

ESTUDIO QUÍMICO DE LAS FRACCIONES ESTERÓLICAS DE ESPONJAS MARINAS RECOLECTADAS EN EL CARIBE COLOMBIANO

CHEMICAL STUDY OF THE STEROLIC FRACTIONS OF MARINE SPONGES COLLECTED IN THE CARIBBEAN COLOMBIAN

MARY CECILIA MONTAÑO, GILMAR GABRIEL SANTAFÉ², ALBERTO ANGULO³, OMAR TORRES⁴

PALABRAS CLAVE:

Eponjas marinas, esteroides, caribe colombiano.

KEY WORDS:

Marine sponges, sterols, caribbean colombian.

RESUMEN

*De las esponjas marinas recolectadas en el Caribe Colombiano *Amorphinopsis atlantica*, *Lissodendoryx carolinensis*, *Mycale microsigmatosa*, *Tedania ignis* y *Niphates erecta* se obtuvieron las fracciones esterólicas, las cuales fueron analizadas por cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas. Se identificaron 51 esteroides (12 en *A. atlantica*, 9 en *L. carolinensis*, 13 en *M. microsigmatosa*, 7 en *T. ignis* y 10 en *N. erecta*), siendo los esteroides con núcleo Δ^5 los que predominan (60.78% de abundancia), seguido de los esteroides con núcleo Δ^7 (21.57%) y por último los esteroides con núcleo Δ^0 (17.64%). Las cadenas laterales de estos compuestos variaron entre 7 y 11 átomos de carbono, algunas saturadas y otras insaturadas en los carbonos C-22 o C-24(28). Se mostraron 16 cadenas laterales diferentes para los 51 compuestos: 6 con diez átomos de carbono, 4 con ocho átomos de carbono, 4 con nueve átomos de carbonos, 1 con siete átomos de carbono y 1 con once átomos de carbonos; seis de estas cadenas laterales propuestas presentan insaturación en el carbono 22 y cuatro de estas cadenas laterales presentan insaturación entre los carbonos 24-28. El compuesto 5α -colestano- 3β -ol para la esponja *A. atlantica* fue el compuesto mayoritario en la fracción esterólica con una abundancia de 48.36%, el compuesto 5α -Colestano- 3β -ol (Colesterol) fue el compuesto mayoritario en las fracciones de las esponjas *L. carolinensis*, *M. microsigmatosa*, *T. ignis* y *N. erecta*, con una abundancia de 66.81%, 49.92%, 33.19% y 23.64%, respectivamente.*

Recibido para evaluación: 2 de agosto. Aprobado para publicación: 10 de agosto

- 1 Químico. Departamento de Química, Universidad de Córdoba.
- 2 Ph. D. Departamento de Química, Universidad de Córdoba. E-mail: gsantafe@sinu.unicordoba.edu.co
- 3 M. Sc. Departamento de Química, Universidad de Córdoba.
- 4 M. Sc. Departamento de Regencia en Farmacia, Universidad de Córdoba.

Correspondencia: gsantafe@sinu.unicordoba.edu.co

ABSTRACT

Sterolic fractions were obtained from the marine sponges *Amorphinopsis atlantica*, *Lissodendoryx carolinensis*, *Mycale microsigmatosa*, *Tedania ignis* and *Niphates erecta* from the Colombian Caribbean coast. These were analyzed in high resolution gas chromatography connected to the mass spectrometry. 51 sterols were identified (12 in the *A. atlantica*, 9 in the *L. carolinensis*, 13 in the *M. microsigmatosa*, 7 in the *T. ignis* y 10 in the *N. erecta*), being the sterols with nucleus Δ^5 the ones that predominate (60.78% in abundance), followed by the sterols with nucleus Δ^7 (21.57%) and finally the sterols with nucleus Δ^0 (17.64%). The lateral chains of these compounds varied between 7 and 11 carbon atoms some of them saturated and others unsaturated in the carbons C-22 and C-24(28). 16 different lateral chains were shown for the 51 compounds: 6 with 10 carbon atoms, 4 with 8 carbon atoms, 4 with 9 carbon atoms, 1 with 7 carbon atoms and 1 with 11 carbon, six of these proposed lateral chains showed instauration in the carbon 22 and four of these lateral chains presented instauration among the carbons 24-28. The compound 5 α -cholestan-3 β -ol for the *A. atlantica* sponge was the majority compound in the sterolic fraction with an abundance of 48.36%, the compound 5 α -cholestan-3 β -ol (cholesterol) was the majority compound in the fractions of the sponges *L. carolinensis*, *M. microsigmatosa*, *T. ignis* and *N. erecta*, with an abundance each one of 66.81%, 49.92%, 33.19% and 23.64%, respectively.

