








## Explorando las propiedades de la funga neotropical: perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvardeen

Mancuello, C.<sup>1\*</sup> ; Benítez, D.<sup>1</sup> ; Maubet, Y.<sup>1</sup> ; Cristaldo, E.<sup>1</sup> ; Veloso, B.<sup>1</sup> ; Ferreira, F.<sup>2</sup> ; Campi, M.<sup>1,8</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales – Área Micología. San Lorenzo, Paraguay

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Análisis de Recursos Vegetales – Área Química Orgánica de los Productos Naturales. San Lorenzo, Paraguay

\*E-mail del autor: clau.man87@gmail.com

**Explorando las propiedades de la funga neotropical: perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvardeen.** *Stiptophyllum erubescens* es un basidiomiceto neotropical distribuido ampliamente en Sudamérica. Sin embargo, no se han encontrado registros de sus actividades biológicas, por lo que esta investigación constituye el primer estudio del perfil químico y las propiedades antioxidante y antimicrobiana de *S. erubescens*. Se obtuvo un extracto crudo etanólico y fracciones con disolventes de distintas polaridades (hexano, éter etílico, acetato de etilo y residuo acuoso) del basidioma silvestre. Se realizó la cuantificación de compuestos fenólicos y el ensayo de DPPH. Se analizó la composición de las fracciones con mayor concentración de fenoles y antioxidantes mediante GC-MS. Finalmente, la actividad antimicrobiana se evaluó mediante el test de discos de difusión. La mayor concentración de compuestos fenólicos y antioxidantes ( $172 \pm 4$  mg EAG g<sup>-1</sup> y 185 mg EAA g<sup>-1</sup>, respectivamente) y actividad antioxidante (85%) se obtuvo en la fracción de acetato de etilo. Para las fracciones éter etílico y acetato de etilo, se determinaron por GC-MS alcanos y sus derivados, ácidos grasos, alcoholes grasos, fenoles, y un derivado del benzofurano. Se reporta por primera vez en un basidiomiceto el 5-metil-1-(2, 6, 6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il) hexa-1,4-dien-3-ona. Ni el extracto crudo ni las fracciones presentaron actividad antimicrobiana.

**Palabras claves:** antimicrobianos, compuestos fenólicos, metabolitos secundarios

**Exploring the properties of neotropical funga: chemical profile, antioxidant and antimicrobial activities of *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvardeen.** *Stiptophyllum erubescens* is a neotropical basidiomycete widely distributed in South America. However, no records of its biological properties were found. Therefore, this work constitutes the first study of the chemical profile and of the antioxidant and antimicrobial properties of *S. erubescens*. A crude ethanolic extract and fractions with solvents of different polarities (hexane, ethyl ether, ethyl acetate, and aqueous residue) were obtained from wild basidiomata. Total phenols content and DPPH assays were performed. GC-MS was deployed to analyze the chemical composition of the fractions with the highest concentration of phenolic and antioxidant compounds. Antimicrobial activity was evaluated through the disk diffusion test. The ethyl

*Steviana*, Vol. 14 (2), 2022 pp.05-16

Original recibido el 8/11/2022

Aceptado el 31/12/2022



Todo el contenido de esta revista está bajo una Licencia Creative Commons

acetate fraction obtained the highest concentration of phenolic and antioxidant compounds ( $172 \pm 4$  mg GAE  $g^{-1}$ , and  $185$  mg AAE  $g^{-1}$ , respectively), and antioxidant activity (85%). Alkanes and their derivatives, fatty acids, fatty alcohols, phenols, and a benzofuran derivative were found through GC-MS in the ethyl acetate and ethyl ether fractions. For the first time in a basidiomycete, 5-methyl-1-(2, 6, 6-trimethylcyclohexa-2,4-dien-1-yl)hexa-1,4-dien-3-one is reported. Neither crude extract nor fractions showed antimicrobial activity.

**Keywords:** antimicrobials, phenolic compounds, secondary metabolites

---

## INTRODUCCIÓN

Los productos naturales han sido utilizados durante siglos, no obstante, el inicio del estudio formal de las propiedades biológicas y químicas de los hongos se realizó en las últimas décadas (Zeb y Lee, 2021). En la historia evolutiva del hombre, en varias culturas alrededor del mundo, los hongos basidiomicetos han sido utilizados como fuente de comida y medicina; en la actualidad son considerados alimentos nutritivos y beneficiosos para la salud humana, al poseer compuestos bioactivos y presentar sabores únicos (Chang y Wasser, 2012; Lu et al., 2020, Zeb y Lee, 2021). Los compuestos bioactivos de interés caracterizados en los hongos basidiomicetos son: polisacáridos, glicoproteínas, ácidos grasos insaturados esenciales (palmítico, oleico y linoleico), compuestos fenólicos, esteroides de importancia (ergosterol), proteínas bioactivas (enzimas, lecitina, ergotioneína) y vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, niacina y tocoferol) (Ma et al., 2018; Lu et al., 2020). Algunos de los beneficios medicinales de los hongos reportados aluden a las propiedades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas, potenciadores del sistema inmunitario, antivirales, antihiperlipidiantes, anti-parasitarias y antiinflamatorias (Wasser, 2017).

