

## Esteroides de las esponjas antárticas *Cinachyra barbata* Sollas y *Xestospongia* sp.

ALICIA SELDES<sup>1</sup>, MARTA ROMERO<sup>1</sup>, EDUARDO GROS<sup>1</sup>, JOSÉ DARIAS<sup>2</sup>,  
JUANA ROVIROSA<sup>3</sup> y AURELIO SAN MARTÍN<sup>3</sup>

### RESUMEN

Tanto en *Cinachyra barbata* Sollas como en *Xestospongia* sp., se identificaron por CG-EM, doce esteroides. En ambas se encontraron once esteroides con núcleo  $\Delta^5$  y uno  $\Delta^0$ . El compuesto principal en *C. barbata* fue (22E, 24 E) -24-Metilcolesta, 5,22-dien-3  $\beta$  -ol y en *Xestospongia* sp. 24-Metilcolesta- 5,24(28)-dien-3  $\beta$  -ol.

Palabras claves: *Cinachyra*, *Xestospongia*, esponjas, esteroides, Antártica.

## Steroids from Antarctic Sponges *Cinachyra barbata* Sollas and *Xestospongia* sp.

ALICIA SELDES<sup>1</sup>, MARTA ROMERO<sup>1</sup>, EDUARDO GROS<sup>1</sup>, JOSÉ DARIAS<sup>2</sup>,  
JUANA ROVIROSA<sup>3</sup> and AURELIO SAN MARTÍN<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Twelve sterols were identified from marine sponges *Cinachyra barbata* Sollas and *Xestospongia* sp. The two sponges showed eleven  $\Delta^5$  and one  $\Delta^0$  sterols, being the principal compound (22E, 24 E) -24-Methylcholesta, 5,22-dien-3  $\beta$  -ol in *C. barbata* and 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3  $\beta$  -ol for *Xestospongia* sp.

Key words: *Cinachyra*, *Xestospongia*, sponges, sterols, Antarctica.

### INTRODUCCIÓN

Del Phylum Porifera, se han descrito aproximadamente 10.000 especies. Ocupan una de las posiciones más bajas dentro de la escala zoológica, por lo que entre los organismos multicelulares son animales bastante primitivos.

Las esponjas tienen una extraordinaria diversidad filogenética y tradicionalmente se han agrupado según el tipo de esqueleto que presentan, distinguiéndose tres Clases; Calcárea o Calciospongiae; Hexactinélida o Hyalospongiae y Demospongiae.

Las esponjas de la Clase Demospongiae, producen grandes cantidades de metabolitos secundarios, cuya principal función en el medio marino es actuar como antidepredadores o inhibidores del crecimiento de los organismos vecinos. Vale decir, actúan como mecanismo de defensa

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires. Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Productos Naturales Orgánicos, La Laguna, España.

<sup>3</sup>Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Santiago, Chile.

(Cimino *et al.*, 1983), fenómeno frecuente en algunos invertebrados marinos (Vásquez y San Martín, 1986, 1987), resultado de un proceso evolutivo como respuesta a la depredación.

La composición química de los Porifera es bastante diversa, conociéndose hasta el momento una gran cantidad de compuestos aislados de estos animales, entre los cuales podemos mencionar derivados fenólicos y ácidos carboxílicos (Bergquist y Wells, 1983), incluyendo ácidos grasos (Ayanoglu *et al.*, 1983) y una gran cantidad de esqueletos de origen terpénico como sesquiterpenos (Kitagawa *et al.*, 1987), diterpenos (Molinski y Faulkner, 1987), furanoterpenos (Cimino *et al.*, 1974a), lactonas diterpénicas (Cimino *et al.*, 1974b), sesterterpenos (Nakagawam *et al.*, 1987), carotenos (Okukado, 1975) y muchos otros.

Continuando con el análisis de la composición esteroidal de los Porifera de Chile, en este trabajo se presentan los resultados del estudio químico de las esponjas de los fondos marinos o de las aguas de la península Antártica: *Cinachyra barbata* Sollas y *Xestospongia* sp.

