



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LA ACETIL
MEDICARPINA”**

TESIS QUE PRESENTA:

LIRENNY QUEVEDO TINOCO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

ASESOR:

D.C RAFAEL HERRERA BUCIO

ABRIL 2012

MORELIA, MICHOACÁN



DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi mamá Mayra Tinoco Alfaro, que me ha enseñado que a pesar de los golpes que da la vida, siempre hay que salir adelante, tener fortaleza, confianza y Fe.

A mi papá QEPD Lino Quevedo Farías, que gracias a sus exigencias me hicieron ser mejor persona. Y a pesar de que no pude compartir este logro y los que vengan, te tendré presente en cada etapa de la vida.

A mis hermanos P'bell, Mayralin y Lino. Por ser mis compañeros de cada día, mi ejemplo, mi motivación, mis enojos y alegrías, ustedes son una de las razones por la cual busco ser cada día mejor.

A toda mi familia por su esfuerzo, apoyo incondicional, confianza y cariño que me han brindado, que gracias a todo eso, el resultado lo veo reflejado en este trabajo que es para USTEDES.

AGRADECIMIENTOS

D.C. Rafael Herrera Bucio. Por haberme permitido entrar a su equipo de trabajo y depositar la confianza de poder trabajar un tema de investigación, por su tiempo y espacio, Gracias.

A mis revisores de tesis: **D.C. Pablo López Albarrán, D.C. Mario Armando Gómez Hurtado, D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco, D.C. Rosa E Iva Norma del Río Torres y D.C. Luis Chacón García,** que gracias a sus sugerencias, tiempo y consejos, hicieron de este un trabajo mejor. Y que debido a las buenas palabras que me brindaron lograron aumentar mi motivación a seguir en el campo de la investigación.

Al **D.C. Juan Diego Hernández Hernández,** por haberme incursionado en el ámbito de la ciencia.

A la **M.C. Ma. Del Carmen Martínez Sotres** por su tiempo y paciencia, por sus técnicas proporcionadas y su disposición al brindarme ayuda.

A la **M.C. Eloisa Becerra Contrera** por permitirme el uso de su laboratorio y proveerme del material necesario para llevar a cabo mis experimentos.

Al **D.C. Gerardo Vázquez Marrufo,** por facilitarme acceso a su laboratorio en el Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología. Y por aportar la materia necesaria para llevar a cabo el proyecto de investigación.

A mis compañeros de laboratorio de Síntesis Orgánica y Química Computacional del IIQB-UMSNH que gracias a su compañía hicieron mi estancia más agradable. Y a uno de mis mejores amigos y compañero, por sus ánimos, apoyo, cariño y amor.

Al Sr Daniel Tinoco Tafolla de la comunidad Hoyo de Aire, Municipio de Taretán Michoacán; por habernos proveído de la madera del árbol que se utilizó para la realización de este proyecto.

Al **Instituto de Investigaciones Químico Biológicas-UMSNH**: mi cuna, donde aprendí que la ciencia y la investigación se deben llevar de la mano con la dedicación, el esfuerzo, los sacrificios, con pasión y mucho Amor.

Al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Tecnología de la Madera de la UMSNH, división de Posgrado, por permitirme hacer uso de sus instalaciones, y así continuar con mi trabajo de investigación.

Y por último pero no menos importante a Dios porque me ha permitido seguir adelante, me ha levantado de mis caídas y ha estado presente en mi vida en todo momento.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN

1.1	La Madera	1
1.1.1	Composición Química de la Madera.....	3
1.2	Patología Forestal	7
1.3	Ciclo Biológico de los Hongos Xilófagos	10
1.4	Tipos de Pudriciones	12
1.4.1	Factores que favorecen a la pudrición.....	15
1.5	Hongos Ligninolíticos	16
1.6	<i>Trametes versicolor</i>	18
1.6.1	Descripción del Hongo	18
1.6.2	Taxonomía	19

2. ANTECEDENTES

2.1	Durabilidad Natural de la Madera.....	20
2.2	Preservación y Conservación de la Madera	23
2.2.1	Preservadores de la Madera	25
2.2.2	Principales Preservadores de la Madera.....	25
2.3	<i>Andira inermis</i>	28
2.3.1	Generalidades de la Especie.....	30
2.3.2	Usos	33

3. JUSTIFICACIÓN

35

4. OBJETIVOS

37

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1	Obtención del Extracto	38
5.2	Acetilación	39
5.3	Purificación.....	42
5.4	Propiedades Físicas de la Acetil Medicarpina	43
5.4.1	Punto de Fusión	43
5.4.2	Solubilidad	43
5.5	Prueba Biológica	44

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1	Rendimientos	45
6.2	Propiedades Físicas	46
6.3	Prueba Biológica	48

7. CONCLUSIONES..... 53

8. BIBLIOGRAFÍA 55

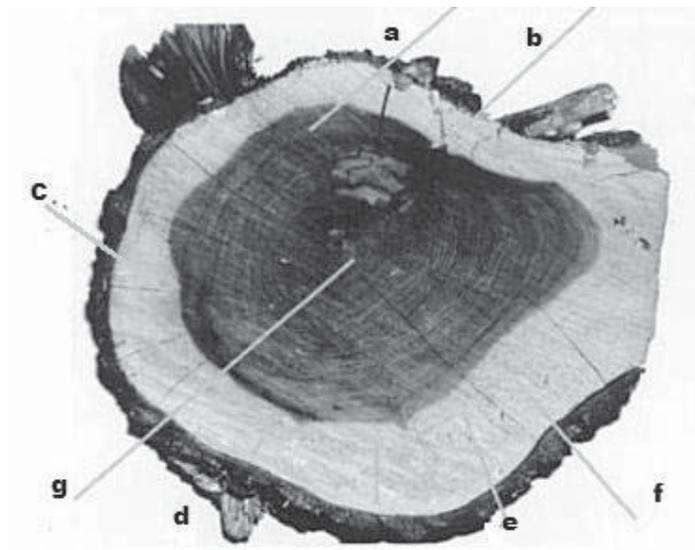
9. ANEXO..... 60

1. INTRODUCCIÓN

1.1 La Madera.

Se llama madera al conjunto de tejidos del xilema que forman el tronco, las raíces y las ramas de los vegetales leñosos, excluida la corteza. La madera está formada por un conjunto de células especializadas en tejidos que llevan a cabo las tres funciones fundamentales del vegetal: la conducción de la savia, la transformación y almacenamiento de los productos vitales y el sostén del vegetal (**García y Col. 2003**). Es un material biológico, renovable, orgánico, poroso, higroscópico, anisotrópico y heterogéneo (**Cruz, 2006**).

En la figura 1 se presenta el corte de una sección de un árbol, en donde se muestra las partes en las que se divide la madera.



- | | |
|------------|---------------------|
| a) Médula | e) Líber |
| b) Duramen | f) Cabium |
| c) Albura | g) Radios medulares |
| d) Corteza | |

Figura 1. Sección de un árbol (Capuz, 2005).

La corteza (d) es una capa de espesor irregular, en la que podemos encontrar dos zonas claramente diferenciadas: la parte externa llamada epidermis, que está formada por células muertas y la interna, llamada líber (e), formada por células vivas. Tienen como misión el proteger y asilar al árbol durante su crecimiento.

El cambium (f), también llamado generatriz, se encarga de generar células nuevas, hacia el interior engrosan la albura y hacia el exterior la corteza.

En la parte del tronco que comúnmente se denomina madera aparecen dos zonas diferenciadas: la albura y el duramen.

La albura (c) es la capa exterior que contiene gran cantidad de agua, es porosa, en general de poco espesor y poca consistencia, ya que el proceso de lignificación está incompleto. Esta parte del tronco es la encargada del transporte de la savia bruta (**García y Col. 2003**).

El duramen (b) aparece contiguo a la albura pero más hacia el interior. El proceso de lignificación en esta capa ya es completo, por lo que le confiere características de durabilidad y resistencias máximas. Su color es normalmente más oscuro que el de la albura (**Capuz, 2005**). Contiene sustancias solubles como carbohidratos, polisacáridos, alcaloides y taninos que al oxidarse le dan su característico color oscuro.

La duraminización protege a la madera contra el ataque de los hongos debido a la impregnación de los tejidos con sustancias que tienen un cierto valor antiséptico (**García y Col. 2003**).

La médula (a) o corazón es la parte central del tronco.

Los radios medulares (g) están constituidos por células dispuestas en dirección radial, perpendicular al eje del tronco y rigidizan la estructura de éste. Tienen importancia en las propiedades de la madera, y también como elemento de identificación. Son en parte responsables de las propiedades de contracción de la madera (**Capuz, 2005**).

1.1.1 Composición Química de la madera.

La madera está formada fundamentalmente por celulosa (figura 2), hemicelulosas (Figura 3) y por lignina (Figura 4). A estos componentes químicos principales se debe añadir un ligero porcentaje de otras sustancias tales como terpenos, ácidos resínicos, etc. La proporción de estas sustancias varía notablemente entre especies (**Vignote y col. 2006**).

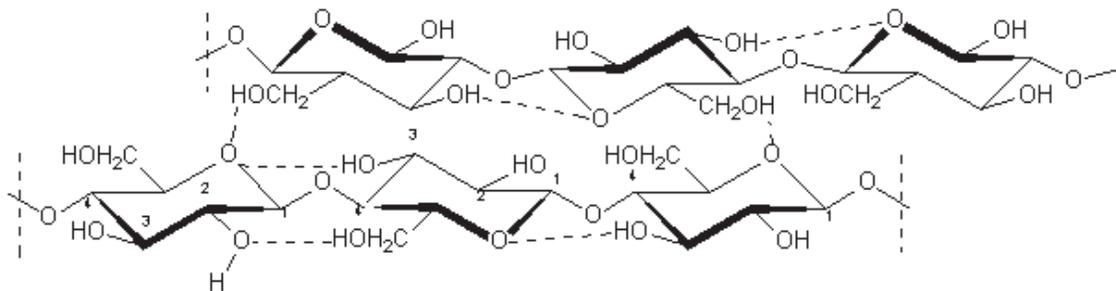


Figura 2. Estructura Química de la celulosa.

Los polisacáridos de la madera se conocen colectivamente como holocelulosa, nombre que indica la totalidad de los carbohidratos celulósicos. La holocelulosa está formada por celulosa y una mezcla de otros polisacáridos conocidos con el nombre de hemicelulosa (**Kent, 1964**).

La celulosa es un polímero lineal homogéneo, polisacárido formado por unidades de celobiosa ($C_6H_{10}O_5$) unidas mediante enlaces glicosídicos y fuerzas de Van der Waals, que además forman puentes de hidrógeno (Figura 2) lo que justifica su extraordinaria resistencia (**Vignote y Col. 2006**).

Las hemicelulosas (Figura 3), al igual que la celulosa es un polímero lineal polisacárido en donde la unidad es muy variable (**Vignote y Col. 2006**). Es una mezcla formada por los anhidridos de la xilosa, arabinosa, glucosa, manosa y galactosa.

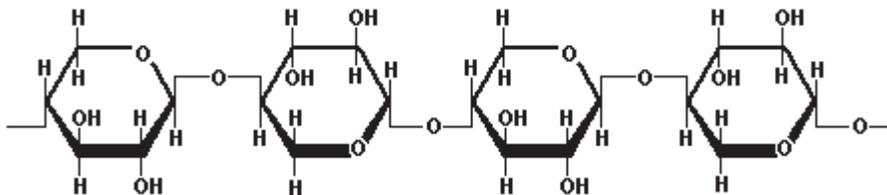


Figura 3. Estructura de hemicelulosa mostrando una fracción formada por anhidridos de xilosa.