El género *Stiptophyllum* fue erigido para acomodar a la especie *Stiptophyllum erubescens* (Berk.) Ryvar-den (Campos-Santana y Loguer-cio-Leite, 2008). Esta especie se caracteriza por presentar basidiomas estipitados, píleo y estípites

tomentoso, superficie himenial lamelar, sistema hifal trimitico y basidiosporas cilíndricas hialinas e inamiloides (Ryvar-den, 1973). *Stiptophyllum erubescens* es endémica de la región del neotrópico y ha sido reportada para Bolivia, Colombia, Perú, Venezuela, Guyana, Argentina, Paraguay y Brasil (Fidalgo, 1968; Ryvar-den, 1973; Ryvar-den, 1991; Singer, 1975; Wright y Deschamps, 1977; Bononi, 1992; Ryvar-den y Iturriaga, 2001; Popoff, 2003; Gibertoni et al., 2004; Drechsler-Santos, 2005; Campos-Santana y Loguer-cio-Leite, 2008).

El estudio de la química de los hongos en Sudamérica se encuentra subdesarrollado, no se han encontrado antecedentes bibliográficos acerca de la caracterización química y biológica de *S. erubescens*, sin embargo, en el Paraguay se ha reportado el perfil químico y biológico preliminar para la especie *Gloeophyllum striatum*, un género cercano de *Stiptophyllum* (Campi et al., 2019). Con el avance del estudio taxonómico, la resolución de conflictos sistemáticos y el descubrimiento de nuevas especies de macrohongos en el neotrópico, surge la necesidad de integración de áreas de estudio, con el fin de consolidar el análisis interdisciplinario de la Funga de la región, en búsqueda de recursos endógenos útiles para el hombre. Siguiendo con la línea de investigación que trata de la exploración de las propiedades de los hongos nativos del Paraguay, la hipótesis presentada es que el género *Stiptophyllum* posee propiedades biológicas, por ende, el objetivo principal del trabajo fue la caracteri-

zación química y el análisis de las propiedades biológicas (antioxidantes y antimicrobianas) de la especie endémica *S. erubescens*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Determinación taxonómica de la especie

Las muestras fueron colectadas en el Parque Nacional Ybycuí, Departamento Paraguari (25°40'33''S 56°55'10''W), el 14 de mayo del 2019. La referencia de herbario fue depositada en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales FACEN N°4378 (MC421). La especie fue identificada de acuerdo a sus características morfológicas macroscópicas y microscópicas. Para los análisis microscópicos se realizaron cortes a mano alzada del basidioma maduro y fueron montadas en hidróxido de potasio acuoso (2%), para la tinción de las estructuras microscópicas, se utilizó Floxina y Rojo Congo y para las reacciones químicas se utilizó reactivo de Melzer, siguiendo los lineamientos de Robledo et al. (2020).

### Extracción

La extracción se realizó mediante maceración exhaustiva del basidioma seco pulverizado con etanol al 96%, bajo agitación periódica, durante un período de 48 horas, luego cada 24 horas hasta completar 3 extracciones. Se filtró el extracto y se evaporó el disolvente con rotavapor (Rotav, China) hasta la obtención del extracto crudo, el cual fue almacenado en frasco de vidrio a  $4 \pm 0,5$  °C hasta su utilización (Tiwari et al., 2011 con modificaciones). Para las fracciones, 3 g del extracto crudo se suspendieron en 200 mL de agua destilada y se sometió a una extracción secuencial líquido-líquido con hexano, éter etílico y acetato de etilo ( $3 \times 100$  ml cada uno).

### Ensayos cualitativos

Las pruebas cualitativas se realizaron según la metodología descrita por Tiwari et al. (2011)

con algunas modificaciones. Se prepararon soluciones del extracto etanólico las cuales se sometieron a las siguientes pruebas: Dragendorff, Wagner y Mayer para alcaloides; Liebermann-Burchard y Salkowski para triterpenos y esteroides; y Fehling para azúcares reductores. Cada prueba se realizó por triplicado y se comparó con una muestra control positiva (codeína para alcaloides, colesterol para triterpenos y esteroides, glucosa para azúcares reductores) y negativa (disolvente). Se utilizó como criterio de evaluación de los resultados, con relación al control positivo, lo siguiente: (+) = coloración tenue, (++) = coloración media, (+++) = coloración intensa, (-) = sin cambio de coloración.