INTRODUCCIÓN

Las esponjas son animales simples, multicelulares y sésiles sin tejidos verdaderos u órganos, que habitan todo tipo de ambiente marino, desde los mares en los polos hasta aguas templadas y tropicales siendo frecuentemente más abundantes y diversas en el trópico [1]. Las esponjas constituyen un grupo de gran éxito evolutivo, que se ha ramificado en más de 8000 especies y son en cierta forma un recurso biológico desconocido [2], a través del tiempo, estos procesos de adaptación a los ambientes acuáticos pudo traer como consecuencia cambios en las membranas celulares, en especial en los fosfolípidos y esteroides que la constituyen, lo cual les permitió adaptarse a su entorno [3].

Las esponjas marinas son una fuente de compuestos químicos con novedosas estructuras, particularmente de esteroides, convirtiéndose en los invertebrados marinos con mayor diversidad estructural con relación a este tipo de compuestos siendo usual encontrar entre 10 y 20 monohidroxiesteroides diferentes en cada especie, sin embargo se ha encontrado que algunos organismos tienen desde un único monohidroxiesteroide mayoritario hasta 74 monohidroxiesteroides diferentes con diversos núcleos y cadenas laterales [4].

En cuanto al papel de los monohidroxiesteroides en las esponjas, este parece ser análogo al del colesterol en los animales superiores [5], hacen parte de la pared celular, encontrándose de hecho que la composición esteróica de las membranas celulares es idéntica a la composición esteróica total [6], sin embargo el por qué de tanta variedad en la composición esteróica de las paredes celulares de las esponjas es aun un enigma sin resolver.

Los anteriores aspectos han derivado en que de los esteroides se tenga abundante información bibliográfica que ha tratado de descubrir el papel biológico que presentan este tipo de compuestos, ya que para algunos organismos marinos se han llegado a emplear como trazadores quimiotaxonómicos [7]. Nuestro grupo de investigación ha contribuido desde hace algún tiempo con el estudio químico y de bioactividad de esteroides aislados de esponjas del Caribe. Son de resaltar los casos de epoxiesteroides, aislados de *Polymastia tenax*, los cuales presentaron actividad antiproliferativa contra células cancerosas [8], en este mismo sentido también se ha reportado la conformación esteróica de aproximadamente siete organismos caribeños [9] destacándose la buena actividad antimicrobiana exhibida por compuestos tipo epidioxiesteróicos obtenidos después

de procesos de oxidación inducidos en los esteroides [10]. Otros trabajos también destacan la alta actividad antibacteriana exhibida por esponjas marinas contra algunos microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos (*Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), y actividad antimicótica contra algunos patógenos del tomate (*Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo atrum*) [11].

En el presente trabajo se muestra un análisis químico de la fracción esterólica de cinco esponjas recolectadas en el Caribe colombiano, como aporte al estudio de los metabolitos secundarios presentes en los organismos marinos de esta región del país.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolección de los organismos marinos: Las esponjas marinas fueron recolectadas en diferentes puntos del Caribe colombiano. Las esponjas *Amorphinopsis atlantica*, *Lissodendoryx carolinensis* y *Mycale microsigmatosa* fueron recolectadas en Caño Salado al norte de la Bahía de Cispatá. Las esponjas *Tedania ignis* y *Niphates erecta* fueron recolectadas en Punta Calao. La ubicación taxonómica de todos los organismos fue realizada en el Instituto de Investigaciones Marinas (INVEMAR) en Santa Marta.

