



Hongos de agua dulce como fuente potencial para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos¹

Mario Figueroa² e Itzel Rubí Yeverino²

Resumen. La Sierra Madre Oriental es una zona geológica compleja con múltiples hábitats y características físicas, químicas y biológicas únicas. En este trabajo, que formó parte del proyecto Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN203923, se aislaron 54 hongos a partir de material vegetal sumergido en la cascada El Caracol y el cañón Las Ad-

juntas, en Nuevo León, y en la cueva La Puente, en San Luis Potosí. Algunos extractos fueron activos contra patógenos del grupo *eskape* y el estudio químico de los extractos permitió la obtención de 23 productos naturales. De éstos, tres ciclo-depsipéptidos fueron novedosos y activos contra *Acinetobacter baumannii*, además de presentar baja toxicidad en el modelo de larvas de *Galleria mellonella*.

Palabras clave. Hongos de agua dulce, Sierra Madre Oriental, bioprospección, productos naturales; antibacterianos.

Resultados de la investigación

En las últimas décadas, se ha observado una notable disminución en la tasa de desarrollo de nuevos fármacos para tratar las infecciones por microorganismos

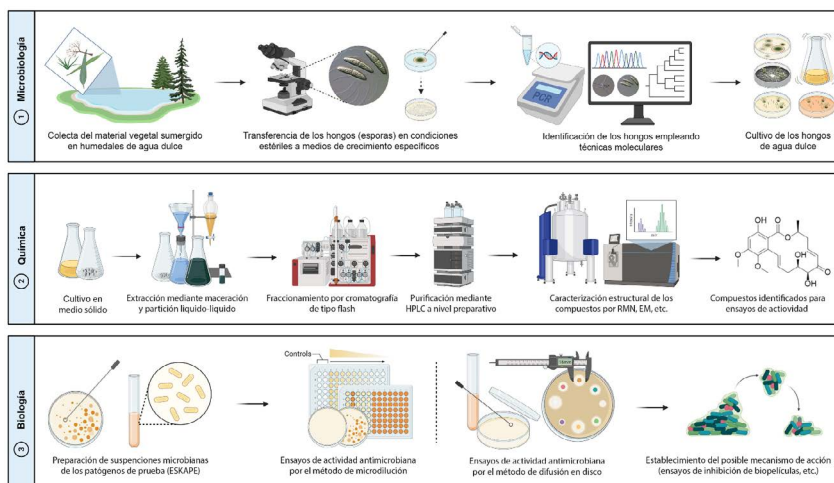
¹ Proyecto PAPIIT IN203923: “Estudio químico y biológico de microorganismos selectos de hábitats inexplorados de México para el descubrimiento de principios biodinámicos. Parte II”

² Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM. mafiguer@unam.mx, qfbirys@gmail.com



resistentes a los antibióticos convencionales. Para resolver este déficit, las universidades y centros de investigación que realizan estudios en el área de los productos naturales han centrado sus esfuerzos en la aplicación de las tecnologías ómicas o la bioprospección de fuentes naturales obtenidas de áreas inexploradas, como son los océanos profundos, áreas polares, volcanes, desiertos, manglares, cuevas, humedales, entre otros, para el descubrimiento de nuevas entidades químicas. En este proyecto nos enfocamos al estudio de hongos aislados a partir de material vegetal en descomposición sumergido en humedales de agua dulce y cuevas en la Sierra Madre Oriental, como candidatos para la obtención de metabolitos secundarios novedosos con actividad antimicrobiana contra bacterias de interés clínico.

Figura 1. Métodos para el descubrimiento de fármacos antimicrobianos a partir de hongos de agua dulce.



Fuente: Elaboración propia.

Empleando técnicas microbiológicas específicas para el aislamiento y propagación de hongos de agua dulce (figura 1) permitió la obtención de 54 taxa, los cuales fueron identificados mediante la secuenciación de la región del espaciador transcritor interno (ITS, por sus siglas en inglés) del ADN ribosomal (ADNr). Luego se prepararon los cultivos en sustrato sólido (arroz húmedo estéril) de todos los microorganismos, y al término del periodo de crecimiento, se obtuvie-

ron sus correspondientes extractos orgánicos (figura 1) que fueron sometidos a ensayos de actividad antimicrobiana contra patógenos de relevancia clínica del grupo grupo ESKAPE (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella aerogenes*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter cloacae*) (tabla 1) y, posteriormente, a estudios químicos empleado técnicas cromatográficas y analíticas de vanguardia para la separación e identificación de los compuestos activos.