### Cuantificación de compuestos fenólicos totales

La concentración de fenólicos totales se determinó de acuerdo al método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Turkoglu et al., 2007 con modificaciones). Se preparó una solución metanólica del extracto crudo de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  de concentración, y se transfirieron  $200 \mu\text{L}$  de esta a un matraz aforado de 10 mL. Seguido, se le agregaron al matraz 2 mL de agua destilada y  $200 \mu\text{L}$  del reactivo Folin Ciocalteu 2N; la mezcla fue homogeneizada y guardada por 5 minutos en oscuridad, luego se adicionaron 1,5 mL de una solución de carbonato de sodio al 20%, y cada matraz fue llevado a volumen con agua destilada. Como blanco se utilizaron  $200 \mu\text{L}$  de metanol tratado con el mismo procedimiento. Las muestras fueron homogeneizadas y después de 1 hora de reposo en la oscuridad se leyó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro utilizando una celda de 1 cm de paso óptico (GENESYS 140 Vis de Thermo Scientific). Para construir la curva de calibración se utilizó solución de ácido gálico de concentración  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  (Sigma-Aldrich®), a partir de la cual se tomaron alícuotas para obtener soluciones con concentraciones comprendidas en un rango de  $0,5$  a  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  en matraces de 10 mL (enumerados), los cuales recibieron el mismo

tratamiento que el extracto crudo. La concentración de compuestos fenólicos totales se informa a partir de la curva de calibración como equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg EAG g<sup>-1</sup>). La determinación se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como la media ± desviación estándar (DE).

#### **Evaluación de la actividad antioxidante**

Se determinó mediante el método de absorbancia de radicales DPPH• según Campi et al. (2021). Del extracto crudo se prepararon 10 mL de una solución metanólica de concentración 1 mg mL<sup>-1</sup>, de la cual se tomaron 100 µL que se adicionaron a 3,9 mL de solución metanólica del radical DPPH• (Merck) (0,02 mg mL<sup>-1</sup>), como control negativo fueron utilizados 100 µL de metanol adicionados a 3,9 mL de solución metanólica del radical DPPH•. La muestra fue homogeneizada y se dejó reposar en oscuridad durante 1 hora. La reducción del reactivo se evidenció a simple vista por el cambio de coloración de violeta oscuro a amarillo claro. Cuantitativamente el cambio de absorbancia fue medido con un espectrofotómetro UV-VIS (Thermo SCIENTIFIC Modelo Genesys 10S) a 517 nm. Para la curva de calibración se utilizó solución metanólica de ácido ascórbico con una concentración de 1 mg mL<sup>-1</sup>, a partir del cual, se prepararon diluciones en un rango de 10 a 100 µg mL<sup>-1</sup>, de cada dilución se tomaron 100 µL que recibieron el mismo tratamiento que la muestra. Con los resultados de la curva se determinó la concentración equivalente de ácido ascórbico. La concentración de compuestos antioxidantes totales se informa a partir de la curva de calibración como equivalentes de ácido ascórbico por gramo de extracto (mg EAA g<sup>-1</sup>). La determinación se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como la media ± desviación estándar (DE). Para el cálculo del porcentaje de actividad se empleó la siguiente fórmula:

$$A = \frac{\lambda_{DPPH} - \lambda_{Solución}}{\lambda_{DPPH}} \times 100$$

Donde  $\lambda_{DPPH}$  y  $\lambda_{Solución}$  son la absorbancia del radical DPPH y la solución respectivamente.

#### **Determinación de compuestos por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)**

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se realizó en un equipo Shimadzu Modelo 2010 Plus para las fracciones con mayor contenido de fenoles totales y antioxidantes. Se utilizó una columna capilar con soporte de sílica fundida columna SLB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) y Helio como gas de arrastre con una pureza de 5,0 y a un flujo en columna de 0,87 mL min<sup>-1</sup>; el espectrómetro de masas estaba equipado con una fuente de ionización de 70 eV y un filamento de 60 µm mantenido a 300°C. La temperatura varió desde 90°C hasta 310°C a 10°C por minuto. Condiciones del horno de la columna: inicial a 60°C por 4 minutos, luego un calentamiento a razón de 6 °C/min hasta los 280°C y a esta temperatura permaneció constante por 20 min; tiempo total de análisis es de 60 min; puerto de inyección a 250°C; modo de inyección Splitless relación 20:1; volumen de inyección fue de 1 µL; sistema de detección por espectrometría de masas en modo full scan 55 – 550 m/z con una temperatura de la fuente de 250°C y una temperatura de la línea de transferencia de 250°C. El porcentaje de homología para la identificación de los compuestos con la librería National Institute of Standards and Technology (NIST) fue de mínimo 80%.

#### **Evaluación de la actividad antimicrobiana**

La actividad antimicrobiana se determinó por el método de disco difusión modificado

de Bauer et al. (1966). Utilizando metanol p.a. como disolvente, se prepararon dos concentraciones distintas del extracto fúngico, 10 mg mL<sup>-1</sup> y 50 mg mL<sup>-1</sup>, y una sola concentración para las fracciones, 1 mg mL<sup>-1</sup>. Como control negativo se usó el disolvente y como positivo (inhibición del crecimiento) los antibióticos Meropenem (50 mg mL<sup>-1</sup>) para bacterias Gram negativas, Ciprofloxacina (25 mg mL<sup>-1</sup>) para bacterias Gram positivas y Nistatina (20 mg mL<sup>-1</sup>) para hongos. Los discos de papel estériles (discos blanco de 6 mm de diámetro, LIOFILCHEM®) se impregnaron con 10 µL de las soluciones a probar (extractos, fracciones, controles) y se dejaron secar hasta la completa evaporación del disolvente. Los microorganismos de prueba fueron *Escherichia*