Técnicas Cromatográficas: La Cromatografía en capa delgada (CCD) se realizó en cromatoplasmas de Aluminio de 20 x 20 cm con sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck) y un espesor de 0.2 mm. Como eluyente se utilizaron mezclas de hexano:AcOEt (5:1, 5:2, 5:3, 1:1) y con AcoEt, reveladas con lámpara ultravioleta (longitud de onda 254 y 366 nm) y posteriormente con una solución de ácido fosfomolibdico al 5% en etanol, con posterior calentamiento.

La Cromatografía en columna (CC) fue empacada con sílica gel (0.063-0.200 mm, Merck) y como fase móvil se emplearon mezclas de polaridad creciente hexano: AcOEt (5:1, 5:2, 5:3, 1:1), pasando a AcOEt, después

empleando el sistema AcOEt:metanol (1:1) y finalmente metanol.

Los análisis por Cromatografía de Gases de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas (CGAR-EM) para las fracciones esterólicas de las esponjas *Lissodendoryx carolinensis*, *Mycale microsigmatosa* y *Niphates erecta*, se realizaron en un equipo Agilent 6890N utilizando una columna HP-5, (0.25 mm*30m*0.25µm) y Helio como gas de arrastre a 4.0 mL/min. La temperatura de la columna se mantuvo a 250 °C y el volumen de inyección de 1 µL con un tiempo de corrida de 45 minutos. El detector empleado fue un espectrómetro de masas Agilent 5973 a modelo scan, con una fuente de ionización de 70 eV. Para las mezclas esterólicas de las esponjas *Amorphinopsis atlantica* y *Tedania ignis*, el análisis por CGAR-EM se realizó en un equipo Shimadzu GC-17A, utilizando una columna capilar de Sílica fundida HP-1 (20m x 0.2 mm di) y Helio como gas de arrastre a 10 mL/min a una temperatura de calentamiento de 270 °C, con una relación de split 1:10 y un volumen de inyección de 1 a 2.0 µL. Se utilizó como detector, un Espectrómetro de masas Shimadzu modelo QP-5050A con una fuente de ionización de 70 eV y un filamento de 60 µA, mantenida a una temperatura de 300 °C. Como patrón de referencia se tomó el Colesterol.

Obtención del extracto primario: Una vez recolectados los organismos fueron cortados en trozos pequeños para ser sometidos a extracciones sucesivas a temperatura ambiente con metanol. Posteriormente, se filtró y el solvente fue eliminado mediante destilación a presión reducida empleando un rotavaporador Büchi R-114.

Obtención de las fracciones esterólicas: Los extractos metanólicos de cada una de las esponjas se sometieron a un proceso de partición empleando solventes de polaridades diferentes (diclorometano y agua) siguiendo una adaptación del método de Kupchan [12]. La fase de diclorometano fue concentrada a presión reducida para obtener la fracción de DCM (fracción CH₂Cl₂), la cual posteriormente fue sometida a fraccionamiento por cromatografía en columna, obteniéndose varios grupos de fracciones reunidas bajo un perfil similar en CCD. Se

procedió a realizar una CCD a las fracciones reunidas empleando como fase móvil mezclas de hexano:AcOEt y como referencia Colesterol; analizando los resultados obtenidos se escogieron las fracciones esterólicas para continuar la investigación.