Tabla 1. Resultados de actividad antimicrobiana de los extractos fúngicos selectos de la Sierra Madre Oriental

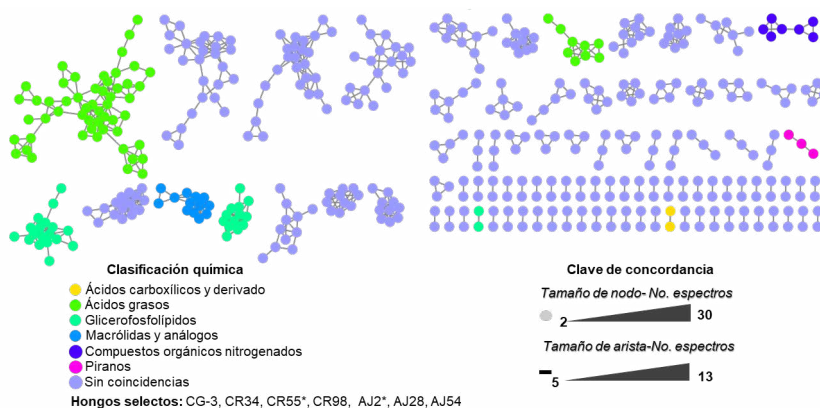
Código del hongo	E. faecalis sensible a vancomicina	E. faecalis resistente a vancomicina	S. aureus sensible a metilicina	S. aureus resistente a metilicina	Bacillus spizizenii	Candida albicans
CR34 (sin identificar)		+	+			
Neocubitaria sp. CR55		+++	+++	+++		
Orden Hypocreales CR98	++	++	++	+	+	+
Fusarium solani AJ2	+	++	++	+++		
Thelonectria sp. AJ28	++++	+++++	+++++	+++++		
Oidiodendron sp. CG-3	++++	+++++	+++++	++++		
Criterios de inhibición						
+++++	Inhibición total a 200 µg/mL y 20 µg/mL					
++++	Inhibición total a 200 µg/mL y parcial a 20 µg/mL					
+++	Inhibición total a 200 µg/mL					
	Inhibición parcial a 200 µg/mL y 20 µg/mL					
	Inhibición parcial a 200 µg/mL					
	Sin inhibición					

Fuente: elaboración propia.

De forma paralela a los estudios biológicos, se realizó el análisis metabolómico de los extractos en la plataforma del Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) a partir de los datos obtenidos por cromatografía de líquidos de ultra eficiencia acoplado a espectrometrías de masas de alta resolución en tándem masas/masas (Ultra-Performance Liquid Chromatography [UPLC]-High-Resolution-Mass Spectrometry [HRMS]-Tandem Mass Spectrometry [MS/MS]) (figura 2). La red molecular global de los extractos, agrupados

con base en las características de los fragmentos (Feature-Based Molecular Networking [FBMN]) obtenidos en los espectros de MS/MS, permitió identificar a seis familias químicas principales de moléculas presentes en los extractos: ácidos grasos, glicerosfolípidos, macrólidas, compuestos orgánicos nitrogenados y ácidos carboxílicos (figura 2).

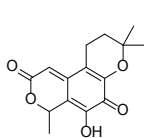
Figura 2. Red molecular por FBMN de los extractos fúngicos selectos de la Sierra Madre Oriental



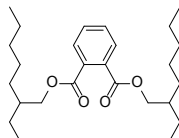
Fuente: elaboración propia.

El estudio químico biodirigido de los extractos activos permitió el aislamiento y caracterización inequívoca (análisis e interpretación de sus espectros de HR-MS-MS/MS y resonancia magnética nuclear [RMN] mono y bidimensionales) de los siguientes metabolitos secundarios³, a partir:

- De *Oidiodendron* sp. CG-3 se aislaron la dihidropirano fuscina (1), una micotoxina previamente identificada en otras especies de *Oidiodendron* y en *Potebniamyces gallicola*, y el bis(2-etilheptil)ftalato (2), identificado en plantas del género *Dryopteris* y de animales como el caballito de mar *Hippocampus kuda*.



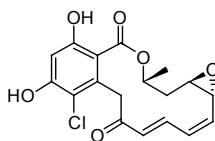
(1) Fuscina



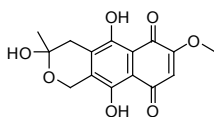
(2) bis(2-etilheptil)ftalato

³ Todas las estructuras químicas fueron elaboradas con el programa ChemDraw Profesional v.17 (PerkinElmer).