*coli* WDCM 00012, *Salmonella enterica* WDCM 00031, *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00026, *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705, *Enterococcus faecalis* WDCM 00087, *Staphylococcus epidermidis* WDCM 00036, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Candida albicans* WDCM 00054. De los mismos, se prepararon en Caldo Mueller-Hinton estéril (MHB) (OXOID, 21 g L<sup>-1</sup>), inóculos ajustados a la turbidez de 0,5 McFarland (10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) mediante un densitómetro (DEN-1 Biosan). La inoculación se llevó a cabo con hisopo en placas con medios estériles, Agar Mueller-Hinton (MHA) (OXOID, 38 g L<sup>-1</sup>) para bacterias y Agar Sabouraud Dextrosa (SDA) (MERCCK, 65 g L<sup>-1</sup>) para *Candida*. Se colocaron los discos sobre la superficie del agar y se dejaron

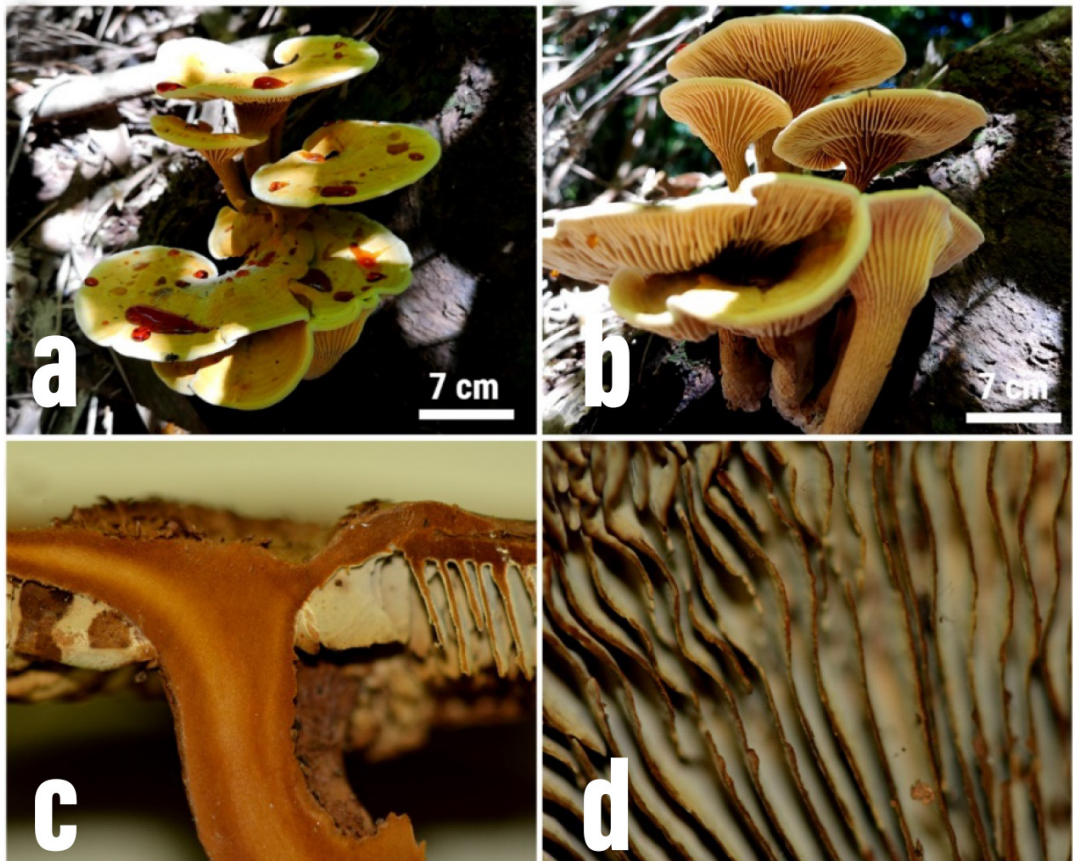


Figura 1. a y b) *Stiptophyllum erubescens* basidioma maduro fresco. c) Sección transversal del basidioma. d) Himenóforo lamelar

reposar 15 minutos para la difusión de los antimicrobianos. Las placas se incubaron en posición invertida a 37 °C durante 18-24 horas (35°C durante 20-24 h para *Candida*) y se midieron los diámetros de las zonas de inhibición. Cada prueba se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como el promedio del diámetro de los halos de inhibición para cada tratamiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Taxonomía

Los caracteres morfológicos macro y microscópicos observados coinciden con las descripciones bibliográficas (Campos-Santana y Loguercio-Leite, 2008). Macroscópicamente, la especie se caracteriza por presentar basidiomas pileados (Figura 1), estípite central duro, inicialmente velutinoso a longitudinalmente sulcado, un pseudoesclerocio en la base y el cambio de coloración del píleo al contacto con una solución básica (KOH 3%) (Ryvarden, 1973). Microscópicamente se caracteriza por el sistema hifal trimítico y basidiosporas de 9–12 × 3–4(–5) μm, cilíndricas a elipsoide, hialinas a levemente amarillentas, de pared delgada, inamiloides (Campos-Santana y Loguercio-Leite, 2008).