La celulosa constituye el armazón de las paredes de las células de las fibras de la madera y es químicamente muy resistente, mientras que las hemicelulosas poseen una resistencia relativamente baja frente a los ácidos y álcalis (**Kent, 1964**).

La lignina es un biopolímero aromático complejo (Figura 4), amorfo, de estructura granular, con cadenas ramificadas y compuesto por unidades de fenilpropano. Es un material hidrófobo porque carece de grupos polares; es el segundo polímero en abundancia después de la celulosa, constituye cerca del 15% de la biomasa terrestre y su fuente natural es la madera, donde se encuentra en una proporción del 20 al 35% (**Quintero y col. 2006**).

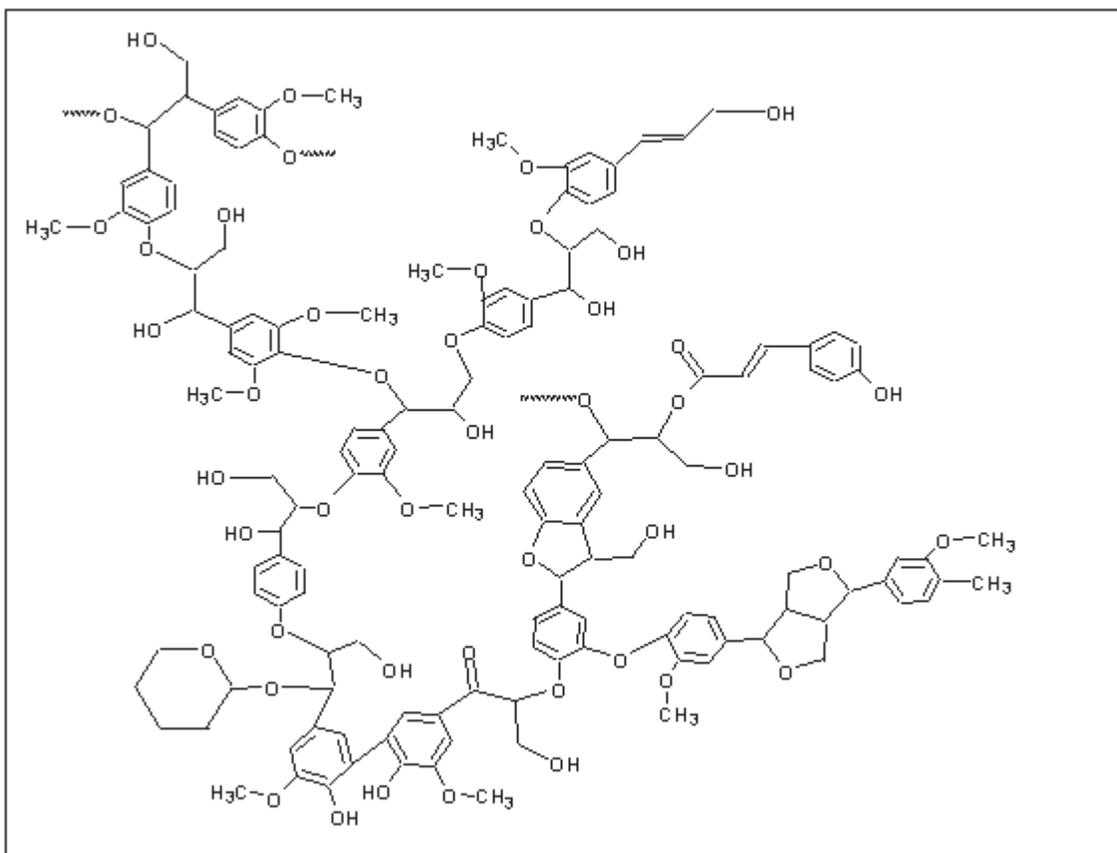


Figura 4. Estructura Generalizada de la Lignina.

Biosintéticamente la lignina proviene de tres alcoholes precursores: el alcohol *p*-hidroxicinámico (cumarílico, **5a**), el alcohol 4-hidroxi-3-metoxicinámico (coniferílico, **5b**) y el alcohol 3,5-dimetoxi-4-hidroxicinámico (**5c**). La copolimerización por radicales libres de estos alcoholes, iniciada por peroxidasas vegetales, da lugar al polímero de lignina (Figura 4) (Usnayo, 2007).

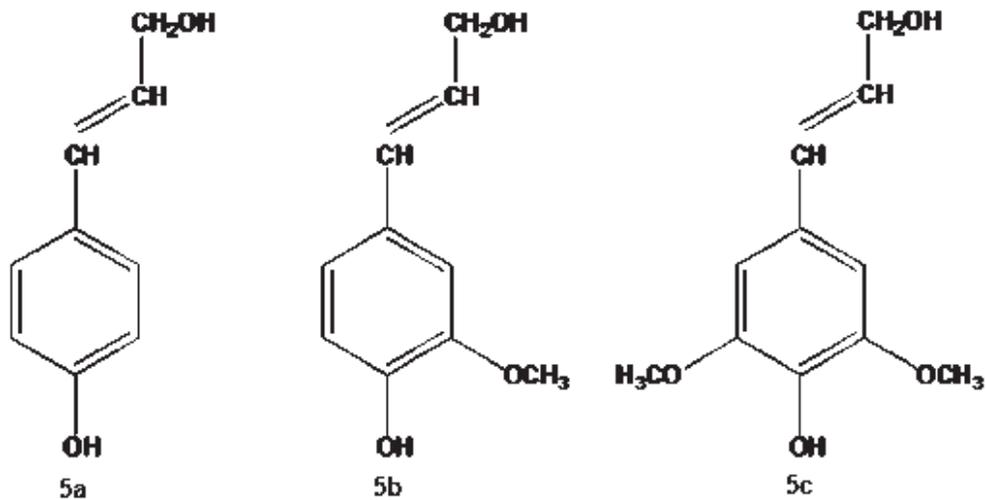


Figura 5. Monolignoles de la Lignina (Vignote, 2006).

La lignina desempeña en la madera un papel cementante entre las microfibrillas de la pared celular, a la vez que mantiene a las células unidas entre sí gracias a su presencia en la laminilla media (**García y col. 2003**).

Además de los ya mencionados compuestos, la madera contiene sustancias de impregnación, la cuales varían con los tipos de especies. La función de estas sustancias en el árbol es muy compleja, aunque en general están ligadas a la prevención de ataques de organismos patógenos (**Vignote y col. 2006**).

Las sustancias de impregnación más comunes son las siguientes:

- Ácidos resínicos.
- Terpenos.
- Ceras.
- Taninos, materias nitrogenadas y sustancias colorantes.

Sin embargo, la madera por ser un material orgánico presenta la desventaja de ser degradable y perecedero (**Cruz, 2006**).

1.2 Patología Forestal.

Todas las enfermedades parasitarias tienen en común el que para desarrollarse se necesita un cierto grado de aptitud de los parásitos para atacar a las plantas y que los medios defensivos de éstas sean insuficientes para evitar el ataque (**Torres, 1998**).

La madera por su propia constitución, o por los elementos que tiene, puede ser fuente de alimentación de diferentes organismos que encuentra en ella su medio de vida, destruyéndola.

Entre los principales patógenos podemos encontrar los siguientes:

Bacterias. Atacan la celulosa de la madera transformándola por medio de enzimas, sucesivamente en celobiosa, hidrógeno, metano, anhídrido carbónico y ácidos grasos; erosionando la pared celular y atacando las capas secundarias de dicha pared, alterando su permeabilidad y estimulando el desarrollo de otros microorganismos (**Zanni, 2004**).

Actinomicetos. Son organismos unicelulares filamentosos que destruyen la celulosa, se les considera intermedios entre las bacterias y los hongos (**Capuz, 2005**).

Insectos. El daño se produce en árboles en pie, en madera verde, en rollo o aserradas, en material seco almacenado y en la puesta en obra.

En la mayoría de los casos, el daño por insectos se produce cuando se hallan en la fase de larva u oruga, pues entonces horadan la madera para obtener alimento y protección. En ocasiones también las adultas son los individuos destructores, como es el caso de las termitas (**Hunt, 1952**).

Según sus necesidades de humedad se pueden dividir en: insectos de madera húmeda e insectos de madera seca. Los primeros deterioran especialmente árboles en pie o madera recién cortada del árbol; los segundos deterioran madera con un determinado contenido de humedad (**Cruz, 2006**).

Hongos. Pertenecen a las talofitas, grupo de vegetales de organización muy primitiva. Su aparato vegetativo no posee raíz, tallos ni hojas. Sus células no se especializan y carecen por tanto de los tejidos diferenciados de los vegetales superiores (**Zanni, 2004**).

Los hongos no tienen clorofila, por ello viven de forma saprófita o de forma parásita; su reproducción es por medio de esporas, las cuales germinan cuando las condiciones son favorables en forma de un falso tejido fibroso llamado “hifa”, el conjunto de hifas se le conoce como “micelio” (**Capuz, 2005**).

Las enfermedades que más destacan en patología forestal son las micosis. Hay hongos que atacan los tejidos vivos de las plantas forestales causando las enfermedades propiamente dichas, mientras que otros atacan a la parte muerta, la madera, produciendo alteraciones y pudriciones. Las alteraciones y las pudriciones son anomalías distintas. Las alteraciones son simples cambios de color en la madera que no afectan ni a su estructura ni a sus características físico-mecánicas (Hongos Cromógenos). Las pudriciones ejercen su acción sobre la pared celular de las células leñosas y afectan a la estructura y a las características físico-mecánicas (Hongos de Pudrición o xilófagos) (**Torres, 1998**). De acuerdo a esto podemos clasificarlos como se muestra en la figura 6.

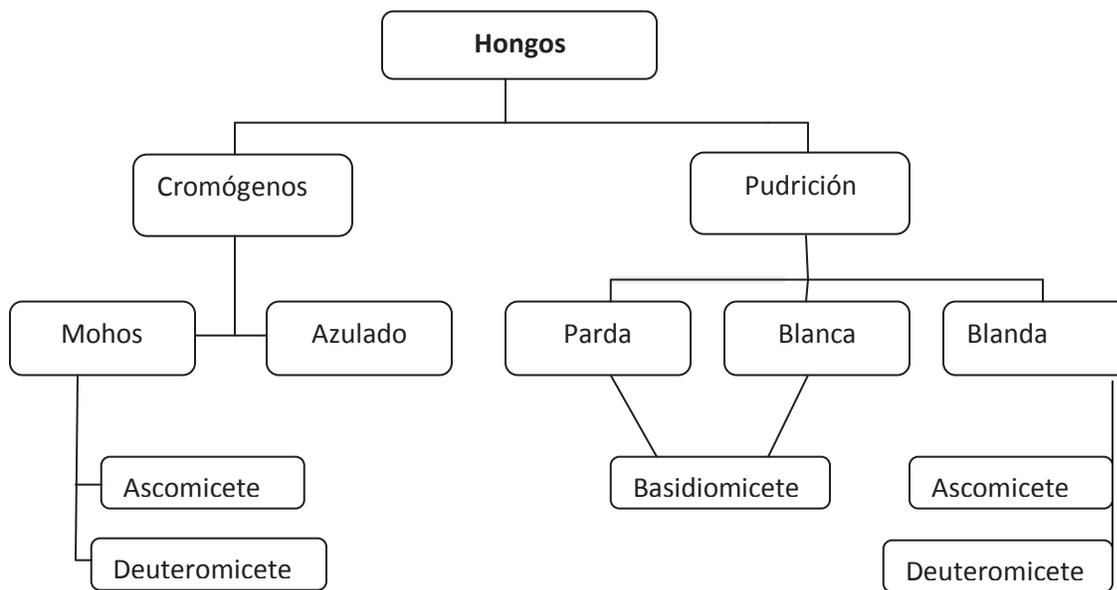


Figura 6. Clasificación de los Hongos que atacan la madera (Cruz, 2006).