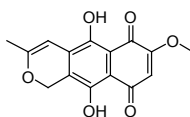
- Del hongo *F. solani* AJ2 se obtuvieron a la lactona resorcílica monordena A (3), aislada previamente a partir *Chaetomium chiversii*, *Monocillium nordinii* y *Pochonia chlamydospora* y con actividad antineoplásica, antibiótica y estimulante en el crecimiento capilar, y a las naftoquinonas 4-7, las cuales se encuentran distribuidas en plantas, algas, bacterias y hongos como *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., y *Chloridium* sp. Las actividades descritas en la literatura para las naftoquinonas son antibacterianas, antifúngicas, antipalúdica, citotóxicas, entre otras.



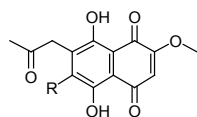
(3) Monorden A



(4) Fusarubina

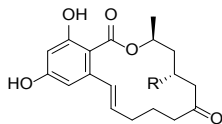


(5) Anhydrofusarubina



(6) Javanicina R=CH₃
(7) Norjavanicina R=H

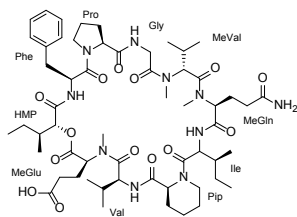
- De *Neocurcubitaria* sp. CR55 se aisló el compuesto mayoritario *E*-zearalenona (8) y su derivado hidroxilado 8'-hidroxizearalenona (9). Estas micotoxinas, identificadas también en *Gibberella zeae* y *Fusarium* spp., son altamente tóxicas para el ser humano, además de poseer actividad antimicrobiana *in vitro* contra *Cryptococcus neoformans* y *S. aureus* sensible y resistente a metilicina, y protectora contra las células β -pancreáticas.



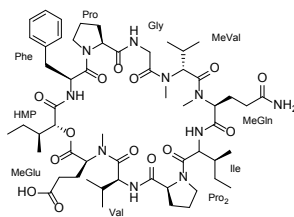
(8) Zearalenon R=H
(9) 8'-Hidroxizearalenona R=OH

- Del hongo CR34 se aislaron los ciclodepsipéptidos Sch 217048 (10) y Sch 378161 (11), los análogos novedosos 12-14 y el ácido azelaico (15). Algunos ciclodepsipéptidos descritos en la literatura poseen actividad citotóxica, antimicrobiana, antiviral, antihelmíntica, antipalúdica y fi-

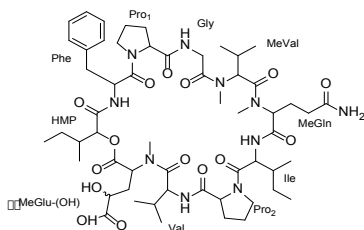
totoxicidad. Los compuestos 10 y 11 han sido evaluados también como antagonistas de los receptores de neurotaquinina NK1 y NK2. En el caso de 15, este producto es ampliamente utilizado como cosmético en tratamientos dermatológicos de rosácea, acné, melasma, entre otros.



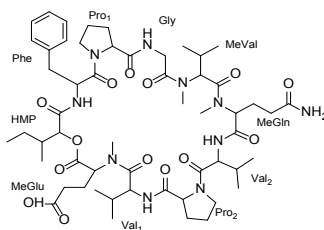
(10) Sch 217048



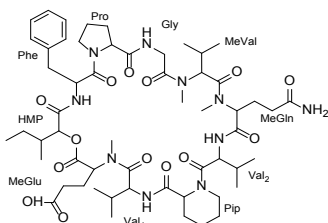
(11) Sch 378161



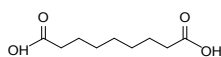
(12)



(13)



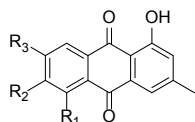
(14)



(15) Ácido azelaico

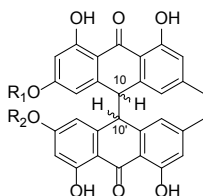
- De *Thelonectria* sp. AJ28 se aislaron a las antraquinonas przewalskisona B (16), alantoína (17) y 5-cloroemodina (18) y a las biantronas *trans*- y *cis*-emodina-fiscion diantronas (19 y 20) y emodina-diantrona y *meso*-emodina-diantrona (21 y 22). Este tipo de metabolitos representa una familia de policétidos sumamente conjugados que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en plantas, líquenes (*Parmelia* spp.) y hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y

Microsporium. Las actividades biológicas de este tipo de compuestos son diversas, encontrándose potencial como agentes citotóxicos (activos en líneas celulares de leucemia, carcinoma colonorectal, cervicouterino, melanoma, entre otros), antimicrobianos (contra *S. aureus*, *Chlamydia psittaci* y *P. aeruginosa*), antiparasitarios (*Plasmodium falciparum*), anti-retrovirales y purgantes.