### Ensayos cualitativos

Del análisis cualitativo del extracto crudo de *Stiptophyllum erubescens* (Tabla 1), se obtu-

vieron resultados positivos para triterpenos, esteroides y azúcares reductores, y negativo para alcaloides. No se encontraron registros bibliográficos sobre el perfil cualitativo de metabolitos secundarios de la especie en estudio, sin embargo se ha reportado la presencia de compuestos terpenoides y alcaloides para la especie *Gloeophyllum striatum*, una especie filogenéticamente cercana (Campi et al., 2019).

### Fenoles totales y actividad antioxidante

Las mayores concentraciones de compuestos fenólicos totales (CFT), concentración y actividad de compuestos antioxidantes (CAA) se obtuvieron en el extracto crudo y fracción de acetato de etilo (Tabla 2). Con respecto a la CFT los valores registrados fueron de 132 mg EAG g<sup>-1</sup> y 172 mg EAG g<sup>-1</sup> respectivamente, para la CAA se obtuvieron valores de 84 mg EAA g<sup>-1</sup> con 57% de actividad y 185 mg EAA g<sup>-1</sup> y 85%. Se observa una correlación directa entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante. No se encontraron referencias bibliográficas sobre la cuantificación de compuestos fenólicos y antioxidantes para la especie *S. erubescens*, sin embargo, se reportaron valores menores para especies cercanas. Se describe una CFT de 17 ± 2 mg EAG g<sup>-1</sup> para el extracto etanólico de *Gloeophyllum striatum* (Campi et al., 2019) y 20 ± 2 mg EAG g<sup>-1</sup> para el extracto de *Gloeophyllum sepiarium* (Sulkowska-Ziaja et al., 2012). Con respecto a la

**TABLA 1.** Resultados de los ensayos cualitativos del extracto etanólico de *Stiptophyllum erubescens*

Grupo	Prueba	Extracto etanólico
<i>Alcaloides</i>	Dragendorff	-
	Wagner	-
	Mayer	-
<i>Triterpenos y esteroides</i>	Liebermann-Burchard	+++
	Salkowski	+++
<i>Azúcares reductores</i>	Fehling	++

(+) Coloración tenue, (++) Coloración media, (+++) Coloración intensa, (-) Ausencia

**TABLA 2.** Resultados de la evaluación de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante realizados al extracto crudo y fracciones de *Stiptophyllum erubescens*

Extracto y fracciones	Compuestos fenólicos (mg EAG g <sup>-1</sup> ± DE)	Antioxidantes (mg EAA g <sup>-1</sup> ± DE)	Actividad antioxidante (% ± DE)
Extracto crudo	132 ± 2	84 ± 2	57 ± 2
Fracción hexano (H)	12 ± 2	9 ± 1	2 ± 0
Fracción éter etílico (EE)	52 ± 1	78 ± 2	38 ± 1
Fracción acetato de etilo (AE)	172 ± 4	185 ± 0	85 ± 0
Fracción residual acuosa	30 ± 1	37 ± 1	17 ± 1

EAG = Equivalente a ácido gálico; EAA = Equivalente a ácido ascórbico; DE = Desviación estándar

CAA, se reportaron valores de  $10 \pm 1$  mg EAA g<sup>-1</sup> y 7% de actividad para *Gloeophyllum striatum* (Campi et al., 2019).

### Compuestos determinados por GC-MS

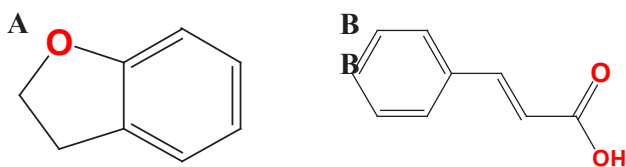
En la fracción éter etílico (EE) se detectaron 16 compuestos (Tabla 3). Se encontró un derivado del benzofurano, el 2,3-dihidrobenzofurano (Figura 2a), este grupo se caracteriza por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y anticancerosas (Miao et al., 2019; Khatana y Gupta, 2020). Otra molécula detectada fue el ácido cinámico (Figura 2b), reportado entre los compuestos fenólicos más abundantes para la especie *Ganoderma lucidum* (Heleno et al., 2012), además de otras especies de macromicetos (Barros et al., 2009). También se confirma la presencia de 1-nonadeceno compuesto con actividad antimicrobiana (Balachandar et al., 2018; Chowdhary y Kaushik, 2018) y 1-heptacosanol para el cual se informa actividad antimicrobiana y antioxidante (Imada, 2005). Se reporta por primera vez para un basidiomiceto la presencia de 5-metil-1-(2,6,6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il)hexa-1,4-dien-3-ona, un sesquiterpeno aislado anteriormente de las hojas y ramas de *Flourensia cernua* DC; la naturaleza y actividad de este compuesto aún no han sido descritas (Jasso de Rodríguez

et al., 2017), sin embargo, se ha comprobado la actividad antimicrobiana de sesquiterpenos en aceites esenciales del género de plantas *Stachys* (Goren et al., 2011).