Las esporas de los hongos reciben nombres especiales según su forma, color y estructura. Pueden ser sexuadas y asexuadas según se formen o no como consecuencia de un proceso sexual. Los Ascomicetos y Basidiomicetos producen esporas sexuadas, pero los Deuteromicetos carecen de ellas (Torres, 1998).

1.3 Ciclo Biológico de los hongos xilófagos.

Las hifas se originan por la germinación de las esporas que se hallan en el aire a la espera de condiciones favorables para su desarrollo. Las esporas son trasladadas por el viento, los animales, el agua, etc. (Capuz, 2005). Al entrar en contacto con la madera susceptible pueden germinar (Hunt, 1952). Este ciclo se muestra esquematizado en la figura 7.

Las hifas se introducen en la madera a través de los elementos leñosos, vasos y traqueidades, alimentándose de las sustancias de reserva o segregando enzimas que producen la descomposición de la pared celular.

Cuando las condiciones de humedad y temperatura son adecuadas para la vida de los hongos, éstos se desarrollan a expensas de la madera destruyéndola (**Capuz, 2005**).

La pudrición puede extenderse también sin la formación de esporas, por crecimiento directo del micelio desde la madera infectada (o suelo) hasta la madera sana en contacto con ella. Cuando hay suficiente humedad en el aire, el micelio puede desarrollarse en la superficie de la madera y extenderse creciendo sobre sustancias inertes para atacar madera sana (**Hunt, 1952**).

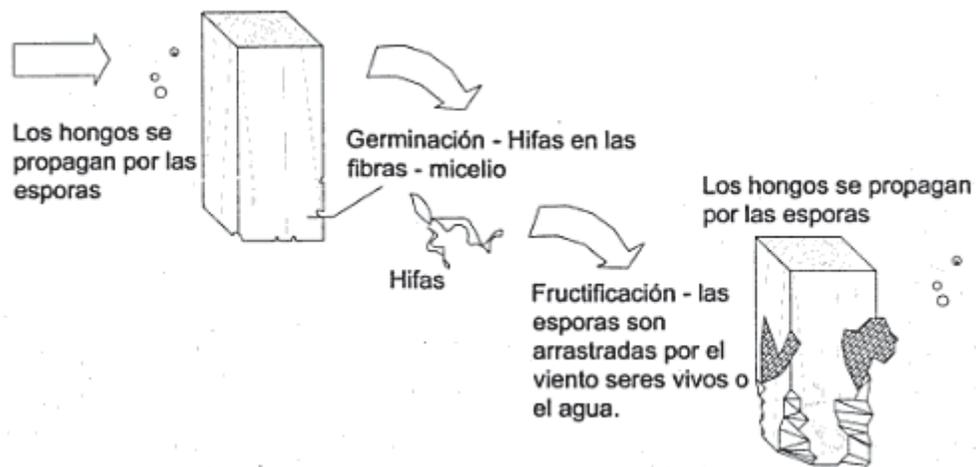


Figura 7. Ciclo biológico de los hongos xilófagos (Zanni, 2004).

Al principio, o etapa incipiente de pudrición, las hifas se extienden por la madera en todas direcciones desde el punto de origen. En esta etapa de invasión no hay una verdadera disolución de la madera o un cambio aparente en su carácter, sino una posible coloración de la pieza infectada.

Una vez que la pudrición ha rebasado el período incipiente, el aspecto exterior de la madera se altera de manera cada vez más perceptible. Las paredes de la célula se desintegran definitivamente, y la madera experimenta grandes cambios en el color, textura, continuidad y resistencia mecánica. Al final o etapa avanzada de pudrición, la madera se hace blanda esponjosa, espinosa, alveolada o fácilmente disgregable (**Hunt, 1952**).

1.4 Tipos de pudriciones.

En su estado natural, la combinación de celulosa y lignina, no es adecuada para que los hongos puedan emplearla. Pero las hifas, que segregan sustancias químicas llamadas fermentos o enzimas, desintegran las paredes celulares y las convierten en compuestos nutritivos más simples, que son solubles y que pueden ser fácilmente asimilados por los hongos (**Hunt, 1952**).

Los tres tipos básicos de pudrición son: blanca, marrón y pudrición blanda. Estos tipos de pudrición constituyen formas de ataque enzimático en la madera.

Pudrición Blanca. Es aquella en la que el hongo se alimenta de lignina y en menor proporción de celulosa y hemicelulosa, (**Remacha**). Ya que la lignina es marrón o de color oscuro, su degradación deja la madera de un blanco pálido o decolorado como se muestra en la figura 8 (**Luley, 2006**). También toma los nombres de pudrición corrosiva, deslignificante, cavernosa o alveolar (**Capuz, 2005**).

En este tipo de pudrición, la celulosa residual es suficiente, hasta en los estados muy avanzados, para que la madera conserve su forma y estructura (**Torres, 1998**). Afecta más a las Latifoliadas que a las Coníferas debido a que presentan mayor cantidad de lignina (**Cruz, 2006**).



Figura 8. Pudrición blanca (Luley, 2006).

Pudrición Marrón. Es aquella en el que el hongo va degradando la celulosa y carbohidratos y deja la lignina y su característico color oscuro, de ahí que se le atribuya pudrición marrón (Figura 9) (Luley, 2006). Es la más grave y peligrosa, por lo que también se le llama pudrición destructiva (Cruz, 2006), esto debido a que la desintegración de la madera a causa de la desaparición de la celulosa se hace ya patente en sus primeras fases (Torres, 1998).

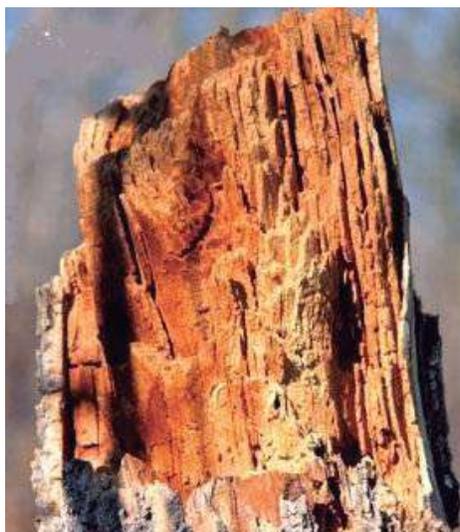


Figura 9. Pudrición marrón (Luley, 2006).

Pudrición blanda. Aparece en maderas en contacto con el suelo y es producida por hongos inferiores, que atacan la celulosa de la pared secundaria de la célula en el sentido longitudinal de la fibra, dando a la madera, cuando el grado de humedad es elevado, una consistencia blanda (Remacha). Es muy parecida a la pudrición marrón y se diferencia de ésta porque la madera se siente al tacto muy blanda o esponjosa y cuando se seca se resquebraja formando cubos pequeños (Cruz, 2006).

1.4.1 Factores que favorecen a la pudrición.

Los hongos a pesar de ser organismos adaptables, necesitan ciertos factores para su óptimo crecimiento, cuatro son las condiciones necesarias para el desarrollo de los hongos xilófagos en la madera: 1) existencia de alimento adecuado; 2) grado suficiente de humedad; 3) aire, aunque sea en pequeña cantidad y 4) temperatura y pH favorable.

El alimento requerido para la nutrición del hongo es suministrado principalmente por la misma materia que constituye las paredes de la célula del hospedante, pero también pueden facilitar el alimento las sustancias almacenadas en las cavidades celulares tales como almidones, azúcares y otros (**Hunt, 1952**).

La humedad es absolutamente necesaria para la germinación de las esporas, para la secreción de las enzimas fúngicas, para la absorción y transporte de las sustancias nutritivas dentro del hongo. Cuando la humedad de la madera es superior al 18 por ciento permite el desarrollo de los hongos xilófagos (**Kollmann, 1959**).

Los hongos causales de alteraciones en la madera, presentan dos tipos distintos de respiración: la respiración propiamente dicha (aerobia), y la intracelular (anaerobia) (**Hunt, 1952**).

En general el pH óptimo para los hongos xilófagos está entre 4.5 y 5.5, que son los límites normales en los que suele variar el pH de la madera. Además los hongos pueden producir grandes cantidades de ácidos para obtener un pH óptimo para su crecimiento.

El límite de temperatura para la mayoría de las especies está por debajo de los 38° C y el intervalo de temperatura ideal esta de 0 a 38° C. Aunque se han reportado hongos que sobreviven a temperaturas superiores a la ideal (**Kollmann, 1959**).

1.5 Hongos Ligninolíticos.

Estos hongos denominados hongos de la pudrición blanca de la madera, comprenden un grupo de organismos cuya característica es su capacidad para mineralizar eficientemente la lignina. Probablemente esta degradación selectiva les permite tener acceso a la celulosa y/o hemicelulosa, las cuales finalmente representan su fuente de energía y carbono (**Usnayo, 2007**).

Estos organismos, en su mayoría, se desarrollan formando un micelio macroscópico, constituido por hifas tabicadas, cuyas paredes están constituidas, principalmente por quitina y hemicelulosa (glucanas y mananas) (**Herrera, 1998**).

A su vez, pertenecen al grupo de los Basidiomicetos, los cuales en alguna fase de su ciclo biológico, forman esporas sexuales llamadas basidiosporas. (Figura 10).

La basidiosporas son esporas de origen sexual. Se producen a partir de la unión de dos hifas de sexo diferente. En determinado momento los núcleos de sexo opuesto se fusionan dentro de una célula llamada basidio, los núcleos migran hacia estructuras externas especializadas llamadas esterigmas y se convierten en basidiosporas como se muestra en la figura 10 (Lurá y Col. 1997).

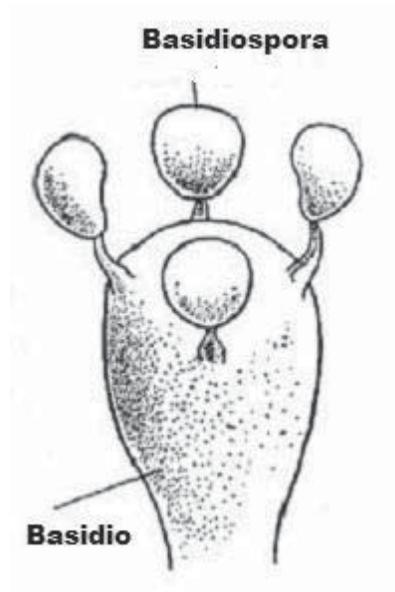


Figura 10. Basidiosporas (Lurá y Col. 1997).

Los hongos ligninolíticos han desarrollado un sistema enzimático único. El mecanismo del sistema degradador de la lignina está basado en la producción de radicales libres (Martínez, 2011). Se han identificado dos familias de enzimas extracelulares ligninolíticas, las peroxidasas y las lacasas (Usnayo, 2007).

1.6 *Trametes versicolor*.

1.6.1 Descripción del hongo.

Trametes versicolor es un hongo causante de pudrición blanca, que desarrolla cuerpos fructíferos o setas con sombreros imbricados, de 3 a 6 cm, delgados, de borde ondulado, que carecen de pie y se aplanan prontamente. La cara superior es aterciopelada, satinada y presenta anillos concéntricos de varios colores, del pardo-negruzco al blanco, y del marrón-rojizo al ocre, a veces con iridiscencias (Figura 11), dependiendo del grado de humedad presente del ambiente (Menéndez, 2006). Su himenio está formado por poros de pequeño tamaño, generalmente redondeados, de color blanco, cremas con el tiempo. Carne muy dura de color blanco, coriácea y fibrosa. En la zona de unión con el sustrato puede llegar a alcanzar un grosor de unos 5 mm, pero en el borde apenas alcanza los 2 mm. Sin olor o sabor dignos de mención (Calvo, 2010).



