



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

Estudio químico y biológico del hongo
Punctularia atropurpurascens

TESIS

Que para obtener el título de

Químico Farmacéutico Biólogo

P R E S E N T A

Daniel Alejandro Acero Pimentel

Mario Alberto Figueroa Saldívar

Ciudad Universitaria, CDMX

2022





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Dra. Rachel Mata Essayag
VOCAL	Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz
SECRETARIO	Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar
1^{er} SUPLENTE	Dra. Berenice Ovalle Magallanes
2^{do} SUPLENTE	Dra. Araceli Pérez Vásquez

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 125, Edificio de Bioquímica y Farmacia,
Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

SUSTENTANTE:



Daniel Alejandro Acero Pimentel

ASESOR DEL TEMA



Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y a la Facultad de Química (FQ) por permitirme el desarrollo de las actividades de académicas y de investigación.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM IN222220) y al Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP-FQ 5000-9145) por los financiamientos otorgados para la realización de este proyecto de investigación, y al Departamento de Superación Académica (DSA) por el apoyo otorgado a través del Subprograma 127 “Formación Básica en la Investigación” (1 de septiembre de 2020 al 31 de agosto de 2021).

A la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAI) por el registro de los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) monodimensionales, y a los Dres. Shabnam Hematian, Nicholas H. Oberlies, Laura Flores Bocanegra y Firoz Khan de la Universidad de Carolina del Norte en Greensboro (UNCG), NC, EEUU, por el registro de los análisis de rayos X y de RMN bidimensionales.

A los Dres. Isabel Rivero Cruz (FQ, UNAM) y Huzefa A. Raja (UNCG) y al Biol. Abraham Josué Medina Ortiz (Instituto de Biología, UNAM y Departamento de Laboratorio, Colegio de Ciencias y Humanidades (CCH) plantel Sur, UNAM) por su asistencia técnica durante el desarrollo de este trabajo, y por aislar y caracterizar la cepa fúngica objeto de estudio, respectivamente.

A todos los compañeros del laboratorio 125 que, aunque no conviviéramos bastante, me ayudaron en muchos momentos de mi estancia en el laboratorio. Creo que lo notaron, pero me cuesta un poco convivir con gente nueva. Les agradezco de todo corazón por su apoyo en mi estancia en el laboratorio.

Al Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar por permitirme ser parte de su grupo de investigación, por la gran ayuda que me brindó a lo largo del desarrollo del tema y durante la pandemia de COVID-19 en 2020, y por la paciencia que me tuvo cuando me equivoqué o no comprendí del todo algún tema.

DEDICATORIAS

A mi madre y padre por apoyarme todo este tiempo y a lo largo de mis estudios universitarios.

A mi hermana por su apoyo emocional, especialmente en la pandemia de 2020.

A Liz y Bruno, por ser los mejores amigos que podría haber pedido y por apoyarme en todas mis crisis emocionales, por los momentos que pasamos juntos, por ser mi mano derecha y por ser las voces que me mantuvieron mentalmente sano a lo largo de toda la carrera.

A todos mis amigos, maestros y compañeros que me acompañaron a lo largo de la carrera y me ayudaron a llegar hasta este momento.

ÍNDICE

	Página
Lista de figuras	5
Lista de tablas	6
Lista de cuadros	6
Lista de abreviaturas	6
1. ANTECEDENTES	7
1.1. Hongos y sus metabolitos de importancia terapéutica e industrial.	7
1.2. Basidiomicetos y su importancia como productos naturales.	8
1.3. Hongos del orden Corticiales.	9
1.4. <i>Punctularia atropurpurascens</i> (Berk. & Broome) Petch (Punctulariaceae).	9
2. OBJETIVOS	11
3. METODOLOGÍA	12
3.1 Aislamiento, acondicionamiento y preparación del cultivo fúngico.	12
3.2. Identificación molecular de la especie fúngica.	12
3.3. Obtención del extracto orgánico.	12
3.4 Fraccionamiento primario del extracto orgánico 01003-083-1.	13
3.5 Aislamiento y purificación de los metabolitos presentes en las fracciones 01003-128-6 y 01003-128-11.	14
3.6 Caracterización estructural de los compuestos 1-3 .	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1. Investigación química de <i>P. atropurpurascens</i> .	17
4.2. Caracterización estructural de la <i>N</i> -fenetilacetamida (1).	18
4.3. Caracterización estructural de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2).	21
4.4. Caracterización estructural del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3).	26
5. CONCLUSIONES	32
6. REFERENCIAS	33