Para la fracción de acetato de etilo (AE) se determinaron 17 compuestos (Tabla 4), entre los que se encuentran los anteriormente mencionados para EE (2,3-dihidrobenzofurano, ácido cinámico, 1-nonadeceno y 1-heptacosanol) y el ácido 9,12-octadecadienoico (ácido linoleico), para el cual se ha reportado que tienen actividad antimicrobiana (Wei et al., 2011) y es un importante ácido graso esencial  $\omega$ -6 presente en la mayoría de las especies de hongos (Sande et al., 2019). Si bien por el método colorimétrico se informa una presencia considerable de compuestos fenólicos para la fracción AE, en el análisis de GC-MS solo se logró detectar ácido cinámico, esto podría deberse a la alta polaridad y baja volatilidad de los fenoles que dificultan su estudio por GC-MS. Respecto a los triterpenos y esteroides, estas no se detectaron en las fracciones EE y AE, probablemente fueron extraídas en su mayoría en la fracción hexánica al ser afines a los disolventes apolares, además de ser también compuestos de baja volatilidad.

**TABLA 3.** Perfil cromatográfico de las moléculas determinadas de la fracción éter etílico de *Stiptophyllum erubescens*

% Homología	PM	FM	% Abundancia	Tiempo de Retención (min)	Molécula
92	140	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	3,18	7,248	5-Deceno
94	140	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	1,64	8,701	5-metil- 4-Noneno
91	172	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O	1,06	12,828	1-Undecanol
98	168	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	6,58	14,545	1-Dodeceno
92	120	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	1,64	15,453	2,3-dihidrobenzofurano
92	196	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	1,58	16,513	3-Tetradeceno
92	154	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub>	1,79	18,257	1-Undeceno
97	196	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	15,59	19,330	1-Tetradeceno
97	148	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	3,66	20,457	Ácido Cinámico
97	227	C <sub>15</sub> H <sub>33</sub> N	2,44	25,722	N,N-dimetil-1-Tridecanamina
97	238	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>	13,45	27,247	1-Heptadeceno
96	266	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	9,99	30,623	1-Nonadeceno
92	308	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	1,05	33,222	9,12-Octadecadienoato de etilo
96	354	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> O	5,44	33,699	1-Tetracosanol
95	396	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O	2,64	36,522	1-Heptacosanol
90	230	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O	1,26	37,044	5-metil-1-(2,6,6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il)hexa-1,4-dien-3-ona



**Figura 2.** Estructura química de: A) 2,3-dihidrobenzofurano y B) Ácido cinámico.



**TABLA 4.** Perfil cromatográfico de las moléculas determinadas de la fracción acetato de etilo de *Stiptophyllum erubescens*

% Homología	PM	FM	% Abundancia	Tiempo de Retención (min)	Molécula
91	140	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	3,05	7,249	5-Deceno
94	140	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	1,64	8,703	5-metil-4-Noneno
91	140	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	1,02	9,077	4-Deceno
98	168	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	0,92	12,827	1-etil-2-heptil-Ciclopropano
97	168	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	5,78	14,550	1-Dodeceno
91	120	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	1,09	15,461	2,3-dihidrobencofurano
91	196	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	1,39	16,514	3-Tetradeceno
94	196	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	1,55	18,258	1,1,2-trimetil-Cicloundecano
97	182	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub>	12,99	19,332	1-Trideceno
98	282	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	2,50	20,425	Ácido Cinámico
97	266	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	11,56	27,248	1-Nonadeceno
93	256	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	1,64	30,161	Ácido n-Hexadecanoico
84	298	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	13,64	30,625	14-metil-Hexadecanoato de etilo
96	280	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	1,10	32,858	Ácido 9,12-Octadecadienoico
93	308	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	10,07	33,224	Linoleato de etilo
95	396	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O	5,16	33,697	1-Heptacosanol
96	354	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> O	2,47	36,520	Alcohol Lignocérico

### Actividad antimicrobiana

A pesar de la detección de compuestos antimicrobianos previamente citados en la bibliografía (2,3-dihidro-benzofurano, ácido cinámico, sesquiterpenos) (Jasso de Rodríguez et al., 2017, Miao et al., 2019; Khatana y Gupta, 2020), el ensayo preliminar de propiedades antimicrobianas con la técnica de disco difusión reportó resultados negativos para el extracto crudo y las fracciones ensayadas de la especie *S. erubescens*. Esta técnica puede verse afectada por la polaridad y el peso molecular de los compuestos, siendo los menos polares y los de alto peso molecular los que difunden más lentamente en medios basados en agar (Humphries et al., 2013; Moreno et al., 2006). No se encontraron registros bibliográficos acerca de las propiedades antimicrobianas

de la especie *S. erubescens*, sin embargo, especies cercanas como *Gloeophyllum odoratum* y *Gloeophyllum sepiarium* presentaron actividad antimicrobiana contra varias cepas de bacterias y hongos, entre ellas *Staphylococcus aureus* y *Candida* spp (Ranadive et al., 2013; Lira et al., 2020).