Figura 11. Cuerpo fructífero de *Trametes versicolor* (Menéndez, 2006).

Trametes versicolor es una especie que fructifica sobre madera de árboles planifolios, coníferas e incluso sobre algunos frutales. Es un hongo muy frecuente y extendido que puede hacer acto de aparición en cualquier época del año si las condiciones ambientales son adecuadas (Calvo, 2010).

1.6.2 Taxonomía.

La taxonomía correspondiente al hongo se muestra en la tabla 1.

Subdivisión	<i>Basidiomycotina</i>
Clase	<i>Homobasidiomycetes</i>
Subclase	<i>Aphylophoromycetidae</i>
Orden	<i>Poriales</i>
Familia	<i>Coriolaceae.</i>

Tabla 1. Taxonomía de *T. versicolor* (Calvo, 2010).

Sinónimos: *Coriolus versicolor* (L.) Qué.

Nombres vulgares: Yesquero multicolor, Iarruki koloreanitz, cola de pavo.

2. ANTECEDENTES

La madera representó un material tradicional en México en la construcción de monumentos y edificios históricos durante la época colonial. Actualmente en Michoacán y en muchos estados de la República Mexicana se utiliza aparte de madera para bienes y madera estructural en edificios históricos, también gran cantidad de madera estructural (vigas, postes, pilotes, etc.) para la construcción de casas habitación (**Cruz, 2006**).

Su existencia en formas y tamaños diversos, su gran resistencia con relación al peso, su facilidad de trabajo y acoplamiento, su escasa conductibilidad térmica, sus propiedades acústicas, etc. Hace que sea el mejor material de construcción desde los tiempos de los primeros colonizadores hasta nuestros tiempos (**Hunt, 1952**).

2.1 Durabilidad Natural de la Madera.

La durabilidad natural de la madera se define como la capacidad que esta presenta para resistir la acción del intemperismo y el ataque de organismos biológicos que la deterioran, tales como hongos, insectos y perforadores marinos (**Honorato y Col. 2001**). Se determina por la cantidad de años que una madera permanece en servicio sin perder considerablemente sus propiedades físico-mecánicas (**Cruz, 2006**). La durabilidad natural de la madera se cataloga en 5 clases como se muestra en la tabla 2.

Clase de Durabilidad	Clasificación	Duración (años)
1	Muy durable	> 25
2	Durable	15-25
3	Moderadamente durable	10-15
4	No durable	5-10
5	Muy susceptible	< 5

Tabla 2. Clasificación de la durabilidad natural de la Madera (Cruz, 2006).

Muchas de las especies latifoliadas que presentan una transición abrupta albura-duramen, poseen una particular resistencia, o mejor aún, una biorresistencia al deterioro por la acción de hongos, bacterias e insectos. Esta resistencia se encuentra generalmente atribuida a la presencia, en las paredes celulares de la madera, de sustancias químicas activas que juegan un rol importante en la durabilidad natural (Velásquez y Col. 2006).

Debido a que el duramen de algunas especies presenta mayor cantidad de extractivos, es más resistente que la albura; además de que esta última tiene una gran cantidad de carbohidratos simples que son fácilmente solubles en agua y que pueden ser utilizados como alimento de los hongos, lo que hace a la albura más susceptible al deterioro (Honorato y Col. 2001).

Honorato y Col. En 2001 trabajaron con 5 especies de *Quercus* provenientes del Estado de Puebla: *Quercus affinis*, *Q. crassifolia*, *Q. glabrescens*, *Q. mexicana* y *Q. laurina*; donde se encontró que la madera del duramen es 40% más resistente a la degradación, que la proveniente de la albura; siendo las cuatro primeras especies clasificadas como durables, mientras que la última como moderadamente durable.

La resistencia de la madera al ataque de microorganismos depende de la composición química de la pared celular, de la presencia de otros compuestos químicos en las cavidades celulares, su permeabilidad, su contenido de humedad y temperatura (**Honorato y Col. 2001**).

En el 2006 Velásquez y Col. Reportan la actividad biológica de 4 especies latifoliadas: Puy (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson), Zapatero (*Peltogyne porphyrocardia* Griseb), Algarrobo (*Hymenaea courbaril* L.) y Cartan (*Centrolubium paraense* Tul. Var. *Orinocense Benth*); frente a hongos de pudrición de la madera: *Trametes versicolor* y *Gloeophyllum trabeum*; utilizando para los ensayos extractos crudos en acetona, agua y etanol. Demostrando que los extractivos del duramen de estos árboles presentan propiedades antifúngicas que contribuyen con la durabilidad y resistencia de cada especie.

Ninguna madera es inmune al deterioro si es expuesta a periodos prolongados de tiempo al ambiente natural. Su vida útil varía considerablemente dependiendo de la especie, de la cantidad de savia presente, el uso que se le dé y de las condiciones ambientales a las que se exponga.

Los organismos vivos que son enemigos naturales de la madera generalmente la usan como fuente de alimento y refugio o como lugar de incubación para sus crías.

Como no se puede controlar el efecto de las condiciones ambientales, la única manera de prevenir el crecimiento de los organismos degradadores es limitar el suplemento de alimento. En el caso de la madera, esta puede ser tratada con químicos los cuales son tóxicos para estos organismos y la hacen no atractiva como fuente de alimento (**Thompson, 1991**).

2.2 Preservación y Conservación de la Madera.

Historia de la Preservación.

La preservación se viene dando desde tiempos remotos; Pliny menciona la amurca, un producto de la manufactura del aceite de olivo, y además aceites de cedro, alerce, enebro y valeriana, los cuales se usaban para preservar artículos de valor. Además observó que entre más olor presentaba la resina de la madera, más resistente era a la descomposición.

En la antigüedad, previo a pintar la madera, se trataba cubriéndola con cera de abejas, savia de orquídea o clara de huevo de tortuga. Quizá estos procedimientos fueron continuaciones de algunas primitivas formas de preservación de la madera (**Richardson, 1993**).

Tanto Griegos como Romanos usaban aceites y resinas extraídas de maderas resistentes para preservar estructuras como puentes.

Los chinos, 2000 años atrás, sumergían la madera en agua de mar antes de usarla como material de construcción (**Thompson, 1991**).

La conservación de la Madera debe entenderse como la aplicación a la madera instalada, de sustancias químicas en el sitio de trabajo o en la obra por diversos métodos, con el fin de disminuir el efecto de los agentes de deterioro. En la conservación de la madera no se puede garantizar un tiempo de duración de la sustancia en la madera ni el porcentaje de protección de la misma.

La preservación de la Madera es aquella acción de aplicar, por ciertos métodos, sustancias a la madera antes de instalarse. Permite garantizar un cierto tiempo de duración de la sustancia en la madera, es decir, tiempo de vida útil de la madera y permite saber el porcentaje de protección de la misma (**Cruz, 2006**)

La protección de las maderas usualmente consiste en el uso de sustancias o compuestos químicos, que son introducidos mediante varios procesos en la madera, lo que amplía su vida útil en servicio, permitiendo que maderas con baja o muy poca durabilidad natural puedan ser transformadas en materiales idóneos para la construcción y otros usos (**Encinas, 2007**).

2.2.1 Preservadores de la Madera

Son sustancias químicas que, aplicadas convencionalmente a la madera, la hacen resistente a los ataques de los hongos, insectos y perforadores marinos. El efecto protector se consigue haciendo a la madera venenosa o repelente a los elementos biológicos que la atacarían si no estuviese tratada. (Hunt, 1952)

Las principales condiciones que debe cumplir un buen preservador son: ser activo contra el agente patógeno, no dañar a las plantas tratadas; ser de empleo práctico y económico; y encontrarse en el mercado (Torres, 1998). Ser permanente, penetrable, ser seguro de manejar y usar. (Hunt, 1952)

2.2.2 Principales Preservadores de Madera

Los preservadores se clasifican de varias maneras, de acuerdo con sus características físicas y químicas; también de acuerdo a su utilización, por su forma de presentación y actuación, así como por la categoría de riesgo (Cruz, 2006). Aunque se les puede clasificar en dos grupos principales; a) aceites y preservadores oleosolubles, y b) preservadores hidrosolubles (Hunt, 1952).

a) Aceites y preservadores oleosolubles.

- ❖ Aceites de subproductos y mezclas oleosas.
- ❖ Creosota de alquitrán de hulla.
- ❖ Aceites de petróleo.

- ❖ Pentaclorofenol: Presenta poca solubilidad en agua, poca volatilidad y es químicamente estable.
- ❖ Otros compuestos clorados
- ❖ Naftenato de cobre: Más efectivo contra hongos, pero colorea la madera.
- ❖ Oleato fenilmercúrico: Más tóxico que el naftenato de cobre y el pentaclorofenol contra hongos xilófagos. Pero está sujeto a descomposición gradual al contacto con la tierra.

b) Preservadores hidrosolubles

- ❖ Sales de arsénico: Se combinan con sales de cromo, cobre, magnesio, níquel, zinc; para formar sales de gran toxicidad y poca solubilidad en agua. Venenosas para el hombre y animales.
- ❖ Bórax y ácido bórico: Moderadamente tóxicos para los hongos. Es fácil y barato de adquirir.
- ❖ Sales de cromo: Cuando se emplean solas no tienen éxito como preservadores, pero resultan eficaces en mezclas; dándole a la madera gran resistencia a la lixiviación.
- ❖ Cloruro de Zinc y cromato: Resistente a la lixiviación, no se debe usar en maderas que vayan ser expuestas a condiciones climáticas de alta temperatura y baja humedad.
- ❖ Sulfato de cobre: Tiene el inconveniente de que ataca el hierro y el acero de los equipos usados para el tratamiento de las maderas.
- ❖ Cloruro mercúrico: Tóxico para hongos xilófagos, pero es caro, corrosivo y venenoso.

- ❖ Sales de níquel: Menos corrosivas, pero no son baratas para su uso a gran escala.
- ❖ Fluoruro sódico: Toxicidad contra hongos es similar a la del cloruro de zinc, pero presenta mayor toxicidad para el hombre.
- ❖ Pentaclorofenato sódico: Tiene el inconveniente de que no penetra profundamente en la madera.
- ❖ Cloruro de zinc: Es relativamente barato, deja la madera tratada limpia pero es muy soluble en agua lo que la hace no apta para el empleo de la madera al aire libre.

Para cubiertas al aire libre y proyectos habitacionales, los preservantes más usados son los de carácter hidrosoluble y de ellos los más usados son: Chromated Copper Arsenate (CCA), Ammoniacal Copper Quaternary Ammonium Chloride (ACQ) y Ammoniacal Copper Zinc Arsenate (ACZA) (**Cruz, 2006**).

Sin embargo, los compuestos químicos contaminan el ambiente y perjudican al ser humano, por lo que se debiera buscar otras formas de protección de la madera (**Martínez, 2011**)

Mcmurry y Martín (1972) reportan la presencia del compuesto Medicarpina en el duramen de *Andira inermis*, la cual se propone que es responsable de conferir durabilidad a la madera de este árbol.

En el 2011 se realizó un ensayo con los extraíbles del duramen del árbol *Dalbergia congestiflora* Pitier, de donde se aisló el compuesto Medicarpina, a los cuales se les evaluaron su efecto antifúngico frente al hongo de pudrición blanca *Trametes versicolor*. Los resultados obtenidos fueron que la Medicarpina a concentraciones mayores de 150 mg/L tiene una inhibición del 100 por ciento del crecimiento del hongo; y los extractos crudos presentan este mismo efecto a concentraciones mayores a 150 mg/L (**Martínez, 2011**).