## MATERIAL Y MÉTODO

*Xestospongia* sp. fue recolectada en la bahía Paraíso, puerto Leith, a 40 m de profundidad, en enero de 1985, y *Cinachyra barbata* en bahía Fildes, caleta Ardley a 25 m de profundidad, en enero de 1986. La identificación la realizó Ruth Desqueyroux-Faúndez del Museo Natural de Ginebra, Suiza, lugar donde se guardan muestras de ambas especies. Los animales recién recolectados y cortados en trozos pequeños se fijaron con acetona para su traslado. El disolvente fue separado por filtración y el residuo sólido fue re-extraído con nuevas porciones de acetona; este procedimiento se repitió cinco veces. Luego el disolvente se concentró en un rotavapor al vacío de una trompa de agua. El residuo acuoso resultante se extrajo repetidas veces con una mezcla 1:1 de acetato de etilo (AcOEt) y éter de petróleo (EP) (fracción 60-70°C). Finalmente esta mezcla se evapora dando *Xestospongia* sp., un residuo orgánico de 18,8 g y un residuo de 342 g. Los valores correspondientes a *C. barbata* fueron 150 g y 980,0 g, respectivamente.

Los extractos orgánicos fueron cromatografiados en gel de sílice y eluidos con mezclas de EP y AcOEt variando la polaridad por incremento del AcOEt. De esta forma se purificaron las fracciones esteroidales, las que después de ser acetiladas con anhídrido acético y piridina, fueron cromatografiadas en gel de sílice impregnada con 10% de AgNO<sub>3</sub>, eluyéndose con Ep con 1% de AcOEt. Las fracciones resultantes se analizaron por cromatografía de gases (CG), (espectrometría de masas) CG-EM y resonancia magnética nuclear protónica (RMNP), usando CDCl<sub>3</sub> como disolvente.

Las cromatografías gas-líquido (CGL) fueron realizadas en un cromatógrafo Hewlett-Packard 5890A con detector de ionización de llama (FID), usando nitrógeno como gas portador. Se utilizó una columna capilar HP-S (fenilmetilsilicona 5%, 25m × 0,31 mm d.i. y 0,17 mm de espesor).

Las condiciones empleadas en los análisis fueron: temperatura: 200°C a 280°C, 10°C/min, t<sub>1</sub> = t<sub>2</sub> = 20 min. Las cromatografías gas-líquido combinadas con espectrometría de masa (CG-EM) fueron realizadas en un cromatógrafo Varian 1400 acoplado a un espectrómetro de masa Varian MAT CH-7A con un procesador automático de datos Varian MAT Spectra System 166 con teletipo Tektronix 4010-1 e impresor Tektronix 4631 o en un equipo Hewlett-Packard 5995C Benchtop GC/MS. Estas CGL fueron realizadas utilizando una columna OV-17 (3%) (1,80 m × 2 mm d.i.); temperaturas: 200°C a 290°C. 6°C/min; t<sub>1</sub> = 2 min y helio como gas portador.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los espectros de RMNP de las fracciones, evidenciaron las señales características de un núcleo esteroidal  $\Delta^5$  y  $3\beta$  acetoxi; es decir, H-C<sub>18</sub> a  $\delta$  0,68-0,70 ppm (s) y H-C<sub>19</sub> a  $\delta$  0,85-0,90 ppm (s).