- (16) Przewalsquinona B
- (17) Alatonina
- (18) 5-Cloroemodina

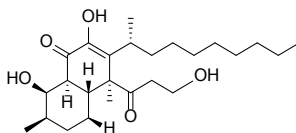
$R_1=OH, R_2=H, R_3=OCH_3$
 $R_1=OH, R_2=H, R_3=OH$
 $R_1=Cl, R_2=OH, R_3=H$



- (19) *trans*-Emodina-fiscion
- (20) *cis*-Emodina-fiscion
- (20) (\pm) Emodina diantrona
- (21) *meso*-Emodina diantrona

$R_1=OCH_3, R_2=H; H\text{---}10/H\text{---}10'$ o $H\text{---}10/H\text{---}10'$
 $R_1=OCH_3, R_2=H; H\text{---}10/H\text{---}10'$ o $H\text{---}10/H\text{---}10'$
 $R_1/R_2=H$
 $R_1/R_2=H$

- De hongo CR98 (Orden Hypocreales) se obtuvo a la decalina NBRI 17671 (23), la cual ha mostrado antimicrobiana contra *S. aureus*.



(23) NBRI 17671

Una vez caracterizados a todos los compuestos, se evaluó su actividad antimicrobiana *in vitro* contra el panel de bacterias ESKAPE, empleando el ensayo de microdilución en pacas de 96 pozos. Los resultados de aquellos compuestos que a mostraron actividad contra al menos una de las cepas de prueba se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Actividad antimicrobiana de los compuestos aislados.
Porcentajes de inhibición mostrados $\geq 50.0\%$ (excepto *A. baumannii*).

Compuesto	E. faecalis sensible a vancomicina		E. faecalis resistente a vancomicina		S. aureus sensible a meticilina		S. aureus resistente a meticilina		Bacillus spizizenii		A. baumannii sensible a antibióticos		A. baumannii A564 multirresistente a antibióticos	
	% Inhibición del crecimiento													
	100*	10*	100*	10*	100*	10*	100*	10*	100*	10*	100*	10*	100*	10*
1		75.0			93.7		80.0	80.0						
3							74.2							
4			56.2		59.1		55.9							
6	54.9						68.3							
8							65.3							
10											13.3	1.1	35.5	3.6
11											6.7	3.3	5.0	3.6
15					76.8	82.7								
17					58.5	54.2		69.1						
18					89.6	85.9	82.2		82.8					
23	50.0	64.4			75.3		83.6		97.5					
CM1a		3.8 ^b		162.5 ^b		0.1 ^c		2.5 ^b		3.8 ^c		5.0 ^d		6400.0 ^c

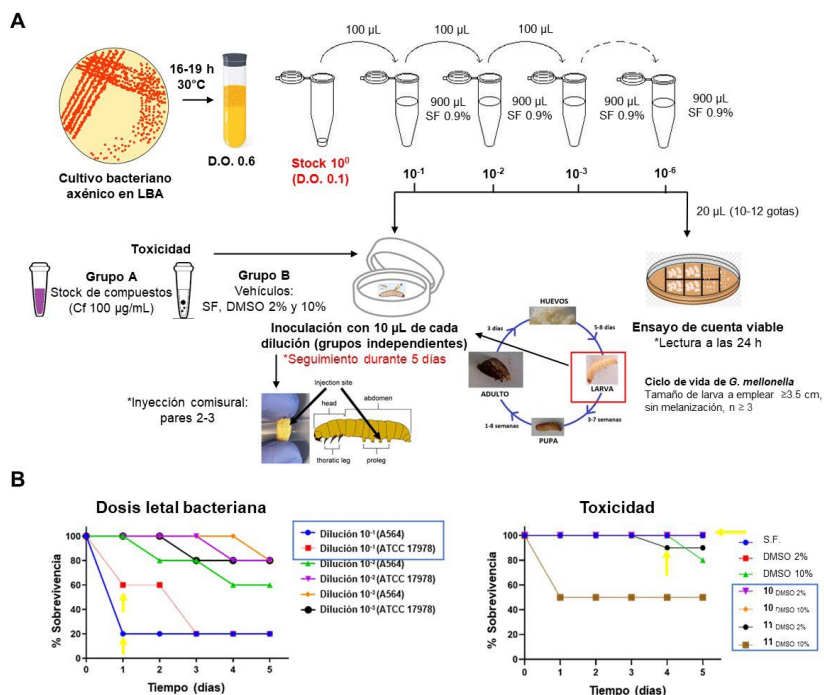
*Concentraciones de prueba en $\mu\text{g/mL}$. ^aConcentración mínima inhibitoria de los controles positivos en $\mu\text{g/mL}$; ^bvancomicina; ^campicilina; ^dgentamicina.

