

I. RESUMEN

El presente informe final contiene lo referente al tamizaje fitoquímico realizado a basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivado en laboratorio a partir de cepas nativas provenientes de Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún, Tecpán.

La investigación tenía como objetivo determinar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios tales como: alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites esenciales en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* además de determinar si existe diferencia en la producción de estos metabolitos secundarios por el origen geográfico de la cepa.

Es un estudio descriptivo y se desarrolló en tres etapas: a) Recolecta de las muestras de basidiomas cultivados en el departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. b) Secado, molienda y preparación de los extractos c) Análisis de la presencia o ausencia de las familias de metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico a través de pruebas específicas vía húmeda, cromatografía en capa fina, cromatografía de gases para cada grupo de metabolitos seleccionado de acuerdo a la metodología descrita en el Manual 2005 de Operaciones de Tamizaje Fitoquímico del Laboratorio de Investigación en Productos Naturales –LIPRONAT–.

De los ocho grupos de metabolitos estudiados, se determinó que se encuentran presentes dos grupos: alcaloides y cumarinas. Los alcaloides encontrados poseen polaridad similar a los alcaloides presentes en la Quina. Se determinó que los metabolitos secundarios encontrados se encuentran presentes en las 5 cepas estudiadas por lo que no hay diferencia en la presencia de alcaloides y cumarinas por su origen geográfico.

II. INTRODUCCIÓN

El hongo *Schizophyllum commune* Fr. (nombre común: asam, oreja de palo) se caracteriza por ser comestible y por su alto valor nutritivo similar al de las hortalizas comunes, su bajo contenido de calorías y por poseer minerales como calcio, hierro y potasio. Se le puede encontrar creciendo en troncos muertos de árboles, ya que es saprobio (Bran, 2003).

En Guatemala este hongo se comercializa en mercados de varias localidades de los departamentos de Alta Verapaz y Petén y se consume también en algunas comunidades del occidente del país, en donde se colecta de manera artesanal en los bosques de la región (Bran, 2009).

Además se ha encontrado que *S. commune* tiene efecto contra el cáncer, y se ha logrado aislar un polisacárido (Schizophyllano), el cual ha demostrado ser citostático en sarcoma de 180 tumores senográficos, siendo aprobado en Japón para su uso clínico (Daba, 2003).

Los componentes activos de *S. commune* son glucanos que actúan como antitumorales e inmunomoduladores. Debido a ésto se han realizado estudios acerca de la producción de exopolisacáridos (EPS) y su posible relación con la actividad biológica (Bolla, 2008).

Schizophyllano es un biopolímero aislado de *S. commune* y podría proteger a los ratones frente a infecciones de *Pseudomonas*. Reduce el crecimiento de bacterias de *Pseudomonas aeruginosa*. También mostró efecto protector contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, así como infecciones virales en ratones (Hobbs, 2005).

Actualmente el Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, ha estudiado la tecnología de su reproducción con fines alimenticios. Para ello se cultivaron cinco cepas a nivel de laboratorio proveniente de localidades donde se utiliza como alimento: Jacaltenango, (Huehuetenango), Tactic, Carchá (Alta Verapaz), Poptún

(Peten) y Tecpán (Chimaltenango).

Con los hongos producidos se inició la presente investigación la cual utilizó los basidiomas cultivados en laboratorio y se realizó una extracción con solvente, se continuó con el desarrollo de las pruebas que determinaron la presencia o ausencia de metabolitos secundarios (tamizaje fitoquímico).

Las pruebas para determinar las familias de metabolitos secundarios fueron por vía húmeda, cromatografía en capa fina y por cromatografía de gases. Los esteroides o triterpenoides y taninos se determinaron solo por vía húmeda, mientras que alcaloides, antraquinonas, principios amargos, flavonoides, cumarinas, saponinas y antocianinas se determinaron tanto por vía húmeda como por cromatografía en capa fina (CCF). En el caso de los aceites esenciales se determinaron por cromatografía de gases acoplado a masas.

III. ANTECEDENTES

A. HONGOS COMESTIBLES

Los hongos comestibles pueden dividirse en dos grandes grupos: los saprobios, que utilizan la materia orgánica en descomposición y los micorrícicos, que forman simbiosis mutualista con las raíces de las plantas, principalmente con las de interés forestal. El valor nutritivo de los hongos, se centra en su contenido mineral y vitamínico, similar al de las hortalizas comunes. Contiene cantidades utilizables de vitamina C y del complejo B, además de minerales como calcio, hierro, fósforo y potasio, importantes para una dieta balanceada. Poseen un alto contenido proteico en peso seco y son bajos en calorías, carbohidratos y grasas (Bran, 2003).

Los hongos han sido valorados desde hace tiempo por sus propiedades comestibles en países de Asia y Europa. En China, han sido utilizados a través de generaciones como suplementos alimenticios y como tónico para el sistema inmune, aumentando la longevidad y salud en general de las personas. Se conoce una gran variedad de hongos con propiedades comestibles y terapéuticas, tales como *Lentinula edodes* (shiitake), *Hericium erinaceus*, *Auricularia auricula*, *Flammulina velupites*, *Tremella fuciformis*, *Volvariella volvaceae* y *Grifola frondosa* (maitake), tomando este último, gran relevancia en los últimos años; en Guatemala se han realizado estudios acerca de su propiedad inmunomoduladora mostrando actividad (Lorenzana, 2009).

Muchas setas son comestibles, como *Agaricus brunescens*, el champiñón más común del mercado. Con todo, algunas setas (menos del 1 %) son venenosas. En la etapa de primordio, el aspecto de las setas comestibles y de las venenosas suele ser muy similar. Generalmente, las toxinas de las setas venenosas son alcaloides, y las diferentes especies varían mucho en la cantidad de toxinas que contienen. La ingestión de cantidades no letales de las toxinas de

algunas setas puede causar vívidas alucinaciones, lo que explica el uso de estos hongos en ciertas ceremonias religiosas (Rippon, 1990).

Las setas silvestres comestibles se han consumido en Guatemala desde la época precolombina, sin embargo el cultivo se inició hasta el final de la década de 1950 (*Agaricus bisporus*). Aunque se estableció a escala comercial en la década de 1970. El cultivo de *Lentinula edodes* inicia en 1979, y hasta 1991 se utilizó aserrín de roble como sustrato para la reproducción del hongo. Para el año 2002 se tienen registros de que en Guatemala se producen cerca de 68 toneladas de *A. bisporus* y *A. bitorquis*; 34 toneladas de *L. edodes* y 29 toneladas de *Pleurotus* por año. Experimentalmente se han reproducido otros hongos como *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea*, también *Pholiota nameko* a partir de 1995 y *S. commune* (De Leon, 2003).

Los estudios de hongos comestibles en Guatemala son muy escasos; sin embargo, los trabajos que tratan este tema hasta el año 2001 se han reportado alrededor de 60 especies, en su mayoría documentadas en los mercados de las cabeceras departamentales y en algunos municipios como San Juan Sacatepéquez, Sumpango, Sacatepéquez, Todos Santos Cuchumatán y San Mateo Ixtatán, Huehuetenango y Tecpán Chimaltenango (Bran, 2003).

B. GENERALIDADES DE *Schizophyllum commune*.

1. Clasificación Taxonómica: pertenece al filo *Basidiomycota*, Orden Agaricales, familia *Schizophyllaceae*, su nombre científico es *Schizophyllum commune*, y se le conoce como oreja de palo o Asam (idioma Q'eqchi').

2. Distribución Geográfica: Todo el territorio Guatemalteco.

3. Descripción: Hongo en forma de repisas en abanicos, de 1 a 3 cm de ancho, blanquecinas o de color gris-blanquecino y cubiertas profusamente de pequeños pelos en la superficie de arriba. La superficie inferior presenta láminas gruesas,

parduscas o grises, con ciertos tonos violáceos, divididas longitudinalmente en dos (observar este carácter con una lupa y si es posible en un corte transversal; ésta es la característica típica del género *Schizophyllum*) (del latín *schizos*=dividido y *phyllum*=lámina). Generalmente no hay pie o éste es muy pequeño. Las esporas son de 3-5 X 1-2 µm, cilíndrico-ovaladas, *hialinas* y lisas. Los basidios son de 15-22 X 4-5 µm, *hialinos* cilíndricos, con la base angosta (Gastón, 2003).

Su característica más distintiva es la presencia de ranuras o agallas divididas longitudinalmente en la cara inferior del sombrerillo (*píleo*) de color blanco en forma de concha o abanico de 1-4 cm. de ancho, y tiene una superficie superior que es densamente peluda (Hall, 2003).

4. Hábitat: Este hongo aparece en pequeños grupos o filas en las ramas muertas de los árboles. Es uno de los más ampliamente distribuidos de todos los hongos y se encuentra en todo el mundo. Se recoge para el consumo humano en grandes zonas de los trópicos de África y Asia. Los cuerpos fructíferos son a menudo consumidos sin cocer, masticado o utilizado en las sopas. Este hongo ha sido reportado para curar leucorrea, para servir como tónico general, y de tener propiedades antitumorales (Hall, 2003).

Común sobre troncos tirados o cercados, en donde crece en grandes conjuntos, siempre en lugares soleados. Es un hongo comestible, muy empleado en Guatemala y en ciertas poblaciones de Oaxaca y Veracruz, en donde es vendido en los mercados populares a pesar de su consistencia correosa y poco apetecible (Gastón, 2003).

5. Producción de Cuerpos Fructíferos de Cepas Nativas de *Schizophyllum commune*: En el año 2008 la Universidad de San Carlos de Guatemala; a través de la Dirección General de Investigación; financió estudios para caracterizar y producir cuerpos fructíferos del hongo *Schizophyllum commune*. Debido a que *S. commune* es factible de ser cultivado, utilizando para ello los residuos de madera

que genera la industria maderera del país (Bran, 2009).

En dicho estudio se evaluó el crecimiento miceliar de cinco cepas nativas de *Schizophyllum commune* en diferentes medios de cultivo y temperaturas, se produjo el inóculo sobre diferentes vehículos y se determinó la fructificación sobre varios desechos agrícolas y forestales.

Como producto de esta investigación se establecieron las condiciones de cultivo de cada una de las cepas evaluadas (Bran, 2009).

Actualmente en Guatemala, gracias al financiamiento otorgado por la Universidad de San Carlos de Guatemala, se conoce ya su importancia como hongo comestible de uso tradicional y además, se han aislado diferentes cepas. Si bien, dichos estudios preliminares han proporcionado importante información básica, aún es necesario conocer las cepas aisladas caracterizándolas *in vitro*, así como estudiar su cultivo para fines de producción de cuerpos fructíferos. También es necesario determinar qué familias de metabolitos secundarios se encuentran presentes en dichas cepas (Bran, 2009).

C. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DE *Schizophyllum commune*

1. Schizophyllano

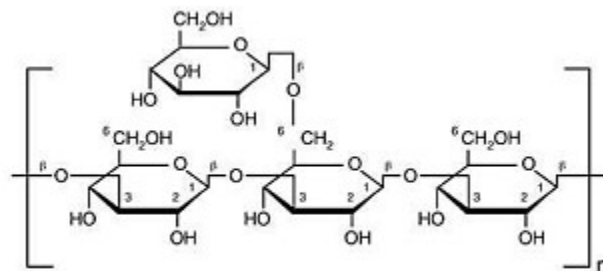
El Schizophyllano (SPG) es un polisacárido derivado de la seta de *Schizophyllum commune* que ha demostrado ser citostático en sarcoma de 180 tumores senográficos. Varios ensayos clínicos han sido llevados a cabo en Japón, siendo aprobado su uso clínico en este país. Estudios clínicos tempranos con SPG en combinación con la quimioterapia convencional en un estudio controlado aleatorio de 367 pacientes con cáncer gástrico recurrente e inoperable mostró un aumento significativo de la media de supervivencia. También mostró un aumento en la supervivencia de pacientes con cáncer de cuello uterino en etapa II en combinación con radioterapia. En un estudio prospectivo, ensayo clínico aleatorio que involucro a 312 pacientes tratados con cirugía, radioterapia, quimioterapia

(fluorouracilo) y SPG en varias combinaciones, mostró que los pacientes tratados con SPG tenían una mayor supervivencia global que los pacientes que no habían recibido el polisacárido. Actualmente el SPG se produce comercialmente por varias empresas farmacéuticas japonesas (Daba, 2003).