Esteroides de las esponjas antárticas

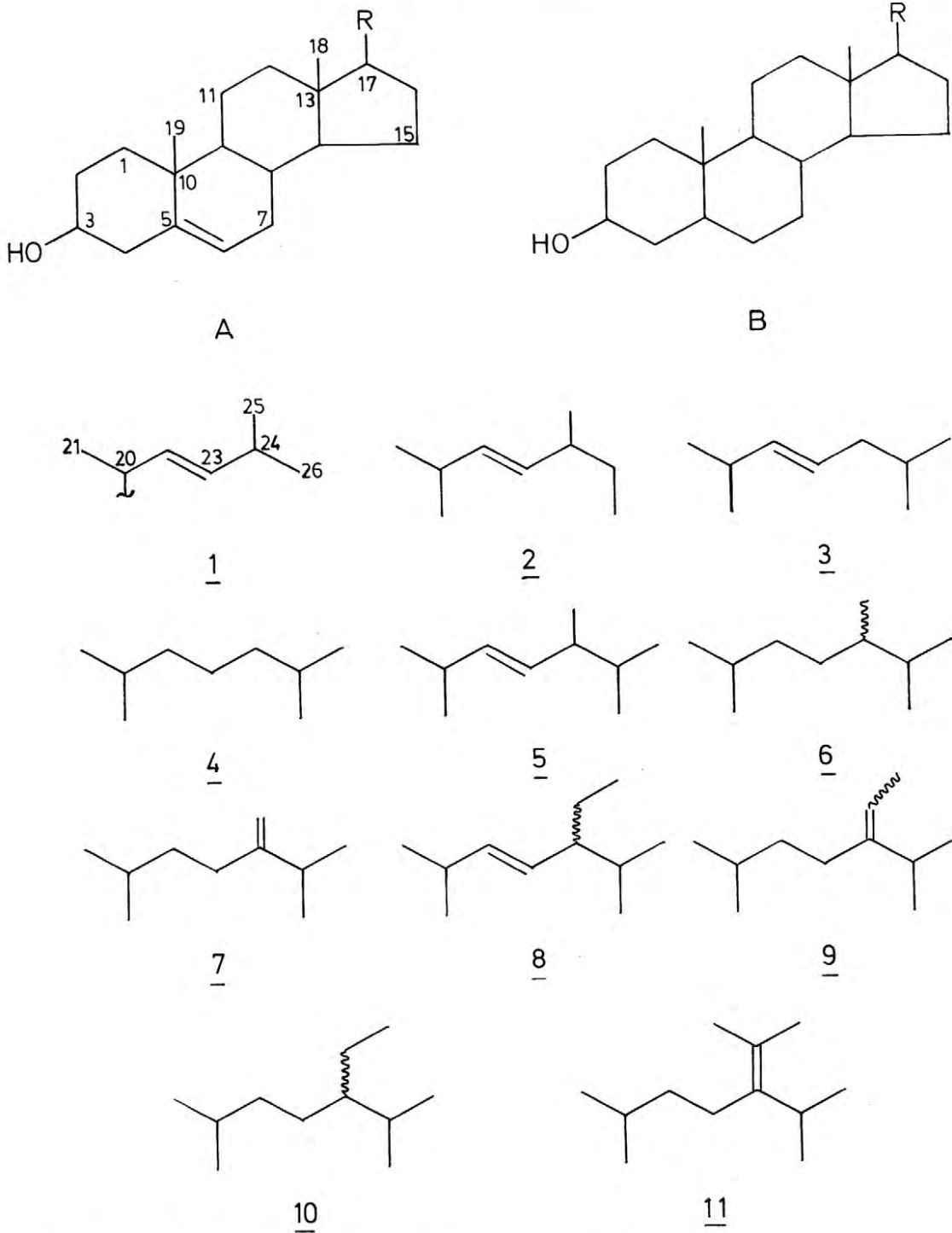


Fig. 1. Estructura de los esteroides de *Cinachyra barbata* Sollas y *Xestospongia* sp.

Tabla 1  
 COMPOSICIÓN, TIEMPO DE RETENCIÓN RELATIVA (TRR), PESO MOLECULAR Y PRINCIPALES FRAGMENTOS  
 DE LOS ESPECTROS DE MASAS DE LOS ESTEROLES DE *CINACHYRA BARBATA* Y *XESTOSPONGIA* SP.