Fuente: elaboración propia.

Se destaca que la mayoría de los compuestos presentó actividad contra los organismos Gram positivos *S. aureus* sensible y resistente a metilicina y *E. faecalis* sensible y resistente a vancomicina. También resalta la actividad, aunque marginal, de 10 y 11 los únicos productos activos, contra las cepas sensibles y multirresistentes de *A. baumannii*. Ante este escenario, se decidió probar su toxicidad in vitro empleando el modelo animal de *Galleria mellonella* (figura 3). Se observa que 10 (100 $\mu\text{g/mL}$, DMSO 2 %) no disminuye la sobrevivencia de *G. mellonella* en comparación con los vehículos de referencia, mientras que 11 presenta una ligera toxicidad (10 %) al cuarto día de ensayo, lo cual pudo deberse a que 11 presenta mayor solubilidad en dimetilsulfóxido [DMSO] a 2 % y 10 %. Actualmente se

espera recibir un nuevo lote de larvas de *G. mellonella* para realizar la actividad *in vivo* de estos dos compuestos.

Figura 3. Ensayo y resultados de toxicidad *in vivo* en *G. mellonella* de 10 y 11.



Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

La bioprospección en la Sierra Madre Oriental permitió el aislamiento de 54 taxa fúngicos los cuales fueron identificados mediante la secuenciación de la región *its* del *adrr*. Los extractos orgánicos de seis cepas mostraron un potencial antimicrobiano significativo contra organismos del grupo *eskape*. El estudio químico-biodirigido de los extractos de los hongos CR34, *Neocurcubitaria* sp. CR55, Orden Hypocreales CR98, *F. solani* AJ2, *Thelonectria* sp. AJ28, y *Oidiodendron* sp. CG-3, mediante técnicas cromatográficas de vanguardia, permitió la obtención de 23 metabolitos secundarios caracterizados empleando análisis de sus espec-

tros de HRMS-MS/MS y RMN. De estos, tres ciclodepsipéptidos fueron novedosos y la mayoría de los compuestos puros evaluados presentó actividad contra los organismos Gram positivos *S. aureus* sensible y resistente a meticilina, y *E. faecalis* sensible y resistente a vancomicina. En particular, dos ciclodepsipéptidos fueron activos contra cepas sensibles y multirresistentes a antibióticos de *A. baumannii* y no tóxico en el ensayo de *G. mellonella*. Finalmente, a nuestro saber, este proyecto representa el primer estudio de bioprospección de hongos de agua dulce en México, y en particular de ascomicetos de la Sierra Madre Oriental.

Agradecimientos

Este trabajo formó parte de la tesis de doctorado de la doctora Itzel Rubí Yeverino⁴ y fue publicado en la revista *ACS Omega* 10: 5087-5096,⁵ gracias al financiamiento otorgado por Universidad Nacional Autónoma de México a través del proyecto Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) PAPIIT IN203923 y al presupuesto otorgado por la Facultad de Química (PAIP 5000-9145), ambos bajo la responsabilidad del doctor Mario Figueroa. Itzel Rubí Yeverino agradece al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CVU núm. 817283) por la beca otorgada para sus estudios de doctorado.

4 Itzel Rubí Yeverino Sánchez. “Hongos de agua dulce como fuente potencial para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos”. Tesis doctoral (2025). https://tesiunam.dgb.unam.mx/F?current_base=TESOI&func=direct&doc_number=000869172

5 Itzel Rubí Yeverino Sánchez, Tania Paola Bocanegra Sosa, Laura Aguilar-Vega, Rodolfo García-Contreras, José L. Magaña-González y Mario Figueroa. “New antimicrobial cyclopeptides from a freshwater fungus from the Sierra Madre Oriental in Mexico”. *ACS Omega* 10 (2025): 5087-5096. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c10990>.