Para continuar con la identificación de los compuestos presentes en estas fracciones seleccionadas, fue necesario terminar de purificar las fracciones esteroideas empleando de nuevo CC y monitoreando con CCD, utilizando como referencia colesterol. Una vez terminado este proceso de separación y purificación de las fracciones esterólicas, se procedió a analizarlas por CGAR-EM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con el proceso anterior, se obtuvieron para cada organismo estudiado sus correspondientes extractos metanólicos y fracciones de diclorometano. Los pesos finalmente obtenidos se describen en la Tabla 1.

Después de los procesos de fraccionamiento y purificación de los extractos metanólicos y de las fracciones de DCM correspondientes a las esponjas marinas estudiadas, se obtuvieron las subfracciones esterólicas con una movilidad en CCD similar a la mostrada por el colesterol (sustancia de referencia), las cuales se sometieron de nuevo a un proceso cromatográfico para ser posteriormente analizadas por CGAR-EM. Las cantidades obtenidas se ilustran en la tabla 2.

El análisis cromatográfico y el análisis de los espectros de masas obtenidos para las fracciones esterólicas de las esponjas, muestra que para *A. atlantica* la fracción tiene una mezcla de esteroides cuya composición es de 12 compuestos, encontrándose cuatro compuestos mayoritarios [3, 4, 5 y 11], siendo a su vez el compuesto 4 el que se encuentra en mayor proporción (48.36%). Para la esponja *L. carolinensis*, el análisis cromatográfico muestra la presencia de al menos 14 compuestos de naturaleza esteroidea con tres compuestos mayoritarios [4, 8 y 9] siendo el compuesto 8 el más abundante con

Tabla 1. Peso extracto metanólico primario y la fracción de diclorometano (DCM).

Esponja	Ext. Metanólico (g)	Frac. DCM (g)
<i>A. atlantica</i>	16.906	0.371
<i>L. carolinensis</i>	19.932	1.396
<i>M. microsigmatosa</i>	34.488	0.533
<i>T. ignis</i>	24.198	2.518
<i>N. erecta</i>	9.227	1.020

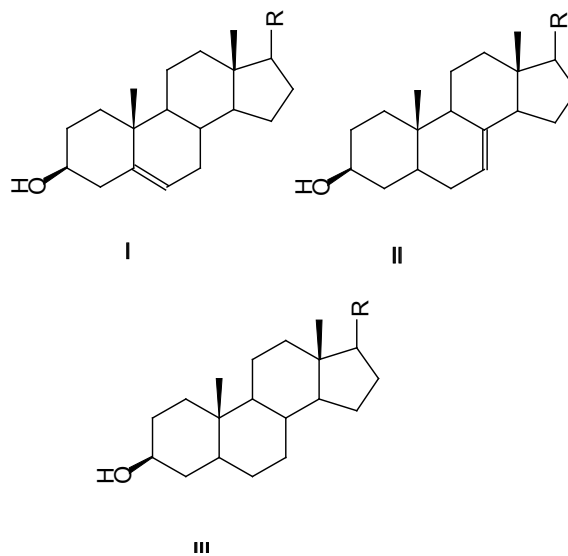
Tabla 2. Peso fracciones esterólicas obtenidas para cada esponja

Esponja	Mezcla esterólica (g)
<i>A. atlantica</i>	0.141
<i>L. carolinensis</i>	0.106
<i>M. microsigmatosa</i>	0.021
<i>T. ignis</i>	0.625
<i>N. erecta</i>	0.056

un 66.81%; por su parte, la fracción esterólica de la esponja *M. microsigmatosa* tiene presente 13 esteroides de los cuales cuatro compuestos son los más abundantes [4, 5, 7 y 10] y entre ellos el mayoritario es el compuesto 4 con un porcentaje de abundancia de 49.92%. En el cromatograma de la fracción esterólica de la esponja *T. ignis* se observan 13 señales, lo que indica que la composición de esta mezcla es de 13 esteroides, seis de ellos mayoritarios [1, 2, 5, 9, 11 y 12], siendo a su vez el compuesto 2 el más abundante con un 33.19%. Para la esponja *N. erecta*, el análisis cromatográfico de la fracción esterólica muestra la presencia de por lo menos 10 compuestos de naturaleza esteroidea, de los cuales cuatro son los compuestos mayoritarios [5, 6, 7 y 10] siendo el compuesto 5 el más abundante con un 23.64%. De las cinco esponjas estudiadas fueron identificados 51 compuestos esterólicos, siendo los esteroides con núcleo Δ^5 los que predominan (60.78% de abundancia), seguido de los esteroides con núcleo Δ^7 (21.57%) y por último los esteroides con núcleo Δ^0 (17.64%) (figura 1).