N°	Esteroles mayoritarios (Acetato de)	P.M.*	TRR** (CGL)	<i>Cinachyra barbata</i> Sollas % CGL	<i>Xestospongia</i> sp. % CGL	Fragmentaciones principales en EM de los derivados acetilados
1A	(22E)-24-Norcolesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol	370	0,87	4,7	6,1	352(M+-AcOH,100), 377(11), 281(33), 255(60), 253(17), 228(10), 213(16).
2A	(22E)-27-Nor-24-Metilcolesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol	384	0,96	1,9	1,4	366(M+-AcOH,100), 351(25), 299(16), 296(9), 281(20), 255(12), 253(50), 213(18), 158(15), 145(31).
3A	(22E)-Colesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol	384	0,98	6,1	9,0	366(M+-AcOH,100), 351(31), 299(5), 296(13), 281(11), 255(17), 253(40), 213(15), 145(30).
4A	Colest-5-en-3 $\beta$ -ol	386	1,00	11,5	20,3	368(M+-AcOH,100), 353(28),255(31), 247(18), 213(22), 147(35), 43(80).
4B	5 $\alpha$ -colestan-3 $\beta$ -ol.	388	1,00	11,5	20,3	368(M+-AcOH,100), 373, 355, 275, 234, 233, 231, 215.
5A	(22E, 24 $\epsilon$ )-24-Metilcolesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol	398	1,07	41,0	14,2	380(M+-AcOH,100), 365(13), 296(11), 281(12), 255(84), 253(20), 213(17), 145(40), 55(80).
6A	(24 $\epsilon$ )-24-Metilcolest-5-en-3 $\beta$ -ol	400	1,07	—	b	382(M+-AcOH,100), 367(4), 289(2), 274(15), 261(1), 255(34), 253(12), 228(53), 213(59).
7A	24-Metilcolesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol	398	1,09	a	33,5	380(M+-AcOH,65), 365(22), 296(100), 281(26), 255(10), 253(40), 213(20), 211(10), 147(25), 145(37), 69(36).
8A	(22E,24E)-24-Etilcolesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol	412	1,10	1,4	1,8	394(M+-AcOH,50), 379(21), 296(10), 281(13), 255(38), 213(12), 211(11), 145(17), 69(100).

Tabla 1 (continuación)

N°	Esteroles mayoritarios (Acetato de)	P.M.*	TRR** (CGL)	<i>Cinachyra barbata</i> Sollas % CGL	<i>Xestospongia</i> sp. % CGL	Fragmentaciones principales en EM de los derivados acetilados
9A	24-Etilcolesta-5,24(28)-dien-3β-ol	412	1,13	1,4	7,1	394(M+-AcOH,30), 296(100), 281(36), 255(10), 253(16), 213(15), 211(14), 147(35), 145(31).
10 <sup>a</sup>	24E-Etilcolest-5-en-3β-ol	414	1,14	12,0	6,6	396(M+-AcO,70), 381(18), 303(17), 255(20), 213(8), 147(38), 145(29), 43(100).
11A	24-Propilcolesta-5,24(28)-dien-3β-ol	426	1,17	1,1	—	408(M+-AcOH,10), 393(4), 296(100), 281(25), 255(6), 253(21), 229(12), 213(18), 145(26).

\* = Peso molecular de los esteroides libres.

\*\* = Tiempos de retención relativos a Colesta-5-en-3β-Acetoxi.

a y b = No se determinó el porcentaje por falta de resolución de la señal.

pudiendo observarse un desplazamiento de la señal hasta  $\delta$  1,00 ppm en el caso de esteroides con el sistema  $\Delta^{5,24}$  (28). La señal correspondiente a  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  aparece a  $\delta$  2,10 ppm (s), el H-C<sub>5</sub> a  $\delta$  5,40 ppm (m) y H $_{\alpha}$ -C<sub>3</sub> a  $\delta$  4,60 (m). En cuanto a la cadena lateral, se observaron las insaturaciones  $\Delta^{22}$  y  $\Delta^{24}$  (28), siendo las señales del enlace doble C<sub>22</sub>-C<sub>23</sub> a 5,15 ppm (m) las del protón correspondiente a un sistema  $\Delta^{24,48}$  substituido.

La mezcla de esteroides fue analizada por CG y caracterizada por CG-EM de la mezcla de esteroides libres de sus derivados acetilados, tal como se muestra en la Tabla 1. El análisis de EM permitió identificar en cada una de las esponjas once acetatos de esteroides  $\Delta^5$  y uno  $\Delta^0$ .

En el análisis de los cromatogramas de gases de las diversas fracciones obtenidas se encontraron mezclas de esteroides que no pudieron ser resueltos (su presencia se confirmó por CG-EM), lo que imposibilitó su determinación cuantitativa. Así, en ambas esponjas aparecen juntos los compuestos 4A y 4B (ver Tabla 1 y Fig. 1). En *C. barbata*, los esteroides 5A y 7A se hallaron en la misma fracción. Una situación análoga se presentó en *Xestospongia* sp. con 5A y 6B, en cambio el compuesto 7A se obtuvo en una fracción distinta, pudiendo ser computado.

La presencia de esteroides C-26, detectados en ambos animales, ya ha sido descrita en múltiples casos y debido a su presencia en el plancton, se ha sugerido que éste puede ser el origen común de todos los esteroides C-26 de animales marinos (Bergquist *et al.*, 1980).