2.3 *Andira inermis*.

Es una especie nativa que se distribuye desde el sur de México hasta Perú, Bolivia y Brasil. Se introdujo en Las Antillas, Las Islas Caribeñas, Florida y África. En México esta especie crece en la vertiente del Pacífico Sur desde Nayarit hasta Chiapas y en la vertiente del Golfo únicamente en Tabasco (**Téllez, 2009**). Su distribución en el continente Americano y parte del continente Africano, se esquematiza en la figura 12.



Figura 12. Distribución de *Andira inermis* en los trópicos (Weaver, 1989).

Nombre científico: *Andira inermis* (W. Wright) DC.

Sinonimias: *Andira jamaicensis* (W. Wright) Urban. *Geoffraea inermis* W. Wright.

Nombres Comunes: Almendro, Almendro de monte, Almendro de río, Almendro macho, Almendro real, Angelin, Arenillo, Areno, Cabbage angelin, Carne asada, Cocú, Guacamayo, Harino, Jarino, Mascicarán, Pílón, Sruhy. (**Kunth**).

Taxonomía

División	<i>Magnoleophyta</i>
Clase	<i>Magnoleopsida</i>
Orden	<i>Rosales</i>
Familia	<i>Leguminosae o Fabaceae</i>
Subfamilia	<i>Mimosoideae</i>
Género	<i>Andira</i>
Especie	<i>Andira inermis</i> (W. Wright) DC.

Tabla 3. Taxonomía (Cronquist 1986).

2.3.1 Generalidades de la especie.

Andira Inermis es un árbol siempre verde que carece de contrafuertes y que posee una copa plana y redondeada (Figura 13) (**Weaver, 1989**).

Es un árbol de 25-30 m de altura y hasta 120 cm de DAP. El fuste es recto y cilíndrico y tiene una corteza que se desprende en piezas delgadas y rectangulares (**Kunth**).

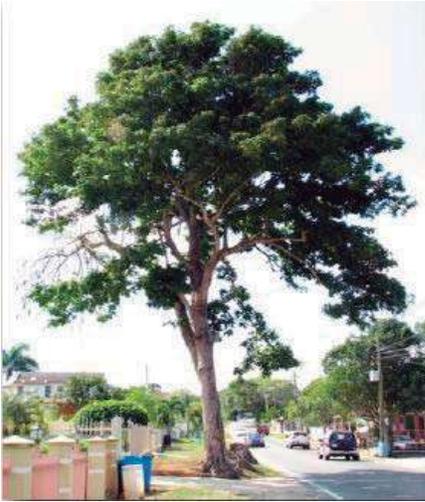


Figura 13. *Andira inermis*, aspecto del árbol y flores.

Las hojas son compuestas, el número de pinnas es impar con un pecíolo corto de 3-6 cm. Tiene de 4-19 pares de hojuelas, de 6-10 cm de largo cada una. Las inflorescencias vienen en panículas de 10-30 cm con flores individuales de 1-1.3 cm de largo y de un vistoso color púrpura. Los frutos son drupas en forma de huevo de 2.5-4 cm de largo, de color pardo oscuro o casi negros, muy duros y con una semilla en cada uno. (**Kunth**). En la figura 14 se muestra un esquema de las hojas y el fruto del árbol.



Figura 14. Esquema de hojas y fruto de *A. inermis*.

La madera es dura, pesada, de textura más bien gruesa, resistente y fuerte. La madera se seca a una tasa moderada sin una degradación seria y se puede trabajar con facilidad tanto a mano como con maquinaria. Unas bandas alternas de fibras oscuras y claras le dan a la madera una apariencia atractiva, pero dificultan el cepillado para alcanzar una superficie lisa (**Weaver**).

El duramen es café amarillento a rojizo oscuro y la albura amarillo grisácea a café pálido. Tiene grano entrecruzado y lustre bajo. Su durabilidad natural es media. Debido a su dureza, los clavos y tornillos deben ser perforados primero para evitar rajaduras (**Kunth**).

Crece en sitios húmedos, inundados periódicamente. Común a lo largo de corrientes de agua de las sabanas arboladas y bosques semidecíduos. Se adapta a una gran variedad de suelos, desde arenosos con buen drenaje hasta arcillosos con drenaje deficiente. Requiere poca luz para su establecimiento por lo que es bueno para plantaciones de mejora o regeneración natural. Aunque al crecer tolera moderadamente la sombra, se desarrolla mejor cuando se abren espacios en el bosque (**Kunth**).

Andira crece en una variedad de suelos. En México se le puede encontrar en suelos arenosos a la vez que en arcillas pobremente drenadas. En Cuba fue observada en la costa sur en valles profundos no expuestos hacia el mar (**Weaver**).

2.3.2 Usos.

Su madera se utiliza para fabricar tablas y construcciones de casas, fabricación de muebles, ebanistería de alta calidad, artículos torneados, columnas, puntas de tacos de billar, leña, implementos agrícolas, pilotes, traviesas de ferrocarril, vigas, cimbras, construcciones navales y de carruajes, pisos de parquet (**Tellez, 2004**).

Por ser una madera no resonante, se consideró apropiada hace años para ebanistería de radios y televisores. Los árboles se siembran a menudo como sombra. Es fuente de alimento para murciélagos. Las flores son visitadas por abejas, pájaros y mariposas (**Kunth**).

La corteza del árbol en decocción utilizada en grandes dosis puede causar vómitos, fiebre y delirio. En las Indias Occidentales se emplea como vermífugo para expulsar parásitos como *Ascaris lumbricoides* (**Grieve**).

La corteza y semillas de *A. inermis* en decocción se han empleado en remedios caseros, como febrífugo, purgante y narcótico (**Kunth**).

Algunas tribus del Amazonas utilizan la corteza para matar a los peces del río. Otras tribus utilizan la decocción de la corteza para tratar tiña y otras infecciones por hongos en la piel (**Taylor**).

Los usos etnomédicos que se le dan al árbol se resumen en la tabla 4.

País	Usos
Brasil	Para el estreñimiento, parásitos intestinales, parásitos internos y externos.
México	Se usa para los parásitos intestinales y para tratar malaria
Trinidad y Tobago	Para el eczema, parásitos intestinales purgante y vermífugo.
Venezuela	Como emético y vermífugo

Tabla 4. Resumen de los usos etnomédicos de *A. inermis* (Taylor).

En estudios previos Kraft y Col, 2001, aislaron el 2-arilbenzofurano-3-carbaldehído, de las hojas *A. inermis* de un ejemplar de Panamá. Éste además de las isoflavonas calicosina y genisteína también aisladas resultaron ser activas contra *Plasmodium falciparum*. En estudios posteriores se aislaron nuevos compuestos: Andiol A y B; los cuales también se les evaluó su efecto antiplasmódico, donde Andiol A no mostró notable efecto y no se probó la eficacia de Andiol B debido a que no se contó con suficiente cantidad del compuesto para realizar las pruebas (Kraft y Col. 2002).

3. JUSTIFICACIÓN

Después del carbón y el petróleo, la madera representa la materia prima natural más importante de nuestras vidas. Además tiene una infinidad de propiedades positivas que permiten su aprovechamiento tecnológico. (**Cruz, 2006**).

El hombre ha usado la madera durante cientos de miles de años de dos maneras principales, que son: 1) como material hallado en la naturaleza al que ha dado nuevas formas para usos específicos, y 2) como materia prima para su transformación en algo nuevo, por ejemplo, calor. (**Kent, 1964**)

La madera es un material muy susceptible de alteración por agentes biológicos y microbiológicos. El ataque biológico ocurre en diferentes partes de la pared celular, dependiendo del tipo de organismo agresor y de sus características metabólicas. Generalmente la madera es atacada por organismos heterótrofos entre los cuales se destacan los hongos, bacterias, insectos y algunos vertebrados.

La respuesta de la madera a la agresión biológica varía de acuerdo a la especie, el grado de humedad y la temperatura. Existen maderas muy resistentes y otras fácilmente vulnerables. (**Zanni, 2004**)

La pudrición está considerada como una de las mayores causas que afectan su durabilidad, la cual es causada por hongos que utilizan la madera y sus componentes como fuente de alimento (**Cassens et al, 1995**).

El aumento de la vida útil de la madera mediante la aplicación de preservadores apropiados, ha tenido un efecto muy importante en el terreno del uso de la madera, pues ha hecho utilizable gran número de especies que se consideraban inferiores por el mero hecho de su escasa durabilidad. (**Hunt, 1952**)

Para su preservación el hombre ha usado productos que no solo atacan al agente que causa estos daños, sino que también perjudican al medio ambiente y que son nocivos para la salud de quien realiza el proceso de tratamiento de la madera; por lo que hoy en día se busca reemplazar estos productos por alternativas que sean eco-amigables, como los productos de origen natural.

Si bien se ha observado que muchos árboles tienen resistencia natural al deterioro, se ha incursionado en la búsqueda de aquello que les aporta esta durabilidad, encontrándose así una extensa gama de compuestos que están implicados en dicho efecto.

Este proyecto está enfocado al análisis del producto de la reacción de acetilación del compuesto Medicarpina, la cual se tiene reportado que tiene actividad antifúngica contra hongos del género *Trametes*, por lo que se pretende medir la capacidad del acetilado para inhibir hongos de dicho género. Así como promover la búsqueda y evaluación de principios activos provenientes de la naturaleza que puedan tener actividad inhibitoria frente a los patógenos que afectan la madera.

4. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la actividad antifúngica del compuesto acetilado de Medicarpina obtenida del duramen de *Andira inermis*, frente al hongo de pudrición blanca *Trametes versicolor*.

Objetivos específicos

- ❖ Obtener extraíbles del duramen del árbol *Andira inermis* con solventes: hexano y acetato de etilo.
- ❖ Identificar la presencia del compuesto Medicarpina en el Duramen del árbol para su posterior acetilación.
- ❖ Purificar la Acetil Medicarpina mediante cromatografía en columna para eliminar las impurezas y obtener cristales.
- ❖ Determinar propiedades físicas de los cristales obtenidos.
- ❖ Probar la eficacia como antifúngico de los extractos crudos obtenidos del duramen del árbol *Andira inermis* y la Medicarpina acetilada contra el hongo de pudrición blanca *Trametes versicolor*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con duramen del árbol *Andira inermis* proveniente de la comunidad



Figura 15. Harina del duramen de *Andira inermis*.

Hoyo de Aire, Municipio de Taretán, Michoacán, el cual fue astillado, molido y tamizado en malla 40 para su manejo.

La harina obtenida se aprecia como un polvo fino de color amarillo-pardo.

(Figura 15)

Para la prueba biológica se utilizó al hongo de pudrición blanca *Trametes versicolor* el cual fue proporcionado por el Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología (CEMEB).

5.1 Obtención del extracto.

Por medio de extracción con disolventes usando equipo Soxhlet se obtuvieron los extractos. 25 g de harina del duramen previamente tamizado se colocaron en dedal de celulosa (Figura 16a), el cual se dejó en reflujo durante cuatro horas consecutivas usando como disolvente 200 mL de hexano y realizando este proceso tres veces cambiando el hexano por cada reflujo nuevo realizado.

Posteriormente se cambió el disolvente a 200 mL de acetato de etilo y se repitió la operación tres veces (Figura 16b).