Las cadenas laterales (R) de estos compuestos variaron entre 7 y 11 átomos de carbono encontrándose

Figura 1. Diversidad de núcleos presentes en los compuestos esterólicos de las esponjas marinas estudiadas. Núcleo Δ^5 (I), núcleo Δ^5 (II) y núcleo Δ^0 (III). R: cadena lateral.



algunas saturadas y otras insaturadas en los carbonos C-22 o C-24(28). Se identificaron 16 cadenas laterales diferentes para los 51 compuestos (figura 2).

De todas las cadenas laterales propuestas, 6 tiene diez átomos de carbono, 4 presentan ocho átomos de carbono, 4 con nueve átomos de carbonos, 1 con siete átomos de carbono y 1 con once átomos de carbonos; seis de estas cadenas laterales propuestas presentan insaturación en el carbono 22 y cuatro de estas cadenas laterales presentan insaturación entre los carbonos 24-28. Todos los compuestos esterólicos identificados se presentan en la tabla 3.

En lo referente al análisis de los espectros de masas obtenidos se verificó la presencia de los iones característicos generales para monohidroxiesteroles, entre los cuales deben resaltarse los iones: M^+-15 ($M-CH_3$), M^+-18 ($M-H_2O$), M^+-33 ($M-[CH_3+H_2O]$), M^+-43 (M -propilo o isopropilo), M^+-57 (M -butilo), M^+-61 (M -[propio o isopropilo + agua]) [7]. De igual manera fueron tenidos en cuenta señales características para cada uno de los núcleos esteroidales: las señales M^+-85 y M^+-111 , junto con las señales en m/z 273, 255, 231 y 213 característicos para el núcleo Δ^5 ; la señal en m/z 246 junto con las señales m/z 273, 255, 231

Figura 2. Diversidad de cadenas laterales (R) presentes en los compuestos esterólicos de las esponjas marinas estudiadas.