### CONCLUSIONES

El estudio de los hongos, desde el punto de vista taxonómico, químico y biológico, se encuentra subdesarrollado en el neotrópico. *Stiptophyllum erubescens* es endémica de la región neotropical y se describe por primera vez desde el punto de vista químico y biológico. Los ensayos cualitativos revelaron la presencia de triter-

penos, esteroles y azúcares reductores, además se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos, siendo el más elevado  $172 \pm 4$  mg EAG  $g^{-1}$  para la fracción de acetato de etilo (AE), que también presentó la actividad antioxidante más alta, con 185 mg EAA  $g^{-1}$  y 85% de actividad, observándose una correlación directa entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante. Mediante GC-MS se detectaron 16 compuestos en la fracción EE y 17 en la fracción AE, reportándose por primera vez para un basidiomiceto el 5-metil-1-(2,6,6-trimetilciclohexa-2,4-dien-1-il) hexa-1,4-dien-3-ona. Además se reporta el ácido 9,12-octadecadienoico, un importante ácido graso esencial  $\omega$ -6. En la evaluación antimicrobiana preliminar, el extracto etanólico y las fracciones no presentaron actividad contra ninguno de los microorganismos de prueba. Estos resultados confirman que *Stiptophyllum erubescens* puede ser una fuente importante de antioxidantes naturales. Se recomienda futuros estudios utilizando micelio en cultivo líquido para comprobar la variación de la producción de metabolitos en condiciones controladas de su desarrollo. Además de la implementación de otros métodos de aislamiento y determinación para los compuestos fúngicos polares y de baja volatilidad.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la financiación de este trabajo mediante el proyecto PINV18-685 “Evaluación y caracterización de la actividad antibacteriana, antimicótica y antiparasitaria en extractos de macrohongos nativos del Paraguay” y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción (FACEN-UNA) que apoyó con las instalaciones utilizadas en este proyecto. Agradecen también a FungiParaguay y Fungicosmos por su apoyo y revisiones que ayudaron a mejorar el contenido y la redacción de este artículo.

## APORTES DE LOS AUTORES

Todos los autores realizaron aportes significativos a este trabajo, participando en su planificación y ejecución, así como en la interpretación de los resultados y la escritura del manuscrito. Asimismo, están de acuerdo con su publicación.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores manifiestan que no existe conflicto de interés en este estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balachandar, R., Karmegam, N., Saravanan, M., Subbaiya, R., & Gurumoorthy, P. (2018). Synthesis of bioactive compounds from vermicast isolated actinomycetes species and its antimicrobial activity against human pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 121, 155-165. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.027>
- Barros, L., Dueñas, M., Ferreira, I. C., Baptista, P., & Santos-Buelga, C. (2009). Phenolic acids determination by HPLC-DAD-ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1076-1079. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.039>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493-496.
- Bononi, V. L. (1992). Fungos macroscopicos de Rio Branco, Acre, Brasil. *Hoehnea*, 19, 31-37.
- Campi, M., Mancuello, C., Ferreira, F., Maubet, Y., Cristaldo, E., & Benítez, D. (2019). Preliminary evaluation of phenolic compounds, antioxidant activity and bioactive compounds in some species of basidiomycetes fungi from Paraguay. *Steviana*, 11(1), 26-41. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.039>

- org/10.56152/ffs.v11i1.1033
- Campi, M., Mancuello, C., Ferreira, F., Maubet, Y., Cristaldo, E., & Robledo, G. (2021). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Four Native Species of the Ganodermataceae Family (Agaricomycetes) from Paraguay. *International journal of medicinal mushrooms*, 23(8), 65–76. <https://doi.org/10.1615/IntJ-MedMushrooms.2021039298>
- Campos-Santana, M., & Loguercio-Leite, C. (2008). A note on *Stiptophyllum erubescens*. *Mycotaxon*, 106, 127–132.
- Chang, S. T., & Wasser, S. P. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International journal of medicinal mushrooms*, 14(2), 95–134. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i2.10>
- Chowdhary, K., & Kaushik, N. (2018). Biodiversity study and potential of fungal endophytes of peppermint and effect of their extract on chickpea rot pathogens. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51, 139-155. <https://doi.org/10.1080/03235408.2018.1440707>
- Drechsler-Santos RS. (2005). Inventário de Basidiomycetes Lignolíticos em Santa Catarina: Guia Eletrônico. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Universidade Federal de Santa Catarina.
- Fidalgo, M.E.P.K. (1968). Contribution to the fungi of Mato Grosso, Brasil. *Rickia*, 3, 171-219.
- Gilbertoni, T.B., Ryvarden, L., & Cavalcanti, M.A.Q. (2004). Studies in neotropical polypores 18. New species from Brazil. *Synopsis Fungorum*, 18, 44–56.
- Goren, A. C., Piozzi, F., Akcicek, E., Kılıç, T., Çarıkçı, S., Mozioglu, E., & Setzer, W. N. (2011). Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 448-453. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.04.013>
- Heleno, S. A., Barros, L., Martins, A., Queiroz, M. J. R., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2012). Fruiting body, spores and in vitro produced mycelium of *Ganoderma lucidum* from Northeast Portugal: A comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Research International*, 46(1), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.009>
- Humphries, R. M., Pollett, S., & Sakoulas, G. (2013). A current perspective on daptomycin for the clinical microbiologist. *Clinical microbiology reviews*, 26(4), 759–780. <https://doi.org/10.1128/CMR.00030-13>
- Imada, C. (2005) Enzyme inhibitors and other bioactive compounds from marine Actinomycetes. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 87(1), 59–63. <https://doi.org/10.1007/s10482-004-6544-x>
- Jasso de Rodríguez, D., Salas-Méndez, E. de J., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F. D., Díaz-Jiménez, M. L. V., Sáenz-Galindo, A., González-Morales, S., Flores-López, M.L., Villarreal-Quintanilla, J.A., Peña-Ramos, F.M., & Carrillo-Lomelí, D. A. (2017). Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi. *Industrial Crops and Products*, 107, 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.054>
- Khatana, K. & Gupta, A. (2020). An update on natural occurrence and Biological Activity of Benzofurans. *Acta Scientific Medical Sciences*, 4(10), 114-123.
- Lira, M. H. P. D., Andrade Júnior, F. P. D., Moraes, G. F. Q., Macena, G. D. S., Pereira, F. D. O., & Lima, I. O. (2020). Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review. *Journal of Essential Oil Research*, 32(3), 187-197. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1745697>
- Lu, H., Lou, H., Hu, J., Liu, Z., & Chen, Q. (2020). Macrofungi: A review of cultivation strategies, bioactivity, and application of mushrooms. *Comprehensive reviews in food*