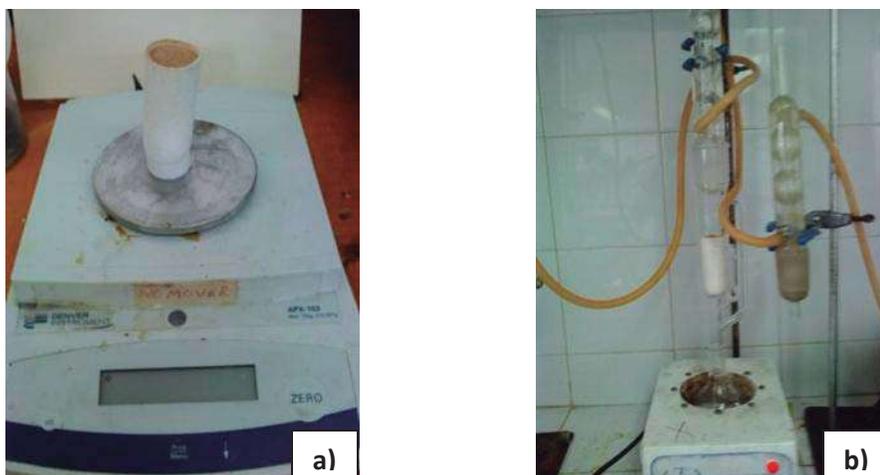


Figura 16. a) Pesaje de la harina en dedal de celulosa. b) Proceso de extracción en Soxhlet.

Tras evaporar el solvente en rotavapor se obtuvieron extractos de consistencia mielosa, los cuales se usaron para las pruebas biológicas.

5.2 Acetilación.

Se utilizó extracto obtenido por maceración directa de las astillas del duramen con una mezcla de metanol – cloruro de metileno 1:1(70-70 mL), el cual al concentrarse se obtuvo un compuesto de consistencia viscosa.

1 g del extracto se disolvió con 4 mL de piridina y 4 mL de anhídrido acético (Figura 17), se dejó la reacción a temperatura ambiente durante 24 horas.

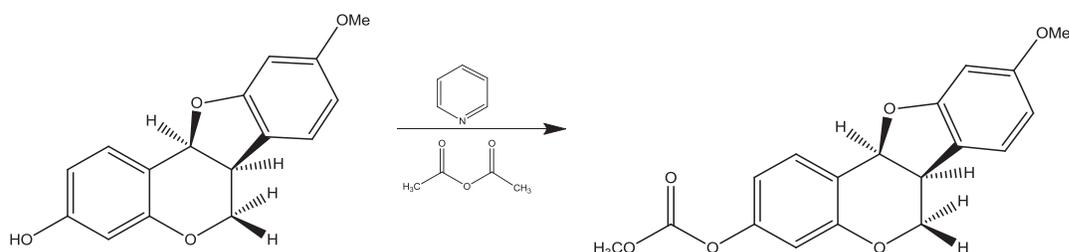


Figura 17. Reacción de acetilación de la Medicarpina.

Posterior a este lapso de tiempo, el compuesto acetilado se extrajo con 20 mL de Acetato de etilo, usando embudo de separación para dicho fin (Figura 17b).

Se le realizaron lavados con 50 mL de solución al 10% de ácido clorhídrico y posteriormente con 50 mL de solución saturada de bicarbonato de sodio, finalizando con lavado de 30 mL de agua, aplicando agitación constante para realizar los lavados, desechando la fase acuosa en cada uno de ellos.

El exceso de humedad se eliminó con sulfato de sodio anhidro y posteriormente se evaporó para eliminar el disolvente (Figura 17c), obteniéndose un compuesto de aspecto mieloso color café oscuro.

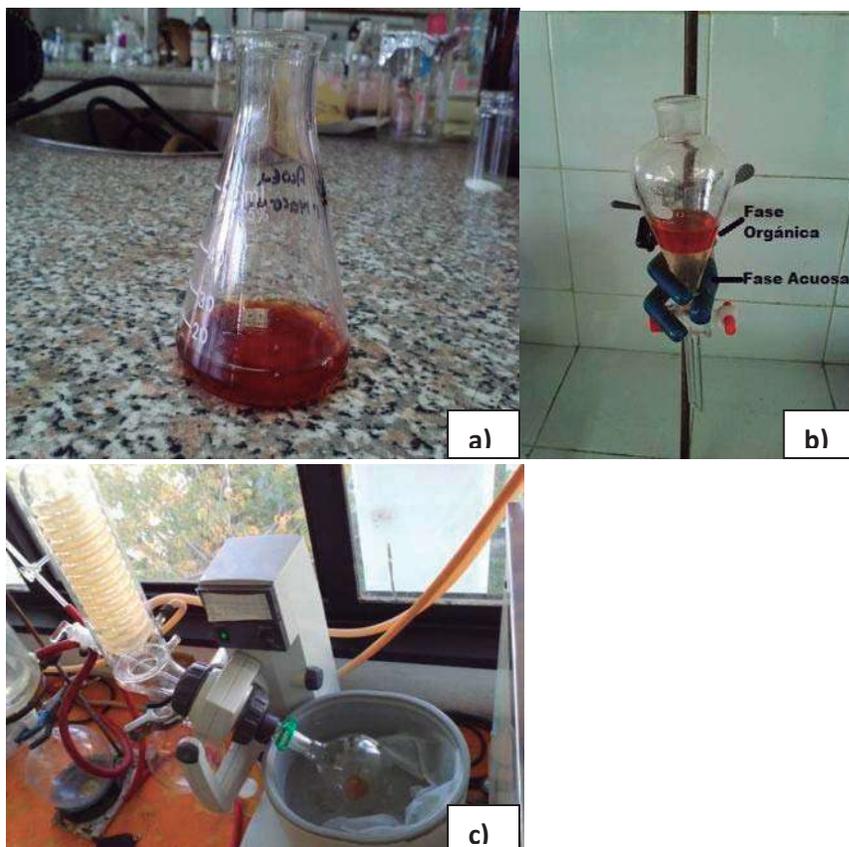


Figura 17, a) Mezcla de reacción de acetilación. b) Extracción y lavados del compuesto acetilado. c) Evaporación del disolvente mediante Rotavapor.

Previo a purificar el producto acetilado, se verificó si se había llevado a cabo la reacción comparando la Medicarpina con el compuesto obtenido de la reacción, mediante cromatografía en capa fina, usando como fase móvil mezcla de Hexano-Acetato de Etilo 4:1, observándose lo que se muestra en la cromatoplaqa de la figura 18.

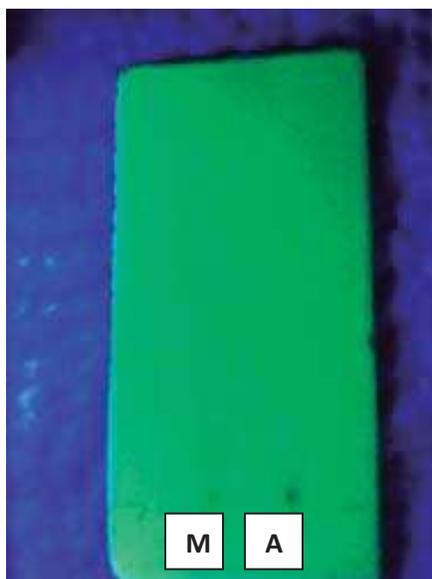


Figura 18. Cromatoplaqa, donde M representa la mancha de la Medicarpina y A refiere a la mancha del compuesto acetilado.

De la figura 18 se puede observar que la mancha “A” se desplaza más que la mancha “M”, por lo que podemos decir que está presente otro compuesto diferente al de la materia prima.

5.3 Purificación.

El producto acetilado se purificó por medio de cromatografía en columna (figura 19), usando como fase estacionaria sílica gel y como eluyente 50 mL de hexano y aumentando la polaridad con 100 mL de mezcla de hexano-acetato de etilo 9:1. Obteniéndose 30 fracciones de aproximadamente 3 mL cada una; Observándose en las fracciones 14 a 30 cristales blancos y finos, los cuales se analizaron mediante RMN- H^1 , para verificar que el compuesto obtenido era la Acetil Medicarpina. (El espectro de RMN- H^1 se muestra en el anexo)



Figura 19. Purificación de la Acetil Medicarpina en columna cromatográfica.

5.4 Propiedades físicas de la Acetil Medicarpina.

Se determinó el punto de fusión y la solubilidad del compuesto, así como sus características físicas observables.

5.4.1 Punto de Fusión.

Se determinó el punto de fusión (figura 20) en equipo Evel modelo 1237, colocándose unos cuantos cristales en el cubre objetos y evaluando la temperatura a la cual funden dichos cristales.



Figura 20. Determinación del Punto de fusión.

5.4.2 Solubilidad.

Se hicieron pruebas de solubilidad, colocando en viales 4 mg de cristales y agregando de 0.1 en 0.1 mL de solvente seleccionado (hexano, cloruro de metileno, acetato de etilo, acetona, metanol y agua) hasta llegar a 1 mL, de ahí se clasificó en soluble o insoluble de acuerdo a lo observado.

5.5 Prueba Biológica.

Para la prueba de la eficacia de los extraíbles se usó la técnica de dilución en gel con inoculación superficial en placa, usando Agar dextrosa-Sabouraud como medio base y concentraciones de 250 y 500 mg/L para los extractos crudos Hexánicos y en Acetato de etilo; concentraciones de 50, 100 y 150 mg/L para los cristales de Medicarpina acetilada y una concentración de 150 mg/L de cristales de Medicarpina.

Para la preparación de las concentraciones se pesaron los extractos y los cristales. Los extractos se disolvieron con etanol para adicionarlos al agar previo a verterlos a las cajas Petri, los cristales se disolvieron en acetona y posteriormente se adicionaron al agar previamente esterilizado, procurando que el agar siguiera caliente para la evaporación de los solventes.

Se dejó enfriar y solidificar el agar, se tomó una porción del micelio del hongo *Trametes versicolor* y se sembró por rasgadura en un extremo de la caja Petri.

Como control negativo se sembró al hongo en cajas de agar sin tratamiento.

Cada uno de los ensayos se realizó por triplicado, se incubaron a 28 +/- 2 °C y se reportaron a los 14 días de la inoculación de los medios.

El porcentaje de inhibición se determinó con la siguiente fórmula (**Rutiaga, 2001; Martínez, 2011**):

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{crecimiento control} - \text{crecimiento tratamiento}}{\text{Crecimiento control}} \times 100$$

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Rendimientos.

Al evaluarse el rendimiento de los extractos crudos obtenidos del duramen se obtuvo lo que se muestra en la tabla 5.

Solvente	Extracto (g)	Rendimiento(%)
Hexano	0.454	1.816
Acetato de Etilo	0.818	3.272
Total		5.088

Tabla 5. Rendimiento de los extractos del duramen de *A. inermis* usando equipo Soxhlet. A partir de 25 g de harina del duramen, y 200 mL de cada solvente.

Para evaluar el rendimiento de los cristales de Acetato de Medicarpina obtenidos, se probó con diferentes cantidades del extracto para acetilar, teniendo en cuenta que por cada gramo de materia prima se usó 4 mL de piridina y 4 mL de anhídrido acético para llevar a cabo la reacción. Los resultados se muestran en la tabla 6.

Materia prima (g)	Acetilado crudo (g)	Cristales (g)	Rendimiento de cristales (%)
7	1.15	0.008	0.695
3	2	0.113	5.65
1	0.824	0.005	0.606

Tabla 6. Rendimiento de Cristales de Acetil Medicarpina.

De la tabla 6, la materia prima se refiere al extracto obtenido por maceración directa de astillas del duramen con metanol- cloruro de metileno 1:1.