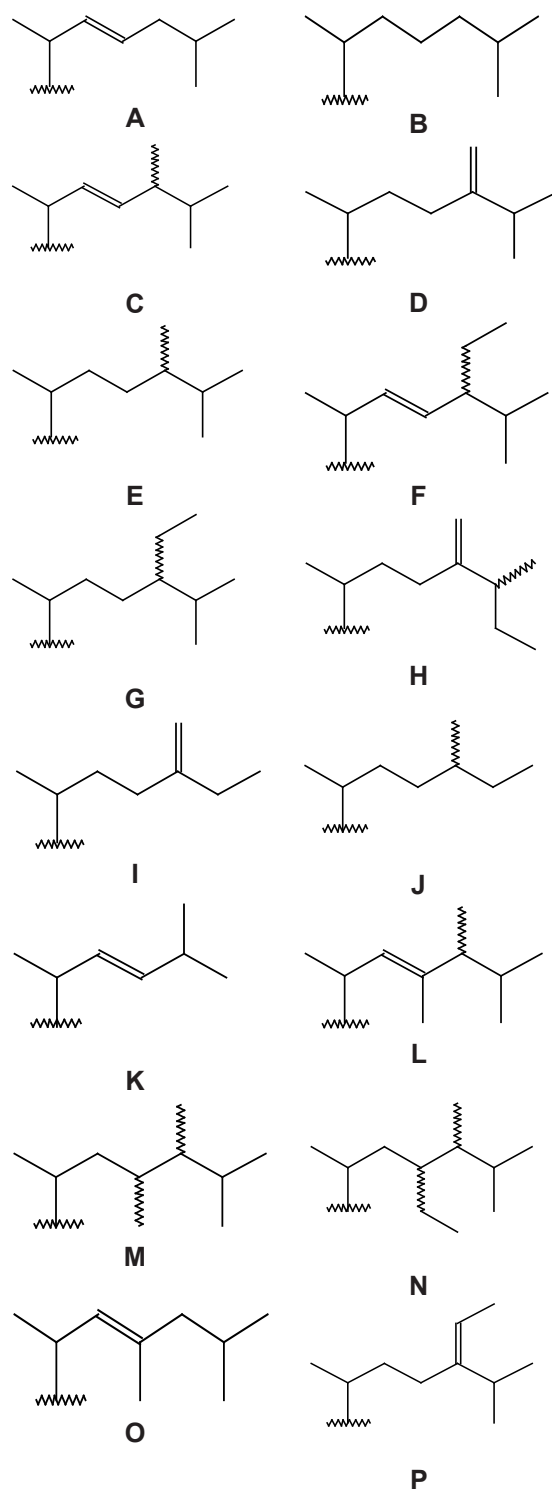


Tabla 3. Compuestos esterólicos identificados para todas las esponjas (A. a: *Amorphinopsis atlantica*, L. c: *Lissodendoryx carolinensis*, M. m: *Myale microsigmatosa*, T. i: *Tedanis ignis* y N. e: *Niphates erecta*). Núc.: núcleo esteroidal, R: cadena lateral y P.M.: peso molecular

Nombre	Núc.	R	P.M.	Compuesto(s)
Colesta-5,22-dien-3 β -ol	I	A	384	Compuestos: 1 de A. a, 6 de L. c, 2 de M. m, 1 de T. i, 2 de N. e
Colest-7-en-3 β -ol	II	B	386	Compuestos: 2 de A. a, 6 de M. m
Colest-5-en-3 β -ol (Colesterol)	I	B	386	Compuestos: 3 de A. a, 10 de L. c, 4 de M. m, 2 de T. i, 4 de N. e
5 α -colestan-3 β -ol	III	B	388	Compuestos: 4 de A. a, 8 de L. c, 3 de T. i
24 ξ -24-metilcolest-5,22-dien-3 β -ol	I	C	398	Compuestos: 5 de A. a, 9 de L. c, 5 de M. m, 5 de N. e
24 ξ -24-metilcolest-7-en-3 β -ol	II	C	400	Compuestos: 6 de A. a, 7 de M. m
24-metilencolest-5,24(28)-dien-3 β -ol	I	D	398	Compuesto 7 de A. a
24 ξ -24-metilcolest-5-en-3 β -ol	I	E	400	Compuestos: 8 de A. a, 9 de T. i, 6 de N. e
24 ξ -24-metil-5 α -colestan-3 β -ol	III	E	402	Compuestos: 9 de A. a, 12 de L. c
24 ξ -24-etilcolest-7,22-dien-3 β -ol	II	F	412	Compuesto 10 de A. a
24 ξ -24-etilcolest-5-en-3 β -ol	I	G	414	Compuestos: 11 de A. a, 10 de M. m, 12 de T. i
24,25 ξ ,27-trimetilcolest-7,24(28)-dien-3 β -ol	II	H	412	Compuesto 12 de A. a
5 α -Colest-22-en-3 β -ol	III	A	386	Compuesto 7 de L. c
24-metilen-5 α -27-Nor-Colest-24(28)-en-3 β -ol	III	I	384	Compuesto 11 de L. c
24 α -24-metil-5 \square -27-nor-Colestan-3 β -ol	III	J	388	Compuesto 13 de L. c
24 ξ -24-etil-5 α -Colestan-3 β -ol	III	G	414	Compuesto 14 de L. c
24-metil-26-nor-27-nor-Colesta-5,22-dien-3 β -ol	I	K	370	Compuestos: 1 de M. m, 1 de N. e
Colesta-7,22-dien-3 β -ol	II	A	384	Compuestos: 3 de M. m, 3 de N. e
24 ξ -23,24-dimetilcolest-5,22-dien-3 β -ol	I	L	412	Compuesto 8 de M. m
24 ξ -24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol	I	F	412	Compuestos: 9 de M. m, 11 de T. i, 8 de N. e
23 ξ ,24 ξ -23,24-dimetilcolest-5-en-3 β -ol	I	M	414	Compuesto 11 de M. m
24 ξ -24-etilcolest-7-en-3 β -ol	II	G	414	Compuestos: 12 de M. m, 9 de N. e
23 ξ -24 ξ -23-etil-24-metilcolest-5-en-3 β -ol	I	N	428	Compuesto 13 de M. m
23-metilcolest-5,22-dien-3 β -ol	I	O	398	Compuesto 5 de T. i
24-etilcolest-5,24(28)-dien-3 β -ol	I	P	412	Compuesto 7 de N. e
24-etilcolest-7,24(28)-dien-3 β -ol	II	P	412	Compuesto 10 de N. e