Aunque se ha propuesto que la composición esteroideal puede ser una herramienta útil a los taxónomos especializados en Porifera, aquella tendría una aplicación más bien restringida. Si bien los animales que hemos estudiado son especies diferentes, desde el punto de vista de la composición esteroideal, presentaron similitudes. Por ejemplo, en las dos esponjas se encontró un predominio de esteroides  $\Delta^5$  y de 28 átomos de Carbono. La diferencia más destacable es la presencia en *C. barbata* de un compuesto  $\Delta^5$  y C-30. Según la información de la literatura (Bergquist *et al.*, 1980; Duque *et al.*, 1985), estos géneros acumulan esteroides  $\Delta^5$ -C<sub>29</sub>.

Diferencias como las encontradas no tendrían mayor implicancia quimiotaxonómica.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento y la realización de las determinaciones espectroscópicas a UMYMFOR (CONICYT-FCEN), Argentina, Programa Antártico Español del Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CICYT), Departamento Técnico de Investigación de la Universidad de Chile e Instituto Antártico Chileno (Proyecto 020).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYANOGLU, E., J.M. KORNPROBST, A. ABOUD-BICHARA, y C. DJERASSI, 1983. Phospholipid studies of marine organisms. 4. Tetrahedron Letters 24: 1111-1114.
- BERGQUIST, P.R., W. HOFHEINZ y G. OESTERHELT, 1980. Sterol composition and the classification of the Demospongiae. Biochem. Syst. Ecol. 8: 423-435.
- BERGQUIST, P. R. y R.J. WELLS, 1983. Chemotaxonomy of the Porifera: the development and current status of the field. Marine Natural Products. Acad. Press Inc. 5: 1-50.
- BERGQUIST, P. R., A. LAVIS y C. CAMBIE, 1986. Sterol composition and classification of the Porifera. Biochem. Syst. Ecol. 14(1): 105-112.
- CIMINO, G., S. DE STEFANO y L. MINALE, 1974a. Oxidized furanoterpenes from the sponge *Spongia officinalis*. Experientia 30: 18-20.
- CIMINO, G., S. DE STEFANO y L. MINALE, 1974b. Pheraphysillin-2, further furanosesquiterpenoid from the sponge *Pheraphysilla spinifera*. Experientia 30: 846-848.

Esteroides de las esponjas antárticas

- CIMINO, G., S. DE ROSA, S. DE STEFANO, C. SODANO y G. VILLANI, 1983. Dorid nudibranch elaborates its own chemical defense. *Science* 219: 1237-1240.
- DUQUE, C., A. MARTÍNEZ y G. PERCUELA, 1985. Composición esteróica de la esponja *Xestospongia muta*. *Rev. Col. de Química* 14: (1-2), 81-88.
- KITAGAWA, I., N. YOSHIOKA, C. KANGA, M. YOSHIKAWA e Y. HAMAMOTO, 1987. Four new bisabolenety-pe aminosesquiterpenes from an okinawan marine sponge, *Theonella* sp. (Theonellidae). *Chem. Pharm. Bull.* 35: 928-931.
- MOLINSKI, T. F. y D.J. FAULKNER, 1987. Metabolites of the Antarctic sponge *Dendrilla membranosa*. *J. Org. Chem.* 52: 296-298.
- NAKAGAWAM, M., Y. HAMAMOTO, M. ISHIHAMA, S. HANASAKI y M. ENDO, 1987. Pharmacologically active homosesterpenes from Palauan sponge. *Tetrahedron Letters* 28: 431-434.
- OKUKADO, N., 1975. The structure of tedanin, a new carotenoid of *Tedania digitata* (O. Schmidt). *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 48: 1061-1062.
- VÁSQUEZ, M. L. y A. SAN MARTÍN, 1986. Algunos aspectos de la ecología química. Primera Parte: Interacción intraespecífica. *Rev. Chil. Educ. Quím.* 11: 8-15.
- VÁSQUEZ, M. L. y A. SAN MARTÍN, 1987. Algunos aspectos de la ecología química. Segunda Parte: Interacción interespecífica. *Rev. Chil. Educ. Quím.* 12: 20-29.

Recibido: 21.11.89. Aprobado: 29.01.90