El acetilado crudo indica los gramos de compuesto obtenido posterior a los lavados de la reacción de acetilación. Como se puede observar, hay gran variación en el rendimiento, esto debido a que durante los lavados posteriores a la acetilación se formaba una emulsión entre las fases, donde hubo pérdida del compuesto en la fase acuosa al desecharla.

La columna que está indicada como cristales refiere a los gramos obtenidos de la purificación del compuesto acetilado.

6.2 Propiedades Físicas.



Figura 21. Aspecto de los extractos crudos hexánicos y de acetato de etilo.

En la figura 21 se muestra el aspecto de los extractos crudos obtenidos, los cuales presentaron una consistencia mielosa; para el caso de los extractos hexánicos presentaron una coloración ámbar claro y se obtuvo menor rendimiento que para el caso de los extractos obtenidos con acetato de etilo, los cuales se observaron de color ámbar oscuro; ambos extractos presentaron un olor agradable.

Respecto a las propiedades físicas de los cristales de Acetil Medicarpina obtenidos por cromatografía en columna, se resume en la tabla 7.

Aspecto	Cristales blancos, finos como agujas	
Punto de Fusión	108-110 °C	
Solubilidad	Hexano	Insoluble
	Cloruro de Metileno	Soluble
	Acetato de Etilo	Soluble
	Acetona	Soluble
	Metanol	Insoluble
	Agua	Insoluble

Tabla 7. Resumen de las propiedades físicas evaluadas de la Acetil Medicarpina.

De acuerdo a la tabla 7, el compuesto es soluble en disolventes de polaridad media, pero insoluble en disolventes muy polares como lo son el metanol y el agua.

Al obtener los cristales algunas fracciones tenían impurezas, por lo que se recristalizó usando unas gotas de Cloruro de metileno y Hexano, dejando evaporar, con lo que se formaban cristales más puros. Como se muestra en la figura 22.

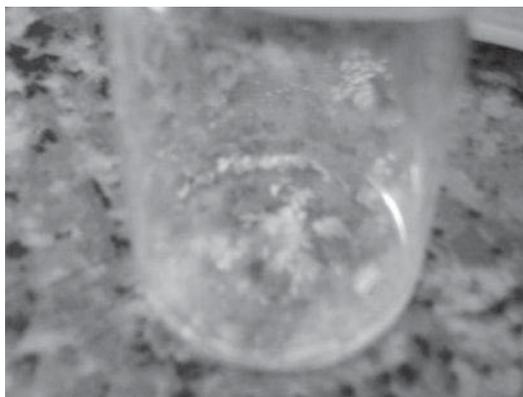
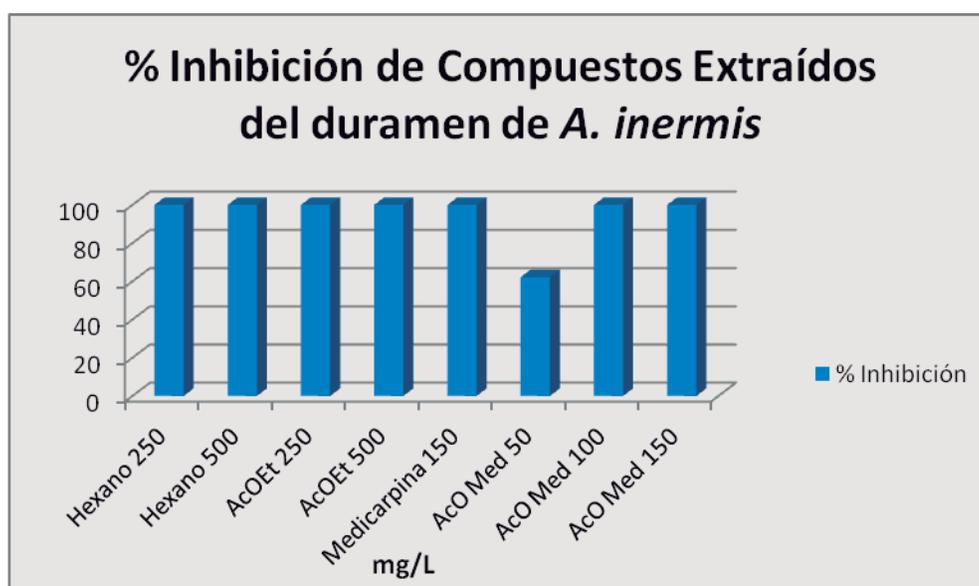


Figura 22. Aspecto de los cristales purificados de Acetil Medicarpina.

6.3 Prueba Biológica.

Al evaluarse el porcentaje de inhibición de los compuestos de interés, se obtuvo lo siguiente:



Gráfica 1 Porcentaje de inhibición de los compuestos extraídos del duramen de *A. inermis*, contra hongo de pudrición *Trametes versicolor*.

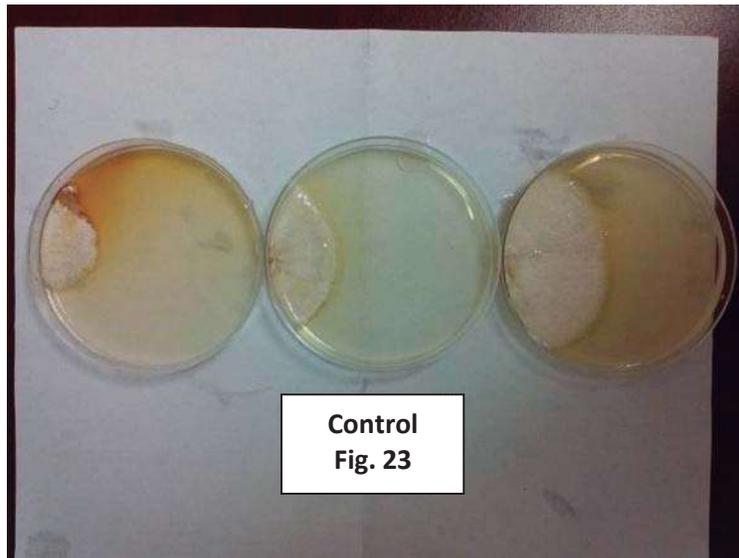
Donde Hexano 250 y 500 mg/L, se refiere el porcentaje de inhibición del extracto crudo hexánico; AcOEt 250 y 500 mg/L alude al porcentaje de inhibición del extracto crudo en Acetato de etilo. Medicarpina 150 mg/L y AcO Med (Refiere la Acetil Medicarpina) 50, 100 y 150 mg/L representan el porcentaje al que inhiben a sus correspondientes concentraciones. Los resultados se resumen en la tabla 8.

mg/L	%
Inhibición	
Hexano 250	100
Hexano 500	100
AcOEt 250	100
AcOEt 500	100
Medicarpina 150	100
AcO Med 50	62,2
AcO Med 100	100
AcO Med 150	100

Tabla 8. Porcentaje de inhibición de las pruebas biológicas realizadas con los Extraíbles de *A. inermis*.

Como podemos observar en la gráfica 1, los extraíbles obtenidos del duramen de *Andira inermis* presentan un porcentaje de inhibición del 100% sobre el hongo *Trametes versicolor*, misma que presenta el Acetato de medicarpina a concentraciones mayores de 100 mg/L, por lo que se puede denotar que la concentración mínima efectiva de este compuesto se encuentra en el intervalo de 50 a 100 mg/L.

Las imágenes de la prueba biológica se presentan en la figura 23.



En la figura 23 (control) que se presenta en la parte superior se observan las placas de agar control, donde se ve claramente el micelio del hongo crecido después de 2 semanas de incubación; el micelio presentó una coloración blanca, aspecto algodonoso, ceroso, ligeramente elevado.



a) Ensayo con extracto crudo hexánico a concentración de 250 mg/L.

Crecimiento nulo del hongo.



b) Ensayo con extracto crudo hexánico a concentración de 500 mg/L.

No hay crecimiento del hongo.



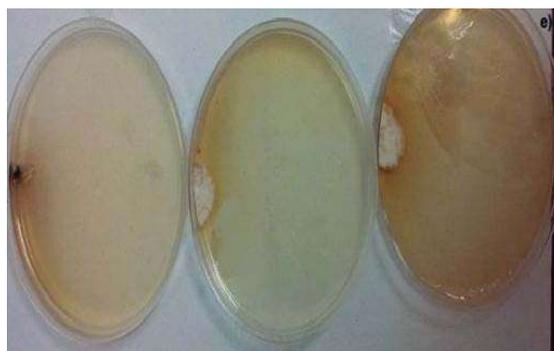
c) Ensayo con extracto crudo de Acetato de etilo a concentración de 250 mg/L

No hay crecimiento del hongo

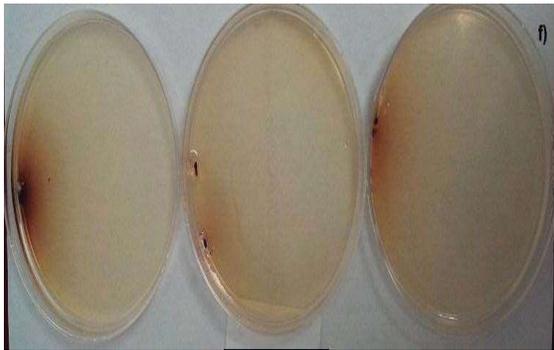


d) Ensayo con extracto crudo de Acetato de etilo a concentración de 500 mg/L

No hay crecimiento del hongo.



e) Ensayo con cristales de Acetil Medicarpina a concentración de 50 mg/L. Se observa crecimiento de micelio del hongo.



f) Ensayo con cristales de Acetil Medicarpina a concentración de 100 mg/L. No hay crecimiento de hongo.



g) Ensayo con cristales de Acetil Medicarpina concentración de 150mg/L. No hay crecimiento del hongo.

En las placas tratadas con Acetil Medicarpina, posterior a la solidificación del agar, el compuesto volvió a cristalizar uniformemente en el agar.



h) Ensayo con cristales de Medicarpina a concentración de 150 mg/L. No hay crecimiento. Este ensayo se usó como control positivo, ya que se tiene reportado

que a esta concentración, la Medicarpina inhibe al 100% el crecimiento del hongo *T. versicolor*.

Figura 23. Actividad biológica de los extractos obtenidos del duramen de *A. inermis*. (Control, a), b), c), d), e), f), g) y h))

7. CONCLUSIONES

El duramen de *Andira inermis* presentó un contenido de extraíbles de 5.088% siendo el extracto obtenido en Acetato de etilo el de mayor proporción con un 5.65% y el extracto hexánico con 0.696% de rendimiento.

De la reacción de acetilación se obtuvieron cristales blancos, finos como agujas, con punto de fusión de 108-110° C, y que son solubles en solventes de polaridad media.

Se deben probar diferentes condiciones de reacción de acetilación para así obtener las óptimas que lleven a un mejor rendimiento, ya que como se reporta, el rendimiento de cristales es bajo.

El duramen de *A. inermis* contiene compuestos que le confieren un efecto protector ante el ataque de los hongos de pudrición blanca; dentro de estos compuestos destaca la Medicarpina, que además se encuentra presente en diversas especies de *Dalbergia*, en *Artabotrys odoratissimus*, la cual ya se tiene reportado que tiene eficaz efecto antifúngico contra hongos de pudrición blanca *Trametes versicolor* (Martínez, 2011). Lo que le confiere al árbol durabilidad natural por lo que se les ha clasificado a estas especies dentro del grupo de árboles durables.

Para este ensayo, la Acetil Medicarpina resultó ser un eficaz antifúngico, ya que a concentraciones de 100 mg/L presenta un 100 por ciento de inhibición, e inclusive a concentraciones de 50 mg/L presenta un 62.2 por ciento, lo cual es un porcentaje considerable de efecto.