Los componentes activos de *S. commune* son β -glucanos que actúan como antitumorales e inmunomoduladores. Es buena fuente de proteínas, vitaminas, lípidos y minerales para aquellos que valoran la seta (Bolla, 2008).

El SPG es un homopolisacárido soluble en agua no iónico que consiste en una cadena lineal de β -D-1,3-glucopiranosil, producido por la fermentación de hongos filamentosos tal como *S. commune* (Bolla, 2008).

Esquema 1. Estructura de SPG



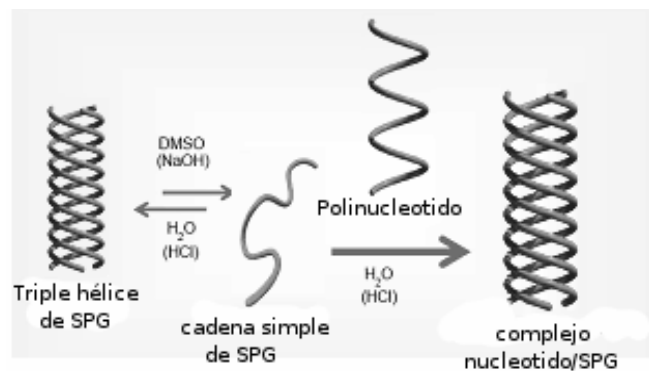
Además de las sustancias nutrientes tales como proteína, fibra, y minerales, el análisis de las muestras de *S. commune* muestran que produce por lo menos tres biopolímeros identificados en un medio de cultivo acuoso de 24 kDa *hydrophobina* (son pequeñas proteínas compuesto de ocho residuos de cisteína), una proteína de 17 kDa y SPG con un peso molecular medio (MW) de 100.000 a 150.000 . Con mucho, el glucano más ampliamente investigado en el *S. commune* es el SPG que es soluble en agua y de triple cadena de hélice y se comercializa bajo diferentes marcas comerciales: SPG, Sizofiran, Sonifilan, y Sizofilan (Hobbs, 2005).

a) *Propiedades Inmunomoduladoras*

Los inmunocéuticos son polisacáridos que tienen un efecto como inmunomoduladores cuando se administran vía oral. Más de 50 especies de hongos han dado el potencial como inmunocéuticos que presentan actividad anticancerígena *in vitro* o en modelos animales (Daba, 2003).

Las propiedades inmunomoduladoras de SPG dependen de sus patrones de ramificación, peso molecular, y la conformación estructural, como la triple hélice. Más ramificaciones le confiere una mayor actividad.

Esquema 2. Triple Hélice de SPG



S. commune influye en la actividad de β -D-1,3-glucanos de modo que la actividad de las poblaciones silvestres se puede suponer que varía, dependiendo de la cepa, así como el momento del año que se cosecha, el proceso de extracción y la duración de almacenamiento (Hobbs, 2005).

Schizocommunina, un derivado de indol, estaño índigo (índigo), indirubina, isatina y tryptanthrina son todos aislados de un medio de cultivo acuoso de *S. commune*. Schizocommunina mostró citotoxicidad con células de linfoma murino (Hobbs, 2005).

b) *Protección contra las infecciones*

SPG podría proteger a los ratones frente a *Pseudomonas*. La infección por *P. aeruginosa*, reduciendo el crecimiento de bacterias y el aumento de la actividad bactericida de células peritoneales de exudado. El tratamiento con SPG también mostró un efecto protector contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Klebsiella pneumoniae* en infecciones en los ratones (Hobbs, 2005).

c) *Efectos antivirales*

Los estudios preliminares con SPG mostró protección contra las infecciones virales en ratones, pero no humanos.

Los ratones con infección por el virus de Sendai y el camarón con infección por el virus Kuruma, *Penaeus japonicus*, mostraron un aumento en las tasas de supervivencia y con mayor actividad fagocítica i.p. por administración vía oral de SPG, lo que sugiere un efecto protector contra la infección viral en los animales e invertebrados (Hobbs, 2005).

d) *Efectos hepatoprotectores*

También hay indicios (in vitro) de que las enfermedades crónicas en pacientes con hepatitis B podrían beneficiarse de SPG, porque SPG puede mejorar la respuesta inmunológica a el virus (Hobbs, 2005).

2. Lectinas

Las lectinas son un grupo heterogéneo de proteínas o glucoproteínas de origen no inmune que se unen de manera específica y reversible a los carbohidratos de los glicoconjugados. Estas proteínas son omnipresentes en la naturaleza y se producen en animales, plantas, bacterias, virus y hongos. La mayoría de las lectinas juegan un papel crucial en la diversos procesos biológicos,

en particular en los mecanismos de defensa del huésped, la inflamación y la metástasis. Debido a su especificidades de unión, las lectinas se emplean en bioquímica e investigación clínica (Chumkhunthod, 2006).

La lectina *Schizophyllum commune* (SCL) mostró una alta afinidad hacia los eritrocitos de rata y el ensayo de inhibición de azúcar exhibió su gran especificidad de azúcar hacia la lactosa y N-acetil-D-galactosamina. La lectina (SCL) ha demostrado ser una glicoproteína con actividad citotóxica contra las células de carcinoma epidermoide. El SCL mostró su actividad citotóxica frente a células humanas de cáncer de modo que la lectina merece ser un agente potencial para el tratamiento del cáncer (Chumkhunthod, 2006).

D. ANÁLISIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Un metabolito secundario es aquella sustancia que produce un organismo (planta, animal, u hongo) a partir de un metabolito primario. Se clasifica como metabolito primario a aquellas sustancias que son esenciales para un organismo como carbohidratos, lípidos, proteínas o aminoácidos. Los metabolitos secundarios poseen varias funciones que son específicas para cada familia. La determinación de metabolitos secundarios lo realiza la Escuela de Química a través de su Departamento de Química Orgánica. A la fecha se han realizado siete trabajos de tesis de Licenciatura en Química relacionados con el tamizaje fitoquímico, pero ninguno se ha realizado sobre hongos.

1. Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico permite determinar cualitativamente las principales familias de metabolitos secundarios presentes en un organismo. La extracción se hace con solventes que sean apropiados, como siguiente paso se realizan pruebas de coloración y análisis por cromatografía en capa fina. En resumen este es un análisis rápido, las reacciones son sensibles, reproducibles y de bajo costo.

2. Cromatografía en Capa Fina

El análisis por cromatografía en capa fina o CCF consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una cromatoplaca. La cromatoplaca esta constituida por un adsorbente que se le conoce como fase estacionaria, este puede ser sílica gel que se encuentra retenido sobre una superficie plana de vidrio o aluminio. Sobre la cromatoplaca se aplica con ayuda de un capilar la extracción de la muestra a una distancia de 1 cm. del borde inferior. Cuando la cromatoplaca se encuentra seca se procede a colocarla horizontalmente dentro de una cámara cromatográfica previamente saturada con la fase móvil adecuada para la separación (LIPRONAT, 2005).

E. GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Los basidiomicetos presentan una gran capacidad de producción de metabolitos secundarios con actividad biológica entre ellos se pueden mencionar sesquiterpenos (*Marasmius*), diterpenoides (*Cyathus*), acetilenos (*Clitocybe*) (Brizuela, 1998), triterpenoides, flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, hidroquinonas, esteroides (Lindequist, 2005).

1. Alcaloides

Son sustancias orgánicas con actividad fisiológica sobre el sistema nervioso central muy intenso y más o menos tóxico en dosis pequeñas. El nitrógeno forma parte de su estructura y se presentan combinados con ácidos orgánicos o taninos. El nitrógeno por lo general forma parte de un sistema heterocíclico. Se forman a partir de aminoácidos. Existen alcaloides que no derivan de aminoácidos y se llaman pseudoalcaloides, también los hay en que el nitrógeno no forma parte de un sistema cíclico y son básicos; a éstos se les denomina protoalcaloides (Bruneton, 2001).

Se extraen con agua, alcohol, bases o disolventes orgánicos apolares. Se determinan cualitativamente con reacciones de color y precipitación con los reactivos de Mayer, Draggendorff, Wagner y cromatografía en capa fina (LIPRONAT, 2005).

2. Antraquinonas

Son metabolitos con funcionalidad *p*-quinoide en un núcleo antracénico. Su biogénesis tiene lugar por la ruta de malonil-CoA, en el caso de los hongos. Aunque puede ser sintetizado por otras rutas en el caso de plantas superiores. Actualmente se cree que son productos de desintegración enzimática de las antronas y antronoles y no se encuentran como tales en los organismos (Bruneton, 2001).

Poseen ciertas características estructurales como grupos hidroxilo en C-1 y C-8, un grupo metilo, hidroximetileno o carboxilo en C-3 y un grupo –OH o –OMe sobre C-6 y pueden encontrarse glicosidados (Bruneton, 2001).

Se identifican mediante las pruebas de Bornträger, Bornträger modificado y cromatografía en capa fina (LIPRONAT, 2005).

3. Principios Amargos

Estos se caracterizan por el sabor amargo y su estructura triterpenoide. Pueden ser monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos. Son estructuralmente terpenoides, principalmente iridoides que pueden presentarse glicosilados derivados del monoterpeno geraniol, con actividad antiinflamatoria, analgésica, estimulante de secreciones gástricas, secoiridoides (iridoides de estructura abierta), sesqui, di y triterpenos, neuroleninas y fundamentalmente lactonas terpénicas, a las que deben su sabor (Bruneton, 2001).

Se encuentran en hongos y briofitas, así como en algunas angiospermas de las familias Asteraceae (Bruneton, 2001).

Se las puede obtener con diclorometano o una mezcla de éter dietílico-éter

de petróleo-metanol y se fracciona mediante cromatografía. Las sesquiterpenlactonas pueden investigarse por las pruebas de Baljet y Legal. También mediante cromatografía en capa fina, usando estándares y detección mediante el revelador Lieberman-Burchard detectando su presencia con luz ultravioleta a una longitud de onda de 365 nm con colores característico: gris o café (LIPRONAT, 2005).

4. Esteroides o Triterpenoides

Son compuestos basados en más de 40 esqueletos diferentes, con 6 unidades isoprénicas (30 átomos de carbono), procedentes de la ciclación del 3S-2,3-epoxi-2,3-dihidroescualeno o del mismo escualeno. Casi siempre están hidroxilados en C-3 debido a la apertura del epóxido. Presentan una gran unidad estructural, las principales diferencias se deben a su configuración y van unidas a la conformación adoptada por el epoxiescualeno antes de la ciclación, así como a los desplazamientos 1,2 de protones y de metilos que justifican la existencia de los diferentes esqueletos tetra- y pentacíclicos que caracterizan este grupo. Poseen una unidad estructural marcada, y todos tienen el mismo esqueleto base. Se estima que no existen diferencias fundamentales entre esteroides y triterpenos; los esteroides pueden ser considerados como triterpenos tetracíclicos que han perdido, como mínimo tres metilos en C-4 y C-14, su biosíntesis es a través de la ruta del ácido mevalónico. Poseen propiedades terapéuticas en diversos campos, ya que pueden usarse como anticonceptivos, antivirales, insecticidas, molusquicidas y analgésicos. También como anabolizantes y antiinflamatorios (Bruneton, 2001).

Su identificación se lleva a cabo mediante las reacciones de color: Liebermann Burchard, Ácido Tricloroacético y Carr-Price (LIPRONAT, 2005).

5. Taninos

Antiguamente utilizados como colorantes de pieles y alimentos, son el resultado de la combinación de un fenol y un azúcar. Tienen un gusto amargo. Poseen propiedades antioxidantes, inhiben algunas enzimas. Su estructura química es la de los proantocianidoles y poliésteres de los ácidos gálico y elágico.