● ● ● **Mancuello, C. et al. Perfil químico, actividades antioxidantes y antimicrobianas de *Stiptophyllum erubescens***

- science and food safety*, 19(5), 2333-2356. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12602>
- Ma, Gaoxing; Wenjian, Yang; Liyan, Zhao; Fei, Pei; Donglu, Fang; Qihui, Hu (2018). A Critical Review on the Health Promoting Effects of Mushrooms Nutraceuticals. *Food Science and Human Wellness* 7, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.05.002>
- Miao, Y. H., Hu, Y. H., Yang, J., Liu, T., Sun, J., & Wang, X. J. (2019). Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives. *RSC advances*, 9(47), 27510-27540.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., & Vojnov, A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free radical research*, 40(2), 223–231. <https://doi.org/10.1080/10715760500473834>
- Popoff, O.F. (2003). Notes on *Daedalea erubescens*, *Hexagonia decipiens* and the *Phaeotrametaceae*. *Mycotaxon*, 87, 103-108.
- Ranadive, K. R., Belsare, M. H., Deokule, S. S., Jagtap, N. V., Jadhav H.K., & Vaidya J.G. (2013). Glimpses of antimicrobial activity of fungi from World. *Journal on New Biological Reports*, 2(2), 142–162.
- Robledo, G.L., Palacio, M., Urcelay, C., Vasco-Palacios, A.M., Crespo, E., Popoff, O., Pöldmaa, K., Ryvarden, L., & Costa-Rezende, D.H. (2020). Mystery unveiled: Diacanthodes Singer – a lineage within the core polyporoid clade. *Systematics and Biodiversity*, 18(6), 538-556. <https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1776784>
- Ryvarden, L. (1973). *New Genera in the Polyporaceae*. *Norwegian Journal of Botany*, 20, 1–5.
- Ryvarden, L. (1991). Genera of Polypores – Nomenclature and taxonomy. *Synopsis Fungorum*, 5, 1–363.
- Ryvarden, L., Iturriaga, T. (2001). Studies in Neotropical Polypores 9. A Critical Checklist of Poroid Fungi from Venezuela. *Mycotaxon*, 78, 393–405.
- Sande, D., Oliveira, G.P., Moura, M.A., Martins, B.D., Lima, M.T., & Takahashi, J.A. (2019). Edible mushrooms as a ubiquitous source of essential fatty acids. *Food research international*, 125, 108524. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108524>
- Sulkowska-Ziaja, K., Muszynska, B., Motyl, P., Pasko, P., & Ekiert, H. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity in some species of polyporoid mushrooms from Poland. *International journal of medicinal mushrooms*, 14(4), 385–393. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i4.60>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica scientia*, 1(1), 98-106.
- Turkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kivrak, I., & Gezer, K. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, 101(1), 267-273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.025>
- Wei, L. S., Wee, W., Siong, J. Y., & Syamsumir, D. F. (2011). Characterization of anticancer, antimicrobial, antioxidant properties and chemical compositions of *Peperomia pellucida* leaf extract. *Acta medica Iranica*, 49(10), 670–674.
- Wright, J.E., & Deschamps, J.R. (1977). Basidiomicetos xilófilos de la Región Mesopotámica III. Los Géneros *Bjerkandera*, *Gloeophyllum*, *Gloeoporus*, *Hirschioporus*, *Hydnopolyporus*, *Phaeocoriolellus*, *Pycnoporus* y *Xerotinus*. *Revista de Investigaciones Agropecuarias INTA* 5, 13(1), 27–70.
- Zeb, M., & Lee, C.H. (2021). Medicinal Properties and Bioactive Compounds from Wild Mushrooms Native to North America. *Molecules*, 26(2), 251. <https://doi.org/10.3390/molecules26020251>