Debido a que la mayoría de los productos químicos que se usan para proteger a la madera resultan ser tóxicos no solo para el agente patógeno, debemos buscar alternativas que sean menos agresivas o inclusive inocuas tanto para el medio ambiente, como para los seres vivos que estarán en contacto con el producto. Que mejor que estas alternativas sean obtenidas de los productos de origen natural, los cuales al estar presentes en la naturaleza no son dañinos para esta misma.

Sabiendo que la Medicarpina y su producto acetilado presentan actividad antifúngica, debemos buscar fuentes alternas de estos compuestos para su potencial uso a nivel industrial, para así mantener un equilibrio y no llevar a la deforestación de los árboles que presentan este y otros compuestos que les aportan protección ante posibles invasores.

Así mismo se debe poner énfasis en la promoción de la investigación de productos naturales ya que como se ve en la actualidad, son estos los que se están adentrando a las necesidades de los consumidores debido a sus múltiples beneficios y pocos efectos colaterales.

8. BIBLIOGRAFÍA

Calvo Pérez J. (2010) “*Trametes versicolor*” Fungipedia <www.fungipedia.es/clasificacion-orden/basidiomycota/poriales/357-trametes-versicolo.html>

Consultado el día 30 de Enero del 2012.

Capuz Lladró R. (2005) Materiales Orgánicos. Maderas. Editorial Universidad Politécnica de Valencia.

Cassens, D., Johnson, B., Feist, W. (1995) Selection and use of preservative-treated wood. Forest Products Society No. 7299.

Cruz J. (2006) Manual para la Conservación y Preservación de Madera Estructural en Edificios Históricos. Ediciones Michoacanas. México.

Encinas O., Molina Y. (2007) “Mejora de la durabilidad de la madera de Pino Caribe mediante acetilación”. Rev. For. Lat. N° 41 <<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/24154/2/articulo2.pdf>>

Consultado el día 6 de enero del 2012.

García Esteban L., Guindeo Casasús A., Peraza Oramas C., De Palacios P. (2003) La Madera y su Anatomía. Anomalías y defectos, estructura microscópica de coníferas y frondosas, identificación de maderas, descripción de especies y pared celular. Primera Edición, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

Grieve M. "Cabbage Tree" Botanical.com A Modern Herbal. <<http://www.botanical.com/botanical/mgmh/c/cabtre01.html>> Consultado el día 8 de Diciembre del 2011.

Herrera T., Ulloa M. (1998) El Reino de los Hongos, Micología Básica y Aplicada. Segunda Edición, FCE, UNAM, México.

Honorato Salazar J. A., Vázquez Silva L., Zamudios Sánchez F. (2001), "Durabilidad natural de la madera de cinco especies de *Quercus* del Estado de Puebla". Polibotánica, diciembre, número 01, Instituto Politécnico Nacional, Distrito Federal, México. <<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/621/62101205.pdf>> Consultado el día 5 de enero del 2012.

Hunt G. (1952) Preservación de la Madera. Segunda edición, Editorial Salvat, Barcelona, Madrid.

Kent J. (1964) Riegel Química Industrial. Ediciones Grijalbo, Barcelona.

Kollmann F. (1959) Tecnología de la Madera y sus Aplicaciones. Tomo primero, Madrid.

Kraft C., Jenett K., Kohler I., Siems K. (2002) "Andirol A and B, two unique 6-hidroxymethylpterocarpenes from *A. inermis*" < <http://www.znaturforsch.com/ac/v57c/s57c0785.pdf> > Consultado el día 22 de Enero del 2011.

Kunth, "Andira inermis (W. Wright)". Árboles de Centroamérica. <<http://www.arbolesdecentroamerica.info/cms/>> Consultado el 7 de Diciembre del 2011.

Luley J.C. 2006. "Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos". Arborist News de abril 2006.

ISA Hispana Sociedad Internacional de Arboricultura. <<http://isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi.aspx>> Consultado el 24 de Noviembre del 2011.

Lurá M., González A., Basílico J. (1997) Introducción al estudio de la Micología. Centro de Publicaciones, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.

Martínez Sotres M.C. (2011) Evaluación de la actividad antifúngica de diferentes extractos del duramen de *Dalbergia congestiflora* P. y aislamiento e identificación del componente con actividad biológica. Tesis Maestría en Ciencias y Tecnología de la Madera. UMSNH. Morelia Michoacán.

Mcmurry T.B.H. and Martin E. (1972) 3-hydroxy-9-methoxy and 3-methoxy-9-hydroxypterocarpanes. Phytochemistry, Vol. 11.

Menéndez Valderrey J. (2006) "Trametes versicolor (L.) Pill" Asturnatura.com <<http://www.asturnatura.com/especie/trametes-versicolor.html>>

Consultado el día 30 de Enero del 2012.

Quintero J.C, Feijo G., Lema J. 2006, "Producción de enzimas ligninolíticas con hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos" Vitae, Vol. 13, número 2. Universidad de Antioquia, Colombia. <<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/1698/169813258008.pdf>> Consultado el día 7 de enero del 2012

Remacha Gete A., "Degradación de la madera por los organismos xilófagos vegetales". Universidad Politécnica de Madrid. <http://infomadera.net/uploads/articulos/archivo_1368_17243.pdf> Consultado el día 26 de Diciembre del 2011.

Richardson B. A. (1993) Wood Preservation. Second Edition. E y Fn Spon. London.

Téllez Sánchez C. (2004) Descripción anatómica, caracterización físico-mecánica y análisis químico de la madera de *A. inermis* (W. Wright). Tesis Maestría en Ciencias y Tecnología de la Madera, UMSNH, Morelia Michoacán.

Thompson R. (1991) The Chemistry of Wood Preservation, Published by The Royal Society of Chemistry. Cambridge.

Torres J. (1998) Patología Forestal. Principales enfermedades de nuestras especies forestales. Segunda edición, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

Usnayo Gonzales L. 2007, "Optimización de medios de cultivo, para la producción de enzimas ligninolíticas, por cepas fúngicas aisladas del altiplano Boliviano". Tesis para obtener el título de Licenciatura en Bioquímica, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.
<<http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/handle/123456789/12>>

Consultado el día 28 de Diciembre del 2011.

Velásquez J., Toro M.E., Rojas L., Encinas O. 2006. "Actividad antifúngica in vitro de los extractivos naturales de especies latifoliadas de la Guayana Venezolana". Madera y Bosques, primavera, año/ vol. 2, Instituto de Ecología A.C. Xalapa México. < <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/617/61712106.pdf> > Consultado el día 27 de Diciembre del 2011.

Vignote Peña S., Martínez Rojas I. (2006) Tecnología de la Madera, Editorial Mundi-Prensa, tercera edición, Madrid.

Weaver, Peter L. 1989. "Andira inermis (W. Wright) DC". <<http://www.fs.fed.us/globla/iitf/Andirainermis.pdf>> Consultado el 7 de Diciembre del 2011.

Zanni E. (2004) Patología de la Madera. Degradación y Rehabilitación de Estructuras de Madera. Primera edición, Editorial Brujas.

Dr. Rafael Herrera
21-VI-10

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: CDC13

Ambient temperature

Mercury-400BB "mercury200"

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 50.0 degrees

Width 3.600 sec

Acq. 1998.600 Hz

16 repeats

Observe H1.400.1532299 MHz

DATA PROCESSING

FT size 65536

Total time 1 min, 19 sec

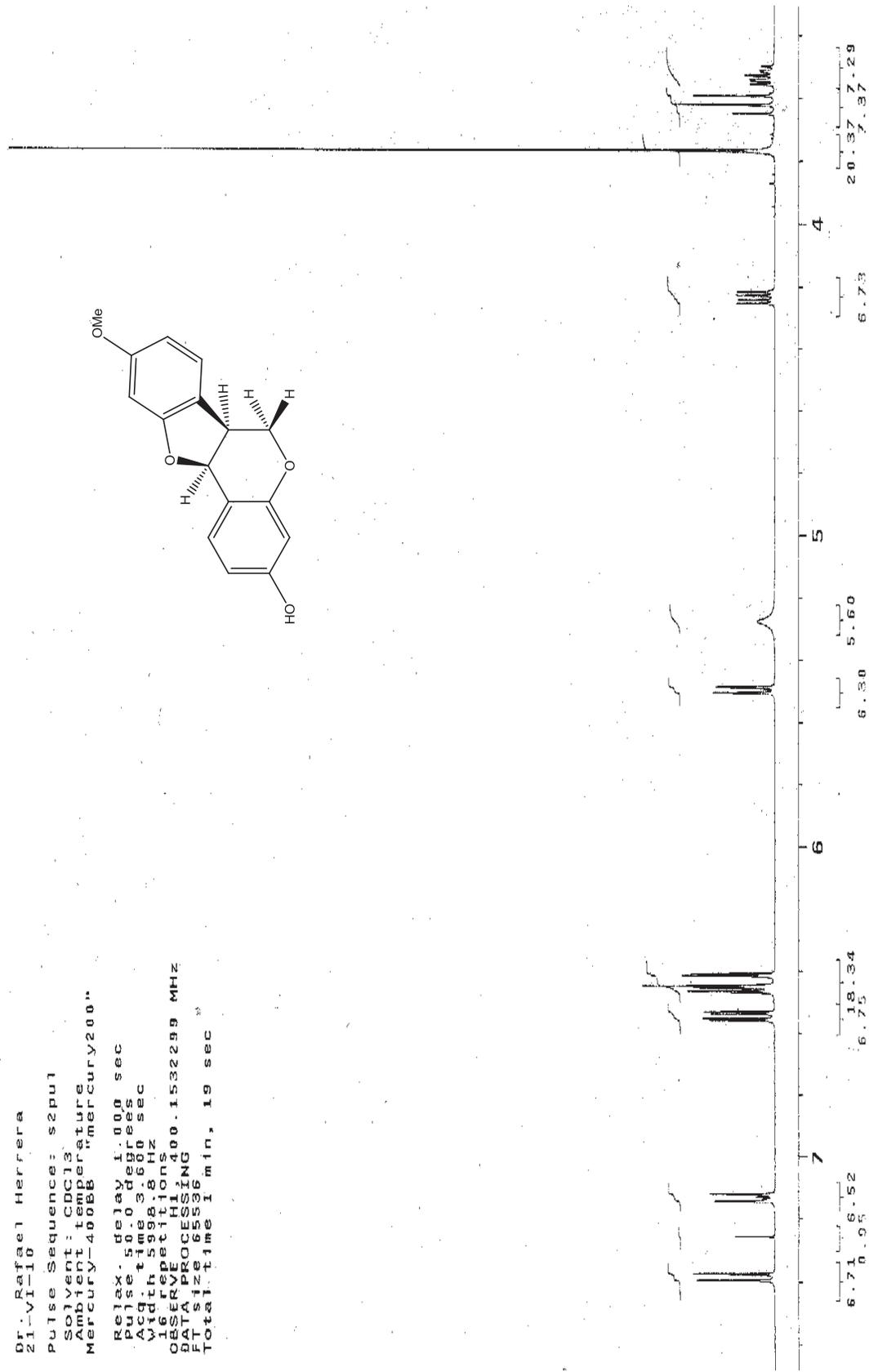
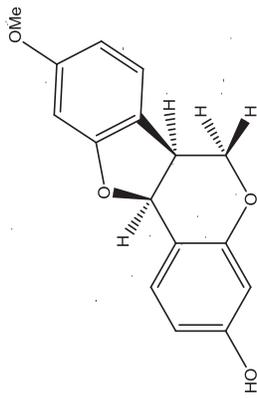


Figura 25. Espectro de RMN-H1 de cristal de Medicarpina aislado del Duramen de Dalbergia congestiflora P.