Son hidrosolubles y tienen una masa molecular entre 500 y 3000 kDa, poseen la capacidad de combinarse con macromoléculas por lo tanto precipitan celulosa, pectinas, proteínas y alcaloides. Se clasifican como taninos hidrolizables y taninos condensados o proantocianidoles. Son solubles en agua, formando soluciones coloidales de estabilidad moderada, su solubilidad disminuye conforme aumenta el grado de polimerización (Bruneton, 2001).

Se investigan por precipitación de proteínas y prueba con FeCl_3 (LIPRONAT, 2005).

6. Aceites Volátiles

Son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser: compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos. Son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, muy raramente coloreados, con densidad menor a la del agua, poseen alto índice de refracción y la mayoría desvía la luz polarizada (Bruneton, 2001).

Se clasifican en base a su consistencia (fluidos, bálsamos, y oleorresinas), origen (naturales y sintéticas) y naturaleza química de los componentes mayoritarios (monoterpenoides, sesquiterpenoides, fenilpropanoides) (Bruneton, 2001).

Se pueden extraer de las muestras mediante varios métodos como son:

extrusión, destilación con vapor de agua, extracción con disolventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos (LIPRONAT, 2005).

Los aceites volátiles se investigan mediante técnicas cromatográficas, siendo la más adecuada la cromatografía de gases, que permite establecer el perfil de constituyentes de un aceite en particular. La cromatografía en capa fina suele emplearse de forma rutinaria para el control de calidad de aceites esenciales, sin embargo, resulta ineficiente para la resolución definitiva de una mezcla (LIPRONAT, 2005).

7. Flavonoides y Antocianinas

Son pigmentos vegetales que poseen esqueleto carbonado C6-C3-C6 los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en plantas, libres y glicosidados que son los responsables de la coloración de flores, frutos y a veces de las hojas, la mayoría hidrosolubles. Los antocianósidos brindan coloraciones rojas, azules y violetas (Bruneton, 2001).

Todos poseen un origen biosintético común y un elemento estructural básico, un encadenamiento 2-fenilcrománico.

Se clasifican, según la estructura química de la cadena intermedia, como: flavonas, flavanonas, flavonoles, flavandioles (leucoantocianos), antocianos, charconas y uronas (Bruneton, 2001).

Se les considera “venoactivos”, es decir, ser capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia; así como inhibidores enzimáticos, antiinflamatorios, antibacteriales y antivirales (Bruneton, 2001).

Se extraen con el uso de diferentes solventes (agua, etanol caliente, acetona, éter de petróleo, etc.) y se analizan por técnicas cromatográficas (LIPRONAT, 2005).

IV. JUSTIFICACIÓN

En el campo de la química orgánica, el área de mayor crecimiento son los productos naturales debido a la necesidad constante de nuevos medicamentos. El diseño de nuevos fármacos implica la búsqueda de moléculas biológicamente activas en plantas, animales y microorganismos. En esta búsqueda se ven inmersos diversos actores como universidades nacionales y privadas, compañías farmacéuticas internacionales e investigadores particulares debido en gran parte a que los metabolitos secundarios han demostrado su gran potencial para servir como base estructural en el desarrollo de medicamentos. Los metabolitos secundarios varían dependiendo de factores tales como la región de donde provienen, el medio de cultivo, la estación del año y en algunos casos la hora del día. En Japón, país con gran tradición por el consumo de hongos, los estudios sobre hongos han llevado a descubrir sus propiedades antitumorales, e inclusive ha sido aprobado su uso clínico en el tratamiento contra el cáncer (Daba, 2003).

Guatemala posee una gran diversidad de hongos comestibles que se conocen desde tiempos inmemoriales. Uno de ellos es *Schizophyllum commune*, el cual se consume como alimento en diferentes comunidades indígenas, donde se conoce con distintos nombres en las comunidades etnolingüísticas Q'eqchi', Poqomchi', Chuj, Popti', Itza' y Kaqchikel (asam, isem,'asn, esem, xikin che' y xikin kuk, respectivamente) (Sommerkamp, 1990; Bran, 2003; Ruán, 2006). De *Schizophyllum commune* se ha logrado aislar tres biopolímeros siendo el SPG el más estudiado y más importante hasta el momento de los tres. Este biopolímero es un glucano que posee propiedades inmunomoduladoras, citostáticas, antivirales y su combinación con quimioterapia en el tratamiento contra el cáncer ha mostrado una mayor supervivencia global de los pacientes. Lo que ha provocado que diversas casas farmacéuticas lo comercialicen bajo las marcas *SPG*, *Sizofiran*, *Sonifilan*, y *Sizofilan*. Las propiedades inmunomoduladoras que posee son afectadas por la estructura del SPG y se ha visto que un mayor número

de ramificaciones le confieren una mayor actividad. La síntesis de este biopolímero en el hongo tiene relación directa con los metabolitos que posee (Hobbs, 2005).

La Universidad de San Carlos de Guatemala ha financiado estudios para aislar cepas nativas de esta especie. Actualmente el Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, ha desarrollado la tecnología para su cultivo artesanal utilizando desechos agroindustriales. Durante el desarrollo experimental para mejorar su cultivo, se evaluaron cinco cepas nativas aisladas de localidades donde se utilizan como alimento (Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán) y se produjeron basidiomas que pueden ser utilizados para futuras investigaciones.

Si bien la tecnología del cultivo ya se ha desarrollado, los basidiomas producidos aún no han sido evaluados en cuanto a los metabolitos secundarios que tiene presentes y dado que este hongo tiene reportadas propiedades medicinales, se deben investigar los basidiomas producidos con germoplasma guatemalteco.

Por lo tanto se hace necesario el estudio exploratorio de estas cepas nativas para determinar las familias de metabolitos secundarios que se encuentran presentes en los basidiomas.

Además, esta es la primera vez que se estudian las familias de metabolitos presentes en cepas guatemaltecas de *Schizophyllum commune*.

V. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar cualitativamente las familias de metabolitos secundarios presentes en basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepas nativas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar cualitativamente por tamizaje fitoquímico la presencia o ausencia de alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites fijos, en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivado en laboratorio a partir de cepas nativas provenientes de Jacaltenango.
- Determinar cualitativamente por tamizaje fitoquímico la presencia o ausencia de alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites fijos, en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivado en laboratorio a partir de cepas nativas provenientes de Tactic.
- Determinar cualitativamente por tamizaje fitoquímico la presencia o ausencia de alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites fijos, en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivado en laboratorio a partir de cepas nativas provenientes de Carchá.
- Determinar cualitativamente por tamizaje fitoquímico la presencia o ausencia de alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites fijos, en los

basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivado en laboratorio a partir de cepas nativas provenientes de Poptún.

- Determinar cualitativamente por tamizaje fitoquímico la presencia o ausencia de alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites fijos, en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivado en laboratorio a partir de cepas nativas provenientes de Tecpán.
- Determinar si hay diferencias en la presencia de metabolitos secundarios por el origen geográfico de las cepas estudiadas.

VI. HIPÓTESIS

No se plantea una hipótesis, ya que el presente estudio es descriptivo. El estudio solo plantea determinar la presencia o ausencia de las familias de metabolitos secundarios presentes en la especie estudiada.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO DE TRABAJO:

POBLACIÓN:

Especie fúngica guatemalteca *Schizophyllum commune* cultivada en laboratorio.

MUESTRA:

50 g de material seco de cada cepa, de cuerpo fructífero (basidioma) de los hongos cultivados en laboratorio, a partir de 5 cepas provenientes de las regiones de Jacaltenango (Huehuetenango), Tactic, Carchá (Alta Verapaz), Poptún (Petén) y Tecpán (Chimaltenango). Una cepa corresponde a una región.

El diseño de muestreo es no probabilístico por conveniencia.

B. RECURSOS

1. Humanos:

- Tesista: Br. Carlos Alfonso Suhul López
- Asesores: M. A. Irma Nohemí Orozco Godínez

2. Materiales:

a. Equipo:

Equipo	Descripción
equipo de seguridad	bata, guantes de neopreno, lentes, máscara de gases
mechero	de gas, Bunsen
plancha de calentamiento	eléctrica de 0 a 300 °C con agitador
horno eléctrico	De 0 a 400 °C
rotavapor	
balanza semianalítica	
lampara UV	De 254 a 365 nm
cromatógrafo de gases	
cámara fotográfica	digital marca Sony

b. Reactivos:

REACTIVO	CANTIDAD Gramos o mililitros	GRADO
Ácido acético	11.0 ml	Reactivo
Ácido sulfúrico	1.0 ml	Reactivo
Anhídrido acético	5 ml	Reactivo
Cloroformo	260 ml	Reactivo
Tricloruro de antimonio	2 g	Reactivo
Ácido tricloroacético	0.5 g	Reactivo
Metanol	250 ml	Reactivo
Artemisina	1 microlitro	Reactivo
Acetato de etilo	77 ml	Reactivo
Anisaldehído	1 ml	Reactivo
Vainillina	1 ml	Reactivo
Diclorometano	50	Reactivo
Tolueno	10	Reactivo
Xileno	100.5	Reactivo
1,8-cineol	0.5 ml	Reactivo
Nitroprusiato de sodio	1 ml	Reactivo
Hidróxido de potasio	1 g	Reactivo
Ácido pícrico	1 g	Reactivo
Éter etílico	5 ml	Reactivo
Hidróxido de sodio	10 g	Reactivo
Yodo	2 g	Reactivo
Permanganato de potasio	2 g	Reactivo
Acetona	50 ml	Reactivo
Hidróxido de amonio	0.5 ml	Reactivo
Papaverina	1 microlitro	Reactivo
Atropina	1 microlitro	Reactivo
Yoduro de potasio	35 g	Reactivo
Cloruro de mercurio	2 g	Reactivo
Nitrato de bismuto	8 g	Reactivo
Dietilamina	20 ml	Reactivo
Tolueno	70 ml	Reactivo
Peróxido de hidrógeno	5 ml	Reactivo
Difenilboriloxietilamina	1 ml	Reactivo
Polietilenglicol	5 ml	Reactivo

Benceno	10 ml	Reactivo
Quercetina	10 microlitros	Reactivo
Rutina	10 microlitros	Reactivo
Ácido clorogénico	10 microlitros	Reactivo
Hiperósido	10 microlitros	Reactivo
Aloína	10 microlitros	Reactivo
Flangulina	10 microlitros	Reactivo
Glucofrangulina	10 microlitros	Reactivo
Agliconas	10 microlitros	Reactivo
Reina	10 microlitros	Reactivo
Aloeedmodina	10 microlitros	Reactivo
n-butanol	100 ml	Reactivo

c. Cristalería:

Cristalería	Unidades	Capacidad
Baño María	1	
Agitador magnético	5	
Tijeras	1	
Perillas de succión	2	
Beacker de 10, 50, 100 y 250 mL	20	
Balones aforados	5	10 mL
Vidrio de reloj	5	5cm diámetro
Probeta 10mL, 50mL, 100mL	6	
Balones de fondo redondo corning 24/40, de 100 mL	1	100 mL
Balones de fondo redondo corning 24/40, de 1000 mL	1	1000 mL
Condensador corning 24/40	1	
Ampolla de decantación	1	250 mL
Varillas de agitación	5	
Tubos de ensayo	25	10 mL
Micropipetas	50	

Frascos ámbar	5	250 mL
Tubos capilares	100	
Cámara cromatográfica	1	
Cromatoplacas	5	
Mechero	1	
Masking tape	1	1 pulgada
Atomizador	1	50 mL
Papel filtro cualitativo Wathman 1	50	
Papel parafilm	1	
Pinzas para tubo de ensayo	5	
Cultivo agar sangre	5	
Gradilla para 10 tubos de ensayo	1	

C. MÉTODOS

1. Diseño de Investigación:

El diseño de la investigación es experimental, descriptivo y transaccional.