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Compuestos de origen fúngico de importancia terapéutica.	7
Figura 2. Ejemplos selectos de triterpenoides aislados de <i>G. lucidum</i> .	8
Figura 3. Ejemplos de hongos corticiales.	9
Figura 4. <i>Punctularia atropurpurascens</i> sobre corteza de árbol.	10
Figura 5. Compuestos aislados de las especies <i>P. atropurpurascens</i> y <i>P. strigosozonata</i> .	10
Figura 6. Cromatograma del fraccionamiento primario del extracto 01003-083-1. Detección: PDA (amarillo) y ELSD (verde).	13
Figura 7. Cromatogramas de la fracción primaria 01003-128-6 por HPLC a nivel analítico (A , UV λ 254 nm y B , ELSD) y preparativo (C , UV λ 254 nm).	14
Figura 8. Cromatogramas de la fracción primaria 01003-128-11 por HPLC a nivel analítico (A , UV λ 254 nm y B , ELSD) y preparativo (C , UV λ 254 nm).	15
Figura 9. Hongo <i>P. atropurpurascens</i> en el ambiente natural en la alcaldía Tlalpan, CDMX, México (A) y en cultivo en APD (B).	17
Figura 10. Árbol filogenético de la especie <i>P. atropurpurascens</i> .	18
Figura 11. Cromatograma (PDA λ 190-400 nm) y espectros de UV (A) y de masas ESI ⁺ (B) de la <i>N</i> -fenetilacetamida (1).	19
Figura 12. Espectro de RMN ¹ H de la <i>N</i> -fenetilacetamida (1) (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600 MHz).	20
Figura 13. Espectro de RMN ¹³ C de la <i>N</i> -fenetilacetamida (1) (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150 MHz).	20
Figura 14. Cromatograma (PDA λ 190-400 nm) y espectros de UV(A) y de masas ESI ⁺ (B) de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2).	21
Figura 15. Espectro de RMN ¹ H de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2) (CDCl ₃ , 400 MHz).	22
Figura 16. Espectro de RMN ¹³ C de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2) (CDCl ₃ , 100 MHz).	23
Figura 17. Espectro HSQC de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2) (CDCl ₃ , 400 MHz).	23
Figura 18. Estructura de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2) y la isodrimenina.	24
Figura 19. Espectro COSY de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2) (CDCl ₃ , 400 MHz).	25
Figura 20. Espectro HMBC de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2) (CDCl ₃ , 400 MHz).	25
Figura 21. Estructura por rayos X de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2).	26
Figura 22. Cromatograma (PDA λ 190-400 nm) y espectros de UV (A) y de masas ESI ⁺ (B) del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3).	26
Figura 23. Espectro de RMN ¹ H del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3) (CD ₃ OD, 500 MHz).	28
Figura 24. Espectro de RMN ¹³ C del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3) (CD ₃ OD, 125 MHz).	28
Figura 25. Espectro HSQC del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3) (CD ₃ OD, 500 MHz).	29
Figura 26. Espectro COSY del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3) (CD ₃ OD, 500 MHz).	29
Figura 27. Espectro HMBC del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3) (CD ₃ OD, 500 MHz).	30
Figura 28. Estructura del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3) y del phlebiokauranol.	30
Figura 29. Estructura por rayos X del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3).	30

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Datos de RMN de la <i>N</i> -fenetilacetamida (1) en DMSO- <i>d</i> ₆ (¹ H, 600 MHz; ¹³ C, 150 MHz).	21
Tabla 2. Datos de RMN de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (2) en CDCl ₃ (¹ H, 400 MHz; ¹³ C, 100 MHz).	24
Tabla 3. Datos de RMN del 16-hidroxi-phlebia- <i>nor</i> -kauranol (3) en CD ₃ OD (¹ H, 500 MHz; ¹³ C, 125 MHz).	31

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Resultados del fraccionamiento primario del extracto orgánico 01003-083-1 de <i>P. atropurpurascens</i> .	13

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
Å	Angstrom	MHz	Megahertz
CDCl ₃	Cloroformo deuterado	mg	Miligramo
CD ₃ OD	Metanol deuterado	min	Minuto
CHCl ₃	Cloroformo	mL	Mililitro
CH ₃ OH	Metanol	PDA	Detector de arreglo de fotodiodos
CH ₃ CN	Acetonitrilo	APD	Agar papa dextrosa
COSY	Espectroscopía de correlación homonuclear	PDB	Caldo papa dextrosa
DMSO	Dimetilsulfóxido	ppm	Partes por millón
ELSD	Detector evaporativo de dispersión de luz	RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
HMBC	Correlación heteronuclear de múltiples enlaces	RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta eficiencia	rpm	Revoluciones por minuto
HRESIMS-MS/MS	Espectrometría de masas de alta resolución por la técnica de electroespray-masas/masas	UPLC	Cromatografía de líquidos de ultraeficiencia
HSQC	Espectroscopía de correlación heteronuclear	UV-Vis	Espectroscopía en el Ultravioleta-Visible
K	Grados Kelvin	λ	Longitud de onda

1. ANTECEDENTES

1.1 Hongos y sus metabolitos de importancia terapéutica e industrial.

A lo largo del tiempo, la humanidad ha utilizado los productos naturales aislados a partir de diferentes fuentes para tratar diversas enfermedades y para cubrir o atender necesidades alimenticias y/o de la vida cotidiana (Dias *et al.*, 2012). En este contexto, una fuente prominente de estos productos son los hongos. Numerosas especies del megadiverso reino Fungi han sido ampliamente investigadas con fines terapéuticos, obteniéndose numerosos productos con actividad inmunomoduladora, antiinflamatoria, antiviral, antibiótica, antioxidante y citotóxica, por mencionar las más relevantes (Vieira *et al.*, 2019). Por otra parte, la diversidad química que ofrecen los hongos evidenciada en las distintas clases de metabolitos aislados de éstos, como son alcaloides, ácidos orgánicos, terpenoides, péptidos, esteroides, entre otros, los convierte en una fuente inagotable para el descubrimiento de nuevas entidades químicas. A la fecha, algunos de estos productos son ampliamente utilizados en la industria y en la terapéutica, y su descubrimiento ha pasado a la historia como un logro sustancial para la humanidad, tal es el caso de los antibióticos penicilina y el ácido fusídico, el antifúngico griseofulvina y el agente inmunosupresor ciclosporina (**Figura 1**).