y 213 fueron tenidos en cuenta para asignar el núcleo Δ^7 ; las señales en m/z 275, 257, 233, 231, 215 y 213 características del núcleo Δ^0 [7].

Para la asignación de la insaturación en la cadena lateral se tuvieron en cuenta las señales M^+ -cadena lateral (m/z 273 o 275 para esteroides Δ^5 - Δ^7 y Δ^0 respectivamente) y m/z 300 para la insaturación en el carbono 22 o 314 para la insaturación entre los carbonos 24-28 cuando el núcleo esteroidal es Δ^5 - Δ^7 o las señales en m/z 302 para la insaturación en el carbono 22 o 316 para la insaturación entre los carbonos 24-28 cuando el núcleo esteroidal es Δ^0 .

Los resultados obtenidos a partir del análisis de los espectros de masas fueron también comparados con datos de la bibliografía consultada obtenidos de estudios realizados bajo condiciones similares [13].

La diversidad de núcleos esteroidales y de cadenas laterales asignadas, así como también la abundancia de la fracción esterólica obtenida a partir de las fracciones de diclorometano de las esponjas, reflejan la constante y gran presencia de esta clase de metabolitos en el Phylum *Porifera*.

CONCLUSIONES

De las esponjas marinas *Amorphinopsis atlantica*, *Lissodendoryx carolinensis*, *Mycale microsigmatosa*, *Tedania ignis* y *Niphates erecta* recolectadas en el Caribe colombiano, se obtuvieron las fracciones esterólicas, las cuales fueron analizadas por cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas lográndose identificar 51 monohidroxiesteroides en total. Con respecto a los núcleos esteroidales, se verificó la presencia de núcleos Δ^5 , Δ^0 y Δ^7 ; en cuanto a su diversidad, se encontró que predominaron los Δ^5 con 31 esteroides, seguido por los Δ^7 con 11 esteroides y finalmente el núcleo Δ^0 , el cual hace parte de 9 compuestos.

Las cadenas laterales de estos compuestos varían entre 7 y 11 átomos de carbonos, algunas saturadas

y otras insaturadas en los carbonos C-22 o C-24(28). Se identificaron 16 cadenas laterales diferentes para los 51 compuestos: 6 con diez átomos de carbono, 4 con ocho átomos de carbono, 4 con nueve átomos de carbonos, 1 con siete átomos de carbono y 1 con once átomos de carbonos. Referente a la insaturación, seis de estas cadenas laterales la presentaron en el carbono 22 y cuatro de estas cadenas laterales la presentaron entre los carbonos 24-28.