Se desarrolló en tres etapas:

- i. Recolecta de las muestras de basidiomas cultivados en el departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- ii. Secado, molienda y preparación de los extractos; y
- iii. Análisis de la composición química mediante pruebas específicas vía húmeda, cromatografía en capa fina, cromatografía de gases para cada grupo de metabolitos seleccionado tales como alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites esenciales de acuerdo a la metodología descrita en el Manual 2005 de Operaciones de Tamizaje Fitoquímico del Laboratorio de Investigación en Productos Naturales –LIPRONAT–.

2. Procedimientos:

a) Muestreo:

El diseño de muestreo es no probabilístico por conveniencia. Se tomaron las siguientes cantidades: Jacaltenango 107.2 g, Tactic 19 g, Carchá 27.2g, Poptún 26.4 g, Tecpán 8.1 g. de material seco de basidiomas producidos a partir de cada cepa de *Schizophyllum commune*, procedentes de 5 regiones y se determinaron las familias de metabolitos secundarios presentes en ellos, a partir de sustratos cultivados a nivel de laboratorio. Esta fase se desarrolló en la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos del Departamento de Microbiología. Se realizaron tres o cuatro réplicas del análisis dependiendo del resultado y lo que indique la metodología del Manual de Tamizaje Fitoquímico.

b) Determinación cualitativa de familias de metabolitos secundarios

A los basidiomas cosechados se les realizó la extracción de los metabolitos con solventes, para esto se utilizó etanol al 80% y se procedió a realizar las pruebas respectivas para cada familia.

La extracción se realizó con etanol al 80 % debido a que todos los heterósidos de los metabolitos son solubles en solventes polares como el agua y alcoholes. Los heterósidos son solubles en solventes polares cuando se encuentran en forma de glicósidos, que es en la mayoría de casos (Shaparin, 2000).

El procedimiento de cada una de las pruebas para determinar las familias de metabolitos secundarios se encuentran en el Manual de Tamizaje Fitoquímico del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), versión 2005.

Investigación de alcaloides:

Ensayos macro y semimicro: Pesar 1 g de material. Agregar 2 gotas de solución

de hidróxido de amonio al 10% (p/v), luego añadir 25 mL de metanol a 60°C. Filtrar con papel filtro Whatman 1 y acidificar el filtrado con ácido clorhídrico 2 N. La solución resultante dividirla en 4 tubos y evaluar de la siguiente manera:

Tubo 1: agregar 5 gotas del reactivo de Mayer's. (Color blanco a crema).

Tubo 2: agregar 5 gotas del reactivo de Dragendorff. (Color rojo a naranja).

Tubo 3: agregar 5 gotas del reactivo de Wagner. (Color marrón).

Tubo 4: testigo.

Usar como estándar soluciones al 1% de atropina y papaverina. Observar durante 2 horas la existencia de precipitados, turbidez o precipitación de complejos en los tubos, es indicio de una prueba positiva para alcaloides.

Cromatografía en capa fina: Pesar 1 g de material, agregar 1 mL de hidróxido de amonio al 10% (p/v) y extraer con 5 mL de metanol. Colocar en baño maría a 60°C durante 5 minutos. Filtrar y concentrar. Aplicar en una placa de sílica gel 60 F₂₅₄, utilizando como estándar una solución de atropina y papaverina al 1 % en metanol (10 µL).

Fase móvil: tolueno-acetato de etilo-dietilamina (70:20:10); acetato de etilo-metanol-agua (100:13.5:10), cloroformo- dietilamina (90:10); acetona-agua-amonio concentrado (90:7:3)

Detección:

Sin tratamiento químico: UV 254nm fluorescencia, UV 365 nm algunos poseen fluorescencia azul o amarillo.

Reactivo de Dragendorff: zonas café o naranja en región visible los colores no son estables.

Investigación de flavonoides y antocianinas:

Ensayos macro y semimicro: Extraer 3 g de material pulverizado con 10 mL de

etanol o metanol al 80 %, filtrar y concentrar. Enfriar a temperatura ambiente y triturar el residuo con 15 mL de éter de petróleo hasta que la extracción sea incolora. Disolver el residuo en 30 mL de metanol al 80 %, filtrar y dividir en 5 tubos:

Tubo 1: agregar 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Tubo 2: agregar 3 a 5 gotas de cloruro férrico al 10 % (p/v).

Tubo 3: agregar 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado y calentar en baño de maría por 5 minutos (prueba para leucoantocianinas).

Tubo 4: agregar magnesio metálico y 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado.

Tubo 5: agregar un álcali a un extracto acuoso.

Tubo 6: agregar solución de ácido bórico en anhídrido acético.

Tubo 7: testigo.

Evaluar las reacciones, cambios de color y/o formación de precipitado comparados con el testigo.

Desarrollo inmediato de color flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanoles (rojo a magenta), flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo); isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración.

Cromatografía en capa fina: Extraer 1 g de material seco pulverizado con 10 mL de metanol por 5 minutos en baño de maría a 60 °C. Filtrar la solución y aplicar sobre las cromatoplasmas de sílica gel 60 F₂₅₄. Como estándar emplear solución de flavonoides al 0.05 % en metanol (10 µL). (Quercetina, rutina, ácido clorogénico, hiperósido).

Fase móvil: acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100:11:11:27), n-butanol-ácido acético-agua (40:10:50); acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-etilmetilcetona-agua (50:7:3:30:10)

Detección:

Sin tratamiento químico: UV 254nm fluorescencia, zonas azules o amarillas. UV 365 nm, dependiendo de la estructura se observan puntos con fluorescencia amarilla, azul o verde.

Reactivo de Productos Naturales (NP/PEG). Fluorescencia intensa en UV-365 nm.

Solución 1: solución metanólica al 1 % de difenilboriloxietilamina (NP).

Solución 2: solución etanólica al 5 % de polietilenglicol 4000 (PEG).

Aplicar a la placa vapores de amoníaco para intensificar el color de las manchas.

Investigación de antraquinonas:

Prueba de Bornträger: Extraer 3 g de material pulverizado con 10 mL de etanol al 80 %, filtrar y concentrar en baño de María (60°C). Disolver el residuo con 30 mL de agua destilada y filtrar. Extraer con 10 mL de benceno. A la fase bencénica añadir 5 mL de solución de test de amonio y agitar. Observar cambios de color en la fase alcalina (color rojo, rosado: positivo).

Prueba de Bornträger modificado: Calentar 0.3 g de material pulverizado con 10 mL de hidróxido de potasio alcohólico 0.5 N y 1 mL de peróxido de hidrógeno al 3 % y calentar 10 minutos en baño de María a 60°C. Añadir 10 gotas de ácido acético glacial para acidificar. Extraer con 10 mL de benceno. A la capa bencénica adicionar 5 mL de solución de prueba de amonio y agitar. Observar cambios de color en fase alcalina (color rojo, rosado: positivo).

Cromatografía en capa fina: Extraer 0.5 g de material vegetal seco pulverizado con 5 mL de metanol en baño María (60°C) por 5 minutos. Filtrar y aplicar 10 µL en la cromatoplaca de sílicagel 60 F₂₅₄.

Estándar: solución al 0.1 % en metanol de antraquinonas (10 µL). (Aloína, flangulina A/B, glucofrangulina A/B y sus agliconas, reina, aloe-emodina, extracto de sen)

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (100:17:13), acetato de etilo-metanol-agua (100:13.5:10).

Detección:

Sin tratamiento químico: UV 254nm fluorescencia, UV 365 nm fluorescencia amarilla o rojo-café.

Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10 %.

Antraquinonas: zonas rojas en UV visible y fluorescencia roja en UV-365 nm.

Antronas y antranolas: zona amarillas en UV visible y fluorescencia amarilla en UV-365 nm.

Investigación de esteroides o triterpenoides: Reacciones de color

Liebermann Burchard: Aplicar unas gotas de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético-ácido sulfúrico (50:1) en la que las saponinas triterpenoidales dan color rosado o púrpura.

Resultados (verde, azul verdoso) posibles esteroides conteniendo 2 enlaces C=C conjugados o formados por deshidratación con ácido sulfúrico.

Ácido tricloroacético: Se le añade a la muestra unos cristales de ácido tricloroacético.

Resultado: color naranja, rojo, rojo oscuro, triterpenos tetracíclicos y esteroides desarrollan color a 60°C, triterpenos pentacíclicos a 110°C.

Carr-Price: 1 mg de muestra en cloroformo se le agrega 2 mL de tricloruro de antimonio al 30% en cloroformo.

Resultado: color azul, posibles derivados del colestano con dieno o trieno potencial en anillos A y B.

Investigación de principios amargos:

Cromatografía en capa fina: Calentar 1 g de material con 10 mL de metanol en baño de María a 60 °C por 10 minutos. Evaporar y filtrar a 2 mL. Aplicar en la cromatoplaca. Estándar: artemisina al 1 % en metanol (20 µL).

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (77:15:8) y cloroformo-metanol (95:5).

Detección: vainillina-ácido sulfúrico, anisaldehído-ácido sulfúrico. Zonas rojo-violeta, café-rojo, azul-verde.

(Reactivo de Liebermann-Buchard: UV-365 nm: gris, café; VIS: café oscuro, gris).

Investigación de taninos:

Ensayos macro y semimicro: Extraer 10 g de material pulverizado con 30 mL de etanol o metanol al 80 %, filtrar y evaporar a sequedad. Añadir 25 mL de agua caliente al residuo y agitar con varilla y dejar enfriar. Agregar 1 mL de solución de cloruro de sodio al 10 % y filtrar. Adicionar 3 mL del filtrado a 4 tubos de ensayo:

Tubo 1: testigo.

Tubo 2: agregar 4 a 5 gotas de solución de gelatina al 1 % (p/v).

Tubo 3: agregar 4 a 5 gotas de gelatina-sal (1 % de gelatina y cloruro de sodio al 10%).

Tubo 4: agregar 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10 % (p/v).

Observar la formación de precipitado y/o cambio de coloración.

Con cloruro férrico: grisáceo-negro: catecol; negro-azulado: pirogalol)

Investigación de aceites volátiles:

Cromatografía en capa fina:

Método A: Extraer 1 g de material pulverizado con 10 mL de diclorometano agitando por 15 minutos. Filtrar y evaporar en baño María (60°C) a sequedad.

Disolver en 1 mL de tolueno y aplicar 20-50 µL en cromatoplaqueta de sílicagel 60 F₂₅₄.

Método B: Pesar 10-50 g (dependiendo del tipo de droga) de material y destilar con arrastre de vapor por 1 hora. Recolectar el aceite esencial en xileno. Diluir la solución de aceite en xileno con tolueno 1:5 o si es muy concentrada 1:10 y aplicar 5 µL (1:10) en cromatoplaqueta de sílicagel 60 F₂₅₄.

Estándar: solución de tolueno 1:30 de mentol, timol, anisaldehído, anetol, 1,8-cineol (3 µL).

Fase móvil: tolueno-acetato de etilo (93:7).

Detección: anisaldehído-ácido sulfúrico, vanillina-ácido sulfúrico. Zonas azul-verde, rojas y cafés en visible.

Cromatografía de Gases acoplada a espectroscopía de masas (CGMS):

Extraer los aceites esenciales mediante hidrodestilación. Para ello:

Colocar 20 g de material seco en un balón de fondo redondo de 1L de capacidad.

Agregar 300 mL de agua destilada, 5 núcleos de ebullición y conectarlo a un equipo de destilación por arrastre de vapor que permita recibir el destilado en un recipiente sumergido en un baño de hielo, que contenga 20 mL de hexano.

Ajustar la temperatura para que la velocidad de destilación permita recuperar aproximadamente 250 mL de destilado en 2 horas.

Terminada la destilación, separar las fases acuosa y orgánica del destilado en una ampolla de decantación, lavando la fase acuosa con dos porciones adicionales de 5 mL de hexano.

Secar la fase orgánica agregando 1 g de sulfato de sodio anhidro en el recipiente (o más de ser necesario) y luego separarla del desecante por decantación.

