 ($\mu\text{moles/et}$)	% de inhibición	Probito (ordenada)	Abscisa
6.25	45	4.87	0
12.50	53	5.08	1
25	58	5.20	2
50	66	5.41	3



$$ED_{50} = \text{conc. mínima} \times 2^x$$

$$ED_{50} = 6.25 \mu\text{moles/et} \times 2^{0.70}$$

$$ED_{50} = 10 \mu\text{moles/et}$$

TABLA para la obtención del PROBITO desde el % de inhibición:

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2.67	2.95	3.14	3.25	3.28	3.31	3.34	3.37	3.39
10	3.72	3.77	3.83	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.70	4.72
40	4.73	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.12	5.14	5.16	5.19	5.21
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.72	5.75	5.78	5.81	5.84	5.87	5.91	5.94	5.97	6.01
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.24	6.31	6.41	6.48	6.55	6.64	6.73	6.83	7.03	7.13
%	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.57	7.81	7.85	7.91	7.98	7.63	7.75	7.84	8.02

CAPITULO VI

CONCLUSIONES .

De las 4 clases de eteres de corona utilizados en la prueba semicuantitativa se observó que el diterbutildibenzo-18-corona-6 mostró la actividad inhibidora más alta con respecto a los demás probados.

Los resultados de las pruebas cuantitativas nos indican que para Fusarium sp. la ED₅₀ es de 6.4 micromoles/lit y para Pyricularia oryzae, la ED₅₀ es de 10 micromoles/lit.

Los resultados indican que la actividad fungicida depende de la presencia del grupo alquilo y es probable que se obtenga una sustancia de mayor actividad por modificaciones de la estructura de los eteres de corona, como por ejemplo, la introducción de un grupo alquilo de cadena más larga y/o la hidrogenación del anillo aromático.

BIBLIOGRAFIA.

- Ainsworth G. C., Sparrow Frederick K., Sussman Alfred S. -
The Fungi. Volumen IV A. New York, San Francisco, London.
1973. Pág. 485
- Dickinson C. H. y Preece T. F. Microbiology of Aerial Plant
Surfaces. Academic Press Editorial, London, England. 1976.
Pág. 519
- Mycologia. The New York Botanical Garden. Volumen LXXII. -
January-February 1980 No. 1 Págs. 182, 183, 185
- Conant Norman F., Smith David Tillerson, Baker Roger Denio,
Callaway Jasper Lamar. Micología. Tercera Edición. Editorial
Interamericana. México, D. F. 1972. Pág. 536
- Moore Gary S., Jaciow Douglas M. Mycology for the Clinical
Laboratory. Reston Publishing Company, inc. Reston, Virginia
22090, USA. 1979. Pág. 65
- Carpenter Philip L. Microbiología. Segunda Edición. Editorial
Interamericana. México, D. F. 1969. Pág. 148
- Beneke E. S., Rogers A. L. Medical Mycology Manual. Third
Edition. Burgess Publishing Company. USA. 1970. Págs. 1, 16
- Walker John Charles. Patología Vegetal. Tercera Edición. -
Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. 1975. Págs. 301, 302

Wyllie Thomas D. y Morehouse Lawrence G. Mycotoxic Fungi and Chemistry of Mycotoxins. Volumen 1. Editorial: Marcel Dekker, Inc. New York, USA. 1977. Págs. 62, 63

Claus Edward P. y Tyler Varro E. Pharmacognosy. Quinta Edición. Editorial: Lea and Febiger. Philadelphia, USA. 1965. Págs. 355, 366

Pedersen C. J. Cyclic Polyethers and Their Complexes with - Metal Salts. Wilmington, Delaware, USA. 1967. Págs. 7017, - 7018, 7019, 7021, 7034