El compuesto 5α -colestan- 3β -ol para la esponja *A. atlantica* fue el compuesto mayoritario en la fracción esterólica con una abundancia de 48.36%, el compuesto 5α -Colestan- 3β -ol (Colesterol) fue el compuesto mayoritario en las fracciones de las esponjas *L. carolinensis*, *M. microsigmatosa*, *T. ignis* y *N. erecta*, con una abundancia de 66.81%, 49.92%, 33.19% y 23.64%, respectivamente. Los compuestos 5α -Colestan- 3β -ol (Colesterol) y Colesta-5,22-dien- 3β -ol estuvieron presentes en las fracciones esterólicas de todas las esponjas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Córdoba, en Montería, por la financiación del trabajo. M. Montaña agradece a COLCIENCIAS por una beca de Joven Investigador 2007. Al Dr. Sven Zea de INVEMAR por la clasificación taxonómica de las esponjas marinas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Newbold, R., Jensen, P., Fenical, W. y Pawlik, J. (1999). Antimicrobial activity of Caribbean sponge extracts. *Aquatic Microbial Ecology*, 19: 279-284.
- [2] Carvalho, M., Hajdu, E., Mothes, B. y Van Soest, R. (2004). *Amorphinopsis* (Halichondrida: Demospongiae) from the Atlantic Ocean, with the description of a new species. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 84(5): 925-930.
- [3] Castellanos, L. y Duque, C. (2008). Composición Química y Actividad Antifouling de la Fracción

- Lipídica de la Esponja Marina *Cliona tenuis* (Clionidae). *Rev. Colomb. Quím.* 37(3): 259-274.
- [4] Martínez, A. (2002). Documento sobre Esteroles. Universidad de Antioquia. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esteroles2001.pdf>
- [5] Nes, W. y McKean, M. (1997). Biochemistry of steroids and other isoprenoids. *University Park Press, Baltimore*: 425-427.
- [6] Kerr, R. y Baker, B. (1991). Marine Sterols. *Nat. Prod. Rep.*, 8: 465-497
- [7] Duque, C., Castillo, G., Buitrago, S., Osorno, O. y Zea, S. (1994). Esteroles Libres Monohidroxilados de la Esponja Marina *Agelas Schmidtii* (Wilson, 1902). *Rev. Colomb. Quím.* 23(1): 63-73.
- [8] Santafé, G., Paz, V., Rodríguez, J. y Jiménez, C. (2002). Novel cytotoxic oxygenated C-29 sterols from the Colombian marine sponge *Polimastia tenax*. *J. Nat. Prod.*, 65:1161-1164.
- [9] Santafé, G., Vargas, Y., Hoyos, L., Torres, O., Zuluaga, J. (2005). Estudio químico de las fracciones lipídicas de esponjas marinas de Córdoba (Colombia). *Actualidades Biológicas*, 27: 95-100.
- [10] Galeano, P., Torres, O., Angulo, A., Zuluaga, J. y Santafé G. (2007) Obtención de sustancias antimicrobianas a partir de esponjas de la Bahía de Cispatá. *Scientia et Technica, XIII, Vol 33:221-224*.
- [11] González, C., Pareja, A., Márquez, M., Márquez, D., Martínez, A. e Higueta, E. (2005). Efecto Citotóxico y Clastogénico en Linfocitos Humanos de la Fracción de 5 β , 8 β - Epidioxiesteroles de la Esponja Marina *Ircinia campana* del Caribe Colombiano. *Acta Farm. Bonaerense* 24(1): 75-79.
- [12] González, N., Barral, M., Rodríguez, J. y Jiménez, C. (2001). New cytotoxic steroid from the gorgonian *Isis hippuris*. Structure – activity studies. *Tetrahedron*, 57(16): 3487–3497.
- [13] Castellanos, L. (1999). Composición Esterólica de Esponjas del Orden *Halichondrida* (Porifera, Demospongiae) del Caribe Colombiano y su Significancia como Carácter Químico de Clasificación. Santafé de Bogotá; 340 pág. Trabajo de grado (Magíster en Química). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Posgrado en Química.