Eliminar el disolvente de la fase orgánica en un rotavapor a 45°C.

Trasladar el aceite recuperado con ayuda de una micropipeta a un vial ámbar y colocarlo cerrado con parafilm en refrigeración hasta el momento de su análisis por cromatografía.

Fijar los parámetros de operación esenciales del equipo:

Temperatura inicial: 250 °C

Rampa de temperaturas tentativa

Temperatura final: 350 °C

Gas portador: Helio

Presión: 4.44 psi

Relación del divisor: 50:1

Flujo del divisor: 36.7 mL/min

Tomar con la jeringa del cromatógrafo 1 µL de muestra del aceite extraído por hidrodestilación e inyectarlo en el inyector del cromatógrafo. Realizar las

diluciones pertinentes con el cromatógrafo iniciando con una dilución 1/100 con hexano.

Iniciar la corrida cromatográfica.

Evaluar el cromatograma y espectros de masas obtenidos con la ayuda de la base de datos del equipo.

c) Análisis de Resultados

La interpretación de las pruebas se efectuó de acuerdo a los fundamentos teóricos de las mismas, obteniéndose resultados que se traducen como “presencia” o “ausencia” de cada grupo de metabolitos.

El análisis de cada familia de metabolitos se hace por 3 o 4 técnicas diferentes tomándose como positivo 2 pruebas positivas de 3 ó 3 de 4 según el número de pruebas que indique la metodología.

VIII. RESULTADOS

Tabla No. 1: Resultados Tamizaje Fitoquímico de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepas nativas. Cantidad inicial de basidiomas secos Jacaltenango 107.2 g, Tactic 19 g, Carchá 27.2g, Poptún 26.4 g, Tecpán 8.1 g. El extracto fue hecho con etanol al 80 % 10 ml por cada 3 g de material seco.

METABOLITO	PRUEBA	CAMBIOS OBSERVADOS	INTERPRETACIÓN	RESULTADOS				
				Jacaltenango	Tactic	Carchá	Poptún	Tecpán
Alcaloides	Mayer's	Precipitado blanco	Posible presencia de alcaloides (precipitan en medio ligeramente ácido)	+	+	+	+	+
	Draggendorff	Coloración naranja	Posible presencia de alcaloides.	+	+	+	+	+
	Wagner	Precipitado marrón	Posible presencia de alcaloides generales	+	+	+	+	+
	CCF (cromatografía en capa fina)	UV 365 fluorescencia azul	Posible presencia de alcaloides.	+	+	+	+	+
Flavonoides y antocianinas	H ₂ SO ₄ concentrado	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de flavonoides y antocianinas	-	-	-	-	-
	FeCl ₃ al 10 % p/v	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de flavonoides y antocianinas	-	-	-	-	-
	HCl y calentamiento	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de flavonoides y antocianinas	-	-	-	-	-

	Magnesio metálico + HCl	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de flavonoides y antocianinas	-	-	-	-	-
	Álcali (NaOH) en medio acuoso	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de flavonoides y antocianinas	-	-	-	-	-
	Ácido Bórico en Anhídrido acético	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de flavonoides y antocianinas	-	-	-	-	-
Antraquinonas	Bornträger	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de antraquinonas	-	-	-	-	-
	Bornträger modificado	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de antraquinonas	-	-	-	-	-
	CCF	No presenta cambios respecto al testigo	No se observó cambios de color, ausencia de antraquinonas	-	-	-	-	-
Cumarinas	Fluorescencia	Anillo fluorescente poco definido	La fluorescencia evidencia la presencia de hidroxycumarinas sencillas	+	+	+	+	+
	CCF	Fluorescencia Rf = 0.875	Con tratamiento y sin tratamiento químico se observa fluorescencia.	+	+	+	+	+
Saponinas	Reactivo de sangre	Ninguno	No se observa hemólisis, ausencia de saponinas.	-	-	-	-	-
	CCF	Ninguno	No se observa cambios en la cromatoplaca, ausencia de saponinas.	-	-	-	-	-

Taninos	Gelatina	Ninguno	No se observa cambios respecto al testigo, ausencia de taninos.	-	-	-	-	-
	Gelatina-sal	Ninguno	No se observa cambios respecto al testigo, ausencia de taninos.	-	-	-	-	-
	Cloruro férrico	Ninguno	No se observa cambios respecto al testigo, ausencia de taninos.	-	-	-	-	-
Principios Amargos	CCF	Ninguno	No se observa cambios de color en la cromatoplaqa, ausencia de principios amargos.	-	-	-	-	-
Esteroides o triterpenoides	Liebermann - Burchard	No se observan cambios de color y apariencia	No se observó cambios de color, ausencia de esteroides y triterpenoides.	-	-	-	-	-
	Ácido Tricloroacético	No se observan cambios de color y apariencia	No se observó cambios de color, ausencia de esteroides y triterpenoides.	-	-	-	-	-
	Carr-Price	No se observan cambios de color y apariencia	No se observó cambios de color, ausencia de esteroides y triterpenoides.	-	-	-	-	-
Aceites Esenciales	CG/MS	El cromatograma no muestra la presencia de aceites esenciales	La librería del detector de masas no muestra la presencia de aceites esenciales, únicamente de ácidos grasos.	-	-	-	-	-

Fuente: Datos experimentales

Tabla No. 2: Cromatografía en capa fina utilizando estándar de Quina *C. pubescens* Vahl realizado a extractos etanólicos de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepas nativas.

METABOLITO	PRUEBA	CAMBIOS OBSERVADOS	INTERPRETACIÓN	RESULTADOS				
				Jacaltenango	Tactic	Carchá	Poptún	Tecpán
Alcaloides	CCF con estándar de Quina (Quinina) fase móvil: cloroformo - dietilamina (90:10)	Se observan puntos fluorescentes a 365 nm Rf = 0.8125	Posible presencia de alcaloides con estructura y polaridad similar a la Quinina	+	+	+	+	+
	CCF con estándar de Quina (Cinconina) fase móvil: cloroformo - dietilamina (90:10)	Se observan puntos a 365 nm Rf = 0.375	Posible presencia de alcaloides con estructura y polaridad similar a la Cinconina.	+	+	+	+	+

Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 3: Importancia y usos de los metabolitos secundarios encontrados en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepas nativas.

Metabolito Encontrado	Importancia y usos
Alcaloides	Los alcaloides encontrados tiene polaridad similar a los encontrados en la Quina (Quinina y Cinconina), estos antiguamente se utilizaban para el tratamiento del paludismo y malaria, poseen acción astringente, se emplean en la profilaxis de arritmias cardíacas y en el tratamiento de fibrilación auricular y la quinina es eficaz frente a microorganismos cloroquino-resistentes (Evans, 1991).
Cumarinas	Poseen potentes efectos vasodilatadores coronarios, tratamiento contra la bronquitis asociada a deficiencia vascular, anticoagulantes indirectos o antagonistas de la vitamina K (Evans, 1991; Bowman, 1984).

Fuente: Bibliografía seleccionada

Tabla No. 4: Cromatografía de Gases acoplada a masas de extracto en hexano realizado a basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepas nativas para determinar la presencia de ácidos grasos.

Origen de la Cepa	Ácidos Grasos Encontrados	Número de componentes Encontrados
Jacaltenango	Ciclododecano, Ácido Pentadecanoico, Ácido Hexadecanoico , Hexadecanoato de etilo, Ácido linoleico.	5
Tactic	Pentadecanoato de etilo, 9-Hexadecenoato de etilo, Ácido hexadecanoico, Ácido Linoleico, Ácido 9,12,15- octadecatrienoico.	5
Carchá	Pentadecanoato de etilo, 9-hexadecenoato de etilo, Ácido hexadecanoico, Ácido Linoleico, Ácido 9,12,15- octadecatrienoico, Ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico, Ácido 1,2-bencenodicarboxílico.	7
Poptún	Pentadecanoato de etilo, Ácido hexadecanoico, hexadecanoato de etilo, Ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico, Ácido Linoleico.	5
Tecpán	Ácido hexadecanoico, Ácido linoleico, Ácido 1,2-bencenodicarboxílico.	3

Fuente: Cromatogramas proporcionados por el Centro de Información Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La extracción de las muestras de 5 cepas de *Schizophyllum commune* se realizó con etanol al 80 % debido a que todos los heterósidos de los metabolitos son solubles en solventes polares como el agua y alcoholes (LIPRONAT, 2005). De los nueve metabolitos secundarios investigados se determinó que se encuentran presentes en las cinco cepas nativas dos familias de metabolitos: cumarinas y alcaloides.

Las cumarinas se determinan por fluorescencia en papel, la prueba mostró un anillo fluorescente azul a 365 nm poco definido, la cromatografía en capa fina (CCF) mostró manchas similares y con el mismo recorrido que el estándar. El estándar utilizado para esta prueba fue extracto de canela *Cinnamomum lauraceae* como lo indica el manual de tamizaje fitoquímico. La canela en su corteza contiene no menos del 1.2 % de aceite esencial compuesto en un 55-75 % de aldehído *trans*-cinámico (ver figura 7) el cual tiene una estructura y polaridad similar al ácido cinámico (ver figura 7). El ácido cinámico es el producto de la apertura del anillo lactónico de las cumarinas formando un sistema conjugado de carbonos sp^2 el cual posee fluorescencia (ver figura 8). Con y sin tratamiento químico se observa fluorescencia azul en la cromatoplaqueta indicando la presencia de cumarinas. También se observan otros puntos de las muestras en la cromatoplaqueta que no fluorescen pero que fueron separados durante la CCF y que están a diferente recorrido que el estándar indicando la presencia de otro metabolito no determinado de mayor polaridad que las cumarinas encontradas (Bravo, 2003).

Los alcaloides se determinaron tanto por vía húmeda como por CCF. Por vía húmeda las pruebas que se utilizaron son: Mayer's, Dragendorff y Wagner, en los tres se observó formación de precipitados (LIPRONAT, 2005). Con Mayer's se

obtuvo turbidez de color blanco. Con el reactivo de Dragendorff se observó la formación de un precipitado color naranja casi de inmediato. El reactivo de Wagner formó un precipitado color marrón. Para la CCF se utilizó estándar de atropina y papaverina ya que pertenecen al grupo de alcaloides generales, las 5 muestras mostraron igual recorrido en la cromatoplaaca confirmando la presencia de alcaloides generales. Se realizó otra CCF utilizando como estándar Quina la cual contiene varios alcaloides de los cuales los mas importantes son Quinina y Cinconina, ya que éstos se encuentran en mayor cantidad, los cuales poseen diferente estructura y diferente polaridad. Por lo que es posible separarlos con una CCF. Las cinco muestras mostraron recorridos similares al estándar de Quina tanto para Quinina como para Cinconina por lo que los alcaloides presentes en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* muestran similar polaridad y puede que misma estructura, teniendo como núcleo base la quinoleína mostrando para la cinconina un $R_f = 0.8125$ y para la quinina un $R_f = 0.375$ (ver figura 10).

Los aceites esenciales se determinaron por CGMS, la cromatografía mostró ausencia en las 5 cepas de aceites esenciales, solamente muestra la presencia de ácidos grasos (ver anexo 2).

La cepa proveniente de Carchá es la que muestra una mayor producción de ácidos grasos, 7 en total (ver figura 3). La cepa Proveniente de Tecpán es la que mostró una menor presencia de ácidos, 3 en total (ver figura 5). Las cepas que tienen igual presencia de ácidos grasos son las provenientes de Jacaltenango, Tactic y Poptún, 5 en total, pero únicamente tienen en común dos ácidos grasos (ácido linoleico y ácido hexadecanoico) (ver figura 1, 2 y 4). Por lo que se puede concluir que en el caso de los ácidos grasos las 5 cepas muestran diferencias marcadas en la producción de éstos. Ninguna de las cepas estudiadas muestra la misma cantidad de ácidos grasos o la misma composición.

Las cepas provenientes del mismo departamento Tactic y Carchá (Alta verapaz) son las que poseen la mayor similitud en cuanto a composición presentando 5 ácidos grasos en común (Pentadecanoato de etilo, Ácido hexadecanoico, 9-Hexadecenoato de etilo, Ácido Linoleico, Ácido 9,12,15- octadecatrienoico). La cepa proveniente de Carchá muestra la presencia de 2 ácidos más (Ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico, Ácido 1,2-bencenodicarboxílico) (ver anexo 3). Por lo que se puede inferir que las cepas provenientes del mismo departamento tienen la mayor similitud en cuanto a presencia de ácidos grasos y metabolitos secundarios, aunque no la misma composición y tampoco el mismo número de ácidos.

Las cepas provenientes de Carchá (Alta verapaz) y Poptún (Petén) muestran también una similitud de 4 ácidos grasos siendo, de las 5 cepas estudiadas, las únicas en producir el Ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico (ver anexo 3). Es decir la cepa proveniente de Carchá tiene similitudes apreciables con la cepa proveniente de Tactic y la cepa proveniente de Poptún.

Al realizar el tamizaje fitoquímico no se encontró evidencia de la presencia de flavonoides y antocianinas, antraquinonas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites esenciales en los basidiomas de las 5 cepas.

Los alcaloides encontrados de tener una estructura similar a la quinina o cinconina pueden ser utilizados en el tratamiento del paludismo y malaria, las cumarinas tienen potencial como vasodilatadores coronarios y pueden ser utilizados como anticoagulantes (ver tabla 3).

X. CONCLUSIONES

1. El tamizaje fitoquímico de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de 5 cepas nativas provenientes de Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán muestra la presencia de cumarinas.
2. El tamizaje fitoquímico de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de 5 cepas nativas provenientes de Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán muestra la presencia de alcaloides.
3. Un grupo de alcaloides encontrados mediante CCF en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de 5 cepas nativas provenientes de Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán indicando similar polaridad que el alcaloide Cinconina proveniente de la Quina.
4. Un grupo de alcaloides encontrados mediante CCF en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de 5 cepas nativas provenientes de Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán muestran similar polaridad que el alcaloide Quinina proveniente de la Quina.
5. Las 5 cepas muestran la presencia de dos ácidos grasos ácido linoleico y ácido hexadecanoico.
6. La cepa proveniente de Carchá (Alta Verapaz) es la que tiene una mayor presencia de ácidos grasos, 7 en total.
7. La cepa proveniente de Tecpán (Chimaltenango) es la que tiene una menor presencia de ácidos grasos, 3 en total.

8. Ninguna de las cepas estudiadas muestra la misma composición de ácidos grasos.

9. Las cepas (Tactic, Carchá) provenientes del mismo departamento (Alta Verapaz) son las que muestran la mayor similitud en cuanto a presencia de ácidos grasos.

10. El tamizaje fitoquímico de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de 5 cepas nativas provenientes de Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán no muestran presencia de flavonoides y antocianinas, antraquinonas, saponinas, taninos, principios amargos, esteroides o triterpenoides y aceites esenciales en los basidiomas de las 5 cepas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar el tamizaje fitoquímico utilizando cepas silvestres de las mismas regiones y comparar la presencia de metabolitos con las cepas cultivadas en laboratorio.
2. Realizar el tamizaje fitoquímico utilizando cepas silvestres provenientes de otras regiones a las estudiadas para comparar la presencia de metabolitos presentes.
3. Determinar la estructura de los alcaloides encontrados en las cepas cultivadas en laboratorio para determinar si poseen la misma estructura que los alcaloides utilizados como estándar como la Cinconina y la Quinina ya que estos dos alcaloides se utilizan para el tratamiento contra el paludismo.
4. Realizar pruebas de bioactividad a los grupos de alcaloides encontrados.
5. Cuantificar la producción de ácidos grasos de las cepas estudiadas.
6. Determinar las causas de la poca presencia de familias de metabolitos secundarios en los basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* en un estudio mas extenso variando el origen de la cepa, el sustrato de crecimiento y nivel de estrés.

XII. REFERENCIAS

1. Bolla, K. 2008. Effect of Oils on the Production of Exopolysaccharides and Mycelial Biomass in Submerged Culture of *Schizophyllum commune*. African Journal of Microbiology Research, 2(12):349-352.
2. Bowman W. 1984. Farmacología. 2 edición. México. Editorial Interamericana S. A. de C.V.
3. Bran, M. 2003. Contribución al Conocimiento de los Hongos Comestibles de Guatemala. Revista Científica Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia 1(1):1-25.
4. Bran M. 2003a. Contribución al conocimiento de Hongos Comestibles de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Instituto de Investigaciones Químicas Y Biológicas. Revista Científica. 1(1): 2-24.
5. Bran, M. 2009. Caracterización y Producción de Cuerpos Fructíferos de cepas Nativas del Hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.). Informe de Investigación. DIGI.
6. Bravo L. 2003. Farmacognosia. 1 Edición. España. Editorial Elsevier. 82p.
7. Brizuela, M.A. 1998. Basidiomicetos: Nueva Fuente de Metabolitos Secundarios. Revista Iberoamericana de Micología. 15(3):69-74.
8. Bruneton, J. 2001 Farmacognosia, Fitoterapia y Plantas Medicinales. 2a. Edición. España. Editorial Acribia, S. A.

9. Chumkhunthod, P. 2006. Purification and Characterization of an N-acetyl-D-galactosamine-specific Lectin From the Edible Mushroom *Schizophyllum commune*. *Biochimica et Biophysica*. 1760(1):326 – 332.
10. Daba, A.S. 2003. Anti-cancer Effect of Polysaccharides Isolated from Higher Basidiomycetes Mushrooms. *African Journal of Biotechnology*. 2(12):672-678.
11. De Leon R. 2003. Cultivation Of Edible And Medicinal Mushrooms in Guatemala, Central América. *Micología Aplicada Internacional*. 15(1):31-35.
12. Evans W. 1991. *Farmacognosia*. 13 edición. México. Editorial Mcgraw-Hill. 901p.
13. Gastón, G. 2003. Los Hongos del Edén Quintana Roo, Introducción a la Micobiota Tropical de México. Instituto de Ecología. Pp 203-204.
14. Hall, I. 2003. *Edible and Poisonous Mushrooms Of the World*. E.U.A. Timber Press, Inc. Pp 214, 216, 311.
15. Hobbs, Ch. 2005. The Chemistry, Nutritional Value, Immunopharmacology, and Safety of the Traditional Food of Medicinal Split-Gill Fungus *Schizophyllum commune* Fr. (*Schizophyllaceae*). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 7:127-139.
16. Lindequist, U. 2005. The Pharmacological Potential Of Mushrooms, *eCAM*. 2(3):285-299.
17. LIPRONAT (Laboratorio de Investigación de Productos Naturales). 2005.

Manual de Operaciones. Tamizaje Fitoquímico. Guatemala. 9p.

18. Lorenzana R. 2009. Determinación de la Actividad Inmunomoduladora de dos Extractos del Hongo *Grifola frondosa* (Dicks.:FR.) S.F. Gray, Mediante Ensayos *IN VITRO*. Revista Científica, Edición Especial. Instituto de Investigaciones Químicas Y Biológicas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. 5(1): 8-16.

19. Morales O. 2009. Gasteromycetes de Guatemala: Especies Citadas en el Período de 1948 a 2008. Revista Científica, Edición Especial. Instituto de Investigaciones Químicas Y Biológicas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. 5(1): 27-33.

20. Nabors, M. 2006. Introducción a la Botánica. Madrid. Pearson, S.A. 744p.

21. Rippon, J. 1990. Tratado de Micología Médica. 3era edición. U.S.A.. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Pp 835.

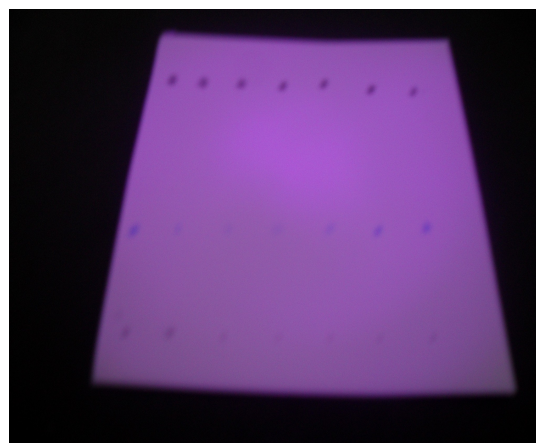
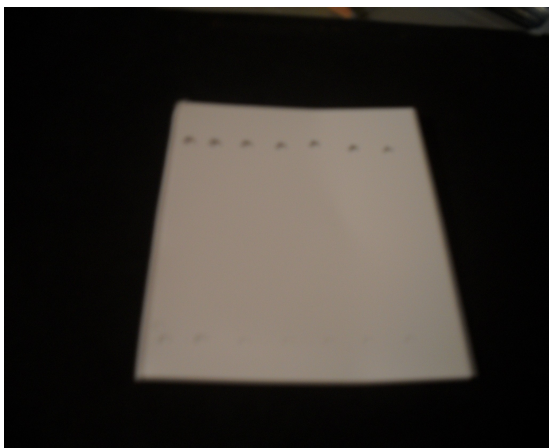
22. Ruán-Soto, F. 2006 Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico. J. Ethnobiol. Ethnomed. 2 (3):46-59.

23. Shaparin, N. 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Colombia. CYTED. 247pp.

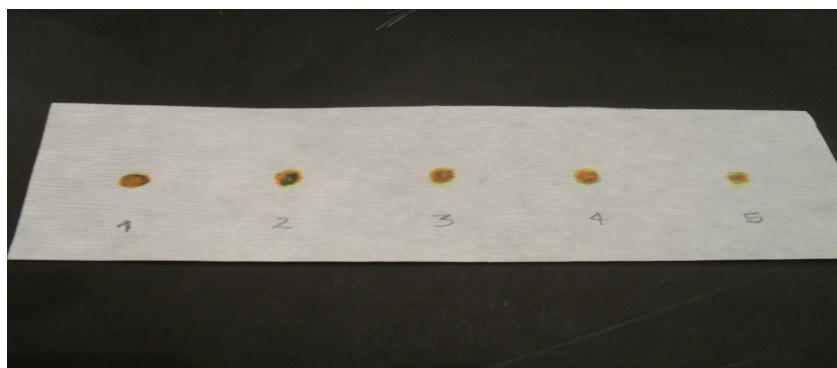
24. Sommerkamp, Y. 1990. Hongos Comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Guatemala, 77p.

XIII. ANEXOS

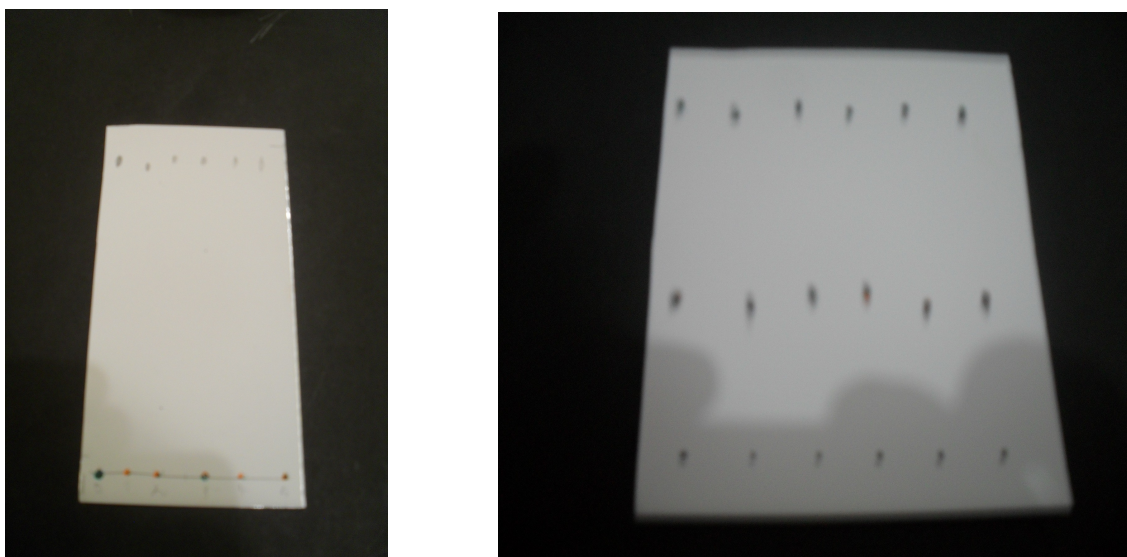
Anexo 1: Fotografías de cromatografías en capa fina de metabolitos secundarios presentes.



Cromatopla de cumarinas: se observan 7 los primeros dos corresponden al estándar de canela y estándar de cumarinas. Los siguientes 5 puntos corresponden a las cepas de basidiomas del hongo *chizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de 5 cepas nativas provenientes de Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán en ese orden. La fotografía de la izquierda muestra el mismo recorrido del estándar con las muestras. La fotografía de la derecha fue tomada bajo luz ultravioleta. Bajo luz UV se observa el aparecimiento de otro compuesto que fue separado bajo esta cromatografía. Usando como fase móvil Tolueno-acetato de etilo (93:7)



Prueba de fluorescencia para cumarinas: se observa fluorescencia poco definida



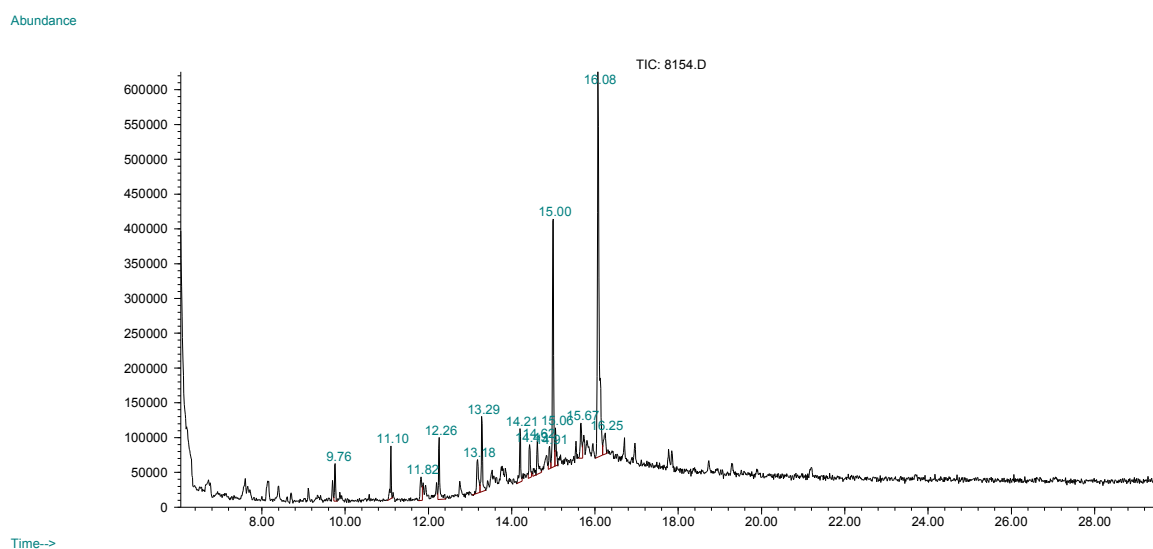
Cromatoplaaca de alcaloides: La fotografía de la izquierda muestra la cromatografía de alcaloides el primer punto corresponde al estándar de papaverina. Los siguientes puntos corresponden a las muestras en el siguiente orden: Jacaltenango, Tactic, Carchá, Poptún y Tecpán. La fotografía de la derecha muestra la cromatografía de alcaloides utilizando como estándar extracto de Quina. La primer fila de puntos corresponden a los alcaloides con polaridad similar a la Cinconina. Los puntos superiores corresponden a los alcaloides con polaridad similar a la Quinina.



Prueba de Draggendorf: La fotografía muestra el precipitado color naranja. El aparecimiento del precipitado es prueba positiva para la presencia de alcaloides.

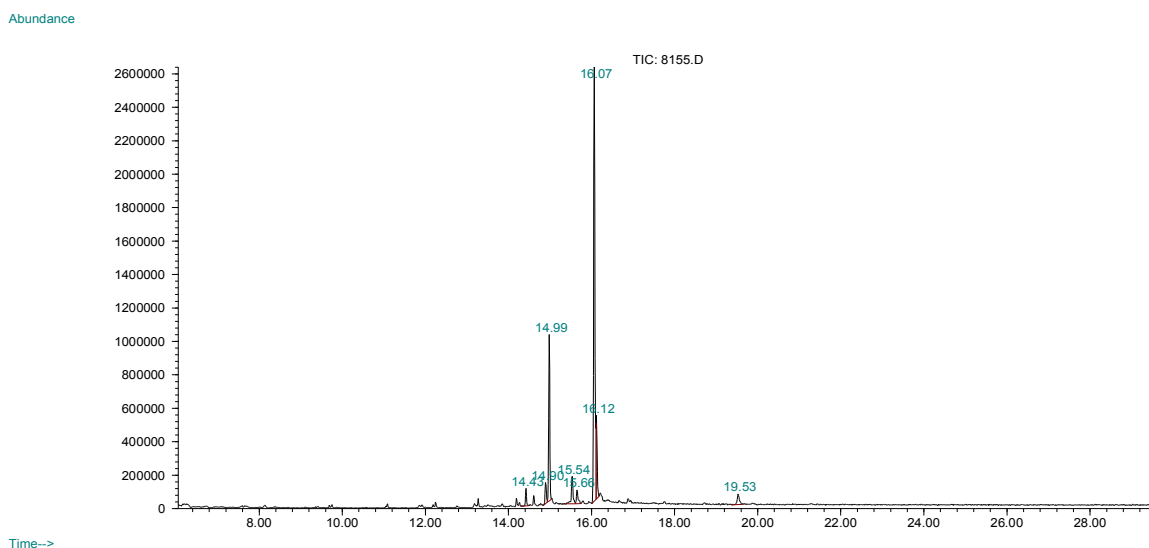
Anexo 2: Cromatogramas del extracto de Basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio para determinar la presencia de aceites esenciales realizado por CG/MS en el laboratorio de Toxicología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Figura 1



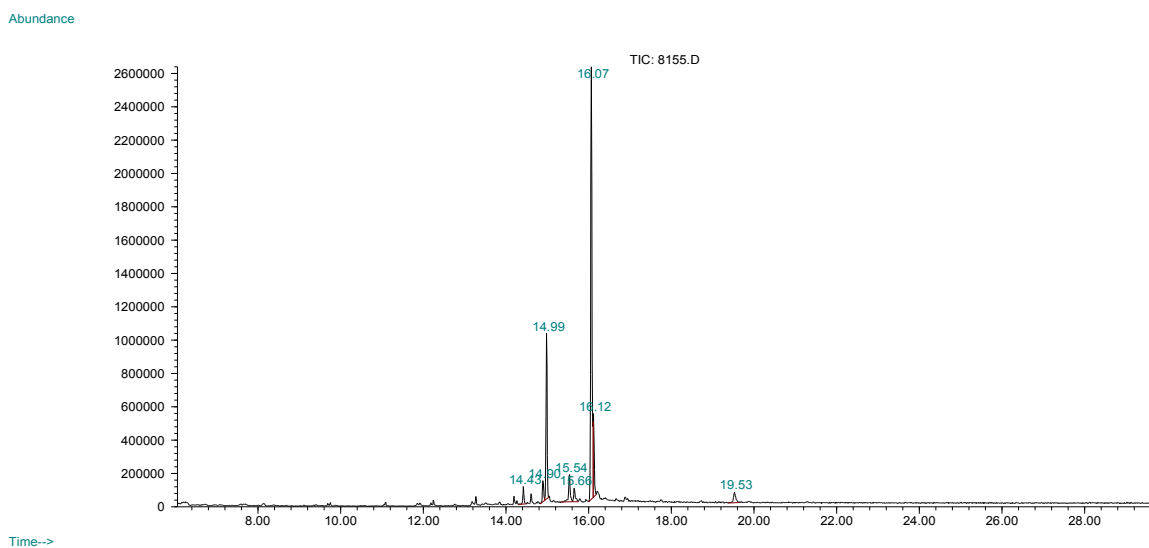
Cromatograma de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Jacaltenango. La librería del detector no muestra la presencia de aceites esenciales, únicamente muestra la presencia de ácidos grasos.

Figura 2



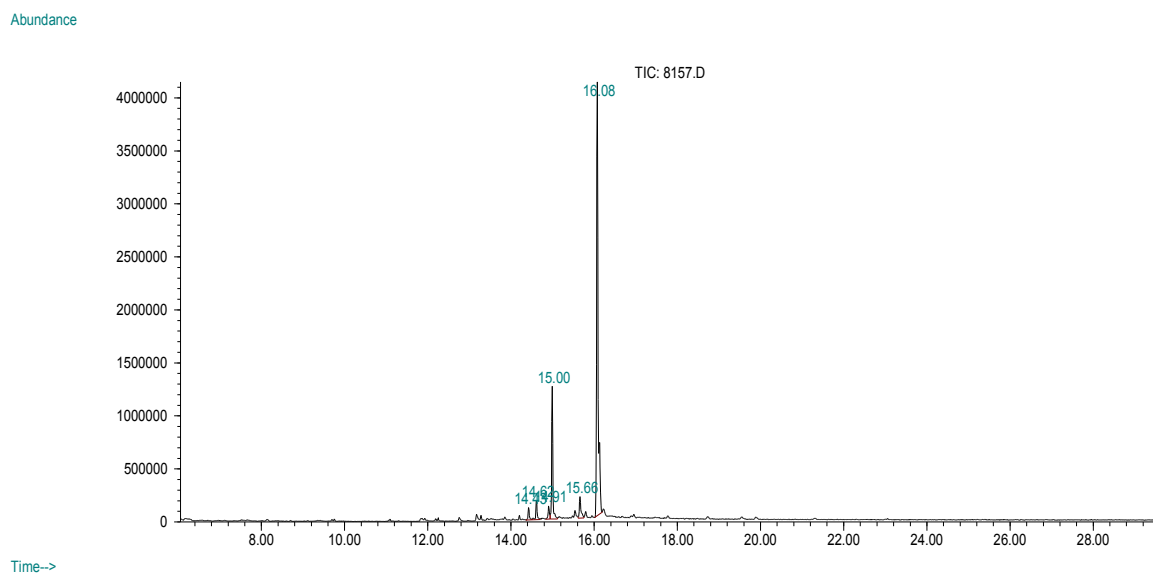
Cromatograma de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Tactic. La librería del detector no muestra la presencia de aceites esenciales, únicamente muestra la presencia de ácidos grasos.

Figura 3



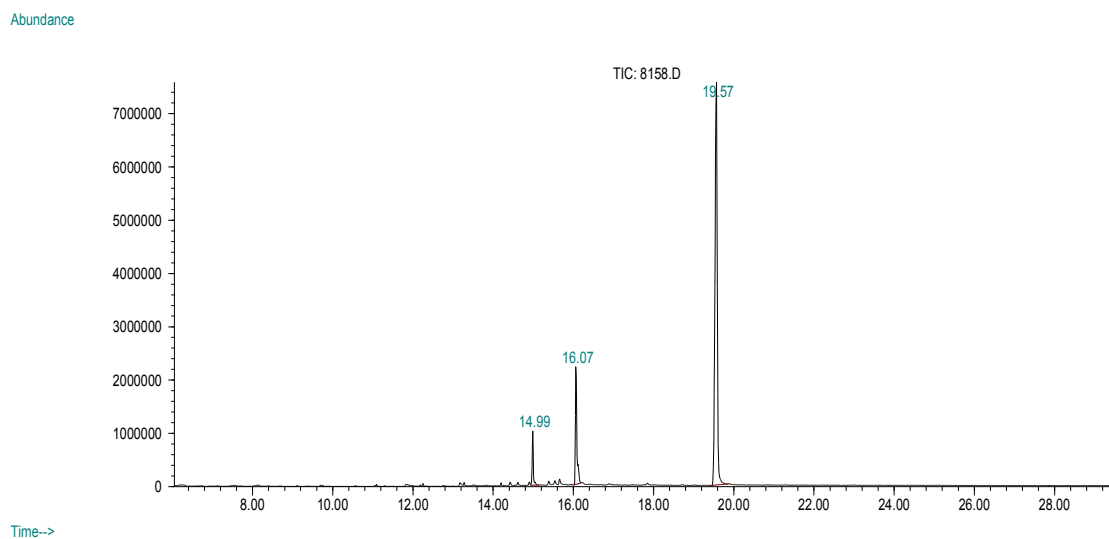
Cromatograma de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Carchá. La librería del detector no muestra la presencia de aceites esenciales, únicamente muestra la presencia de ácidos grasos.

Figura 4



Cromatograma de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Poptún. La librería del detector no muestra la presencia de aceites esenciales, únicamente muestra la presencia de ácidos grasos.

Figura 5



Cromatograma de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Tecpán. La librería del detector no muestra la presencia de aceites esenciales, únicamente muestra la presencia de ácidos grasos.

Anexo 3: Componentes identificados por la librería del detector.

Tabla 5. Componentes identificados por la librería del detector correspondientes al cromatograma de extracto en hexano de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Jacaltenango.

No. de Pico	Tiempo de retención	% Área	Compuesto Identificado	# ref	# CAS	Certeza
5	13.18	3.54	Ciclododecano	53903	00029 4-62-2	90
8	14.43	2.86	Ácido Pentadecanoico	153643	04111 4-00-5	89
9	14.61	4.2	Ácido Hexadecanoico	C 153624	00011 2-39-0	90
11	15	18.53	Hexadecanoato de etilo	CA 165474	00062 8-97-7	98
15	16.08	37.49	Ácido linoleico	184543	00054 4-35-4	99

Fuente: cromatogramas

Tabla 6. Componentes identificados por la librería del detector correspondientes al cromatograma de extracto en hexano de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Tactic

No. de Pico	Tiempo de retención	% Área	Compuesto Identificado	# ref	# CAS	Certeza
1	14.42	1.9	Pentadecanoato de etilo	153670	00000 0-00-0	93

2	14.9	2.57	9-hexadecenoato de etilo	163729	00000 0-00-0	97
3	14.99	18.16	Ácido hexadecanoico	CA 165474	00062 8-97-7	99
6	16.07	58.43	Ácido linoleico	184543	00054 4-35-4	99
7	16.12	9.58	Ácido 9,12,15-octadecatrienoico	183060	00119 1-41-9	97

Fuente: cromatogramas

Tabla 7. Componentes identificados por la librería del detector correspondientes al cromatograma de extracto en hexano de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Carchá.

No. de Pico	Tiempo de retención	% Área	Compuesto Identificado	# ref	# CAS	Certeza
1	14.42	1.9	Pentadecanoato de etilo	153670	00000 0-00-0	93
2	14.9	2.57	9-hexadecenoato de etilo	163710	00000 0-00-0	97
3	14.99	18.16	Ácido hexadecanoico	CA 165474	00062 8-97-7	99
3	15.66	0.9	Ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico	173650	00011 2-63-0	99
6	16.07	58.43	Ácido Linoleico	184543	00054 4-35-4	99
7	16.12	9.58	Ácido 9,12,15- octadecatrienoico	183060	00119 1-41-9	97
6	19.58	75.08	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico.	230979	00011 7-81-7	91

Fuente: cromatogramas

Tabla 8. Componentes identificados por la librería del detector correspondientes al cromatograma de extracto en hexano de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Poptún.

No. de Pico	Tiempo de retención	% Área	Compuesto Identificado	# ref	# CAS	Certeza
1	14.43	1.76	Pentadecanoato de etilo	153670	00000 0-00-0	93
2	14.62	3.02	Ácido hexadecanoico	C 153619	00011 2-39-0	95
4	14.99	17.35	hexadecanoato de etilo	CA 165474	00062 8-97-7	99
5	15.66	3.95	Ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico	173648	00011 2-63-0	99
6	16.08	71.97	Ácido Linoleico	184543	00054 4-35-4	99

Fuente: cromatogramas

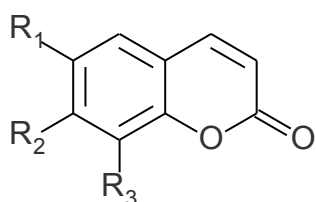
Tabla 9. Componentes identificados por la librería del detector correspondientes al cromatograma de extracto en hexano de basidiomas del hongo *Schizophyllum commune* cultivados en laboratorio a partir de cepa nativa proveniente de Tecpán.

No. de Pico	Tiempo de retención	% Área	Compuesto Identificado	# ref	# CAS	Certeza
1	14.99	5.52	Ácido hexadecanoico	165474	CA 00062 8-97-7	99
2	16.07	15.49	Ácido linoleico	184542	00054 4-35-4	99
3	19.57	78.99	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico	230978	00011 7-81-7	91

Fuente: cromatogramas

Anexo 4: Estructuras básicas de familias de metabolitos secundarios encontrados.

Figura 6: Estructura básica de cumarinas



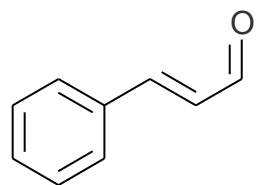
$R_1 = R_3 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$; umbeliferona

$R_1 = R_3 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3$; hemiarina

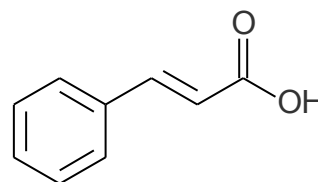
$R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$; esculetol

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$; escopoletol

Figura 7: Estructuras del aldehído cinámico y ácido cinámico



Aldehído cinámico



Ácido cinámico

Figura 8: apertura del anillo lactónico en medio básico.

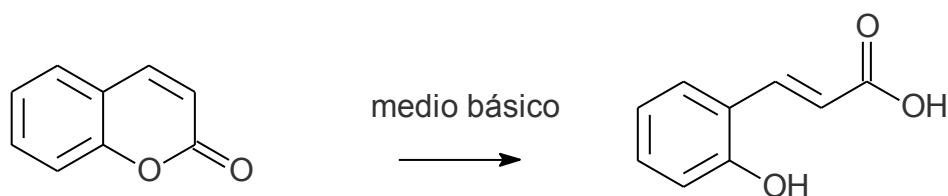
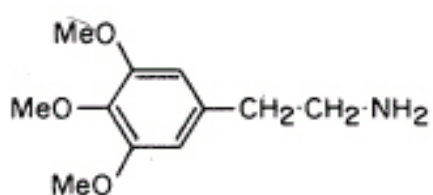
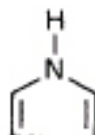


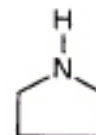
Figura 9: Estructura de alcaloides



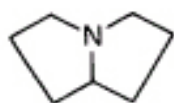
I, Mescalina



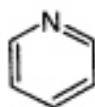
II,1 Pirrol



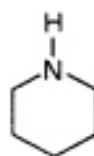
II,1 Pirrolidina



II,2 Pirrolizidina



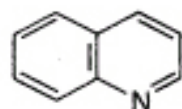
II,3 Piridina



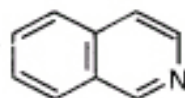
II,3 Piperidina



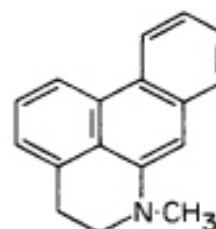
II,4 Tropano



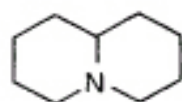
II,5 Quinoleína



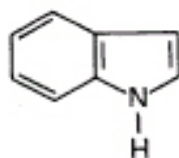
II,6 Isoquinoleína



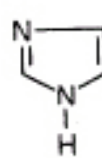
II,7 Aporfina



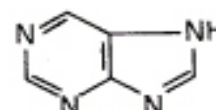
II,8 Nor-lupinano



II,9 Indol

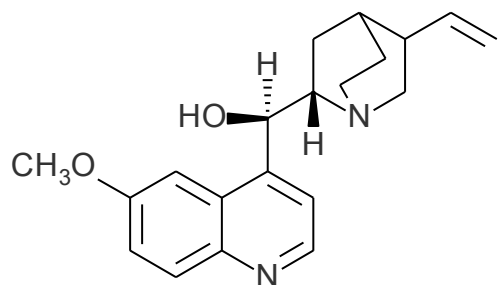


II,10 Imidazol

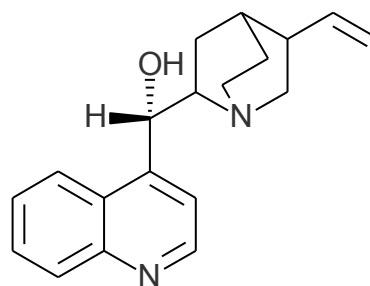


II,11 Purina

Figura 10: Estructura de la Quinina y Cinconina, alcaloides de la Quina.



Quinina



Cinconina

GLOSARIO

ACTIVIDAD INMUNOMODULADORA: Cambio en el sistema inmunitario del cuerpo causado por sustancias que activan o debilitan su función.

ANTITUMORAL: Relacionado con lo que impide el crecimiento anormal de las células.

BASIDIOMA: Una seta es en realidad un cuerpo fructífero que sobresale del suelo y que se produce durante parte del ciclo vital del hongo. Más del 90 % del volumen y masa del hongo puede permanecer bajo tierra en forma de micelios haploides de diferentes tipos de unión.

BASIDIOMICETOS: Los basidiomicetos comprenden más de 14,000 especies de setas comestibles, setas venenosas, falos hediondos, pedos de lobo, políporos, hongos gelatinosos y nidos de pájaro. En el lenguaje coloquial se suelen llamar setas, hongos o incluso champiñones a muchos de estos cuerpos fructíferos, que pueden ser comestibles, sin valor culinario o tóxico.

CITOSTÁTICO: Son fármacos que son capaces de inhibir el crecimiento desordenado de células, alteran la división celular y destruyen las células que se reproducen rápidamente. El efecto citotóxico no se limita solamente a células malignas sino que también ejercen su acción sobre los tejidos de proliferación rápida, como la piel, mucosas, médula ósea, intestino y otros.

CITOTÓXICO: Término usado para describe todo aquello que daña las células. También usado con el nombre de un tipo de célula T.

FITOTÓXICO: Dícese de las sustancias orgánicas o minerales dañinas para el desarrollo y el crecimiento de las plantas.

INMUNOCÉUTICO: Se han utilizado durante mucho tiempo en la medicina clásica con el concepto de nutracéutico, aportando más allá de la nutrición básica y que en este caso tienen un alto influjo sobre el sistema inmune.

LECTINAS: Molécula compleja que tiene tanto proteínas como azúcares. Las lectinas pueden unirse al exterior de las células y causar cambios bioquímicos en ella. Las lectinas son elaboradas tanto por las plantas como por los animales.

LEUCORREA: Secreción anormal de los genitales externos consecuencia de una mala higiene unas veces y otras a una mala y deficiente alimentación.

MICORRÍCICO: La palabra micorriza, de origen griego, define la simbiosis entre un hongo (mycos) y las raíces (rhizos) de una planta.

PÍLEO: las setas constan de un sombrerillo (píleo) en el extremo de un tallo pequeño (estípite).

SAPRÓFITO: organismos que se alimentan de la materia orgánica muerta.

SARCOMA: Un sarcoma es una neoplasia maligna que se origina en un tejido conjuntivo, como pueden ser hueso, cartílago, grasa, músculo, vasos sanguíneos

TUMORES SENOGRÁFICOS: cáncer de mama, que ocurre cuando hay un problema con la replicación de las células del cuerpo.