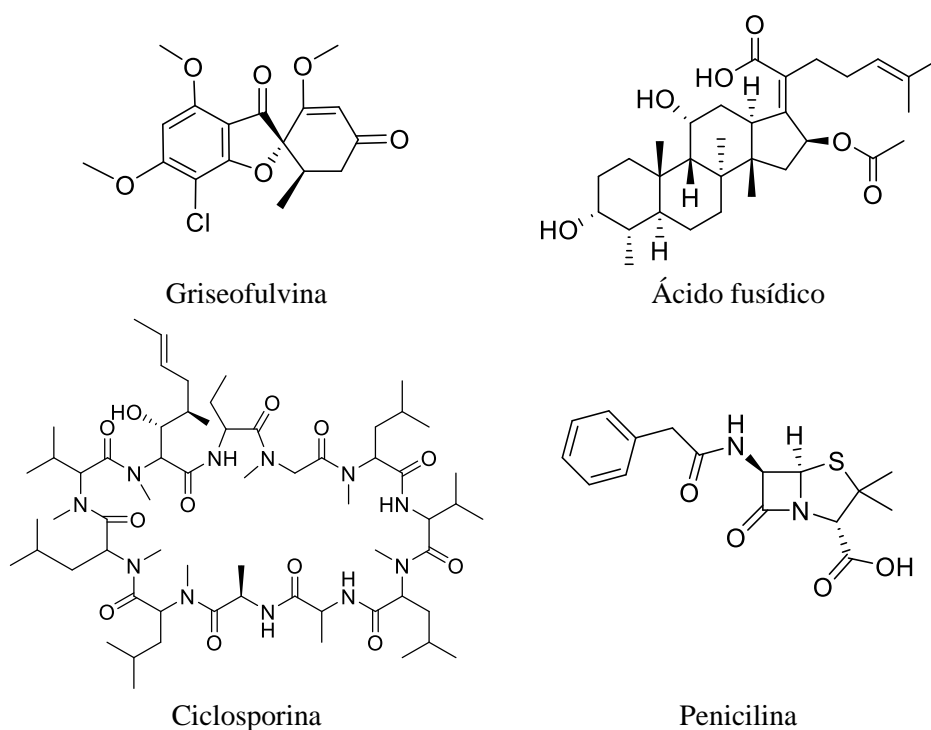


Figura 1. Compuestos de origen fúngico de importancia terapéutica.

Se estima que nuestro país alberga el 10% de la diversidad terrestre total del planeta. En este sentido, de las 2.8-5 millones de especies fúngicas estimadas en el mundo, aproximadamente 100,000 especies de hongos se encuentran en nuestro país, y de éstas, solo 6% se han aisladas y descritas taxonómicamente. En este panorama, México alberga un reservorio importante de organismos fúngicos posiblemente novedosos, tanto macroscópicos como microscópicos, para realizar estudios de bioprospección, en particular aquellos presentes en ambientes inexplorados (Aguirre-Acosta *et al.*, 2014).

1.2 Basidiomicetos y su importancia como productos naturales.

Dentro del reino de los hongos, los basidiomicetos son el segundo filo más diverso solo por debajo de los ascomicetos, con más de 31,000 especies descritas a la fecha. Estos organismos son de gran utilidad en los ecosistemas a distintos niveles, aunque su principal función es la de degradar materia en descomposición, como la lignina de los árboles (Peralta *et al.*, 2017). Durante miles de años, numerosas especies de basidiomicetos han sido empleadas, principalmente en la Medicina Tradicional China, para el tratamiento de enfermedades (Yang *et al.*, 2019). Una de las más socorridas para estos fines es la especie *Ganoderma lucidum*, conocida popularmente como “reishi” o “pipa”, y que ha sido objeto de numerosos estudios por sus propiedades antitumorales e inmunomoduladoras. A la fecha se han identificado más de 200 triterpenos en los cuerpos fructíferos, esporas y micelio de *G. lucidum* (Xia *et al.*, 2014; Baby *et al.*, 2015), incluyendo al ácido ganodérico, el ganoderiol, la ganoderona, la ganolactona y el ganoderal (**Figura 2**). Otros basidiomicetos de gran relevancia son *Pleurotus ostreatus* y *Psilocybe mexicana*, productores del hipocolesterolemia lovastatina y el antidepresivo/alucinógeno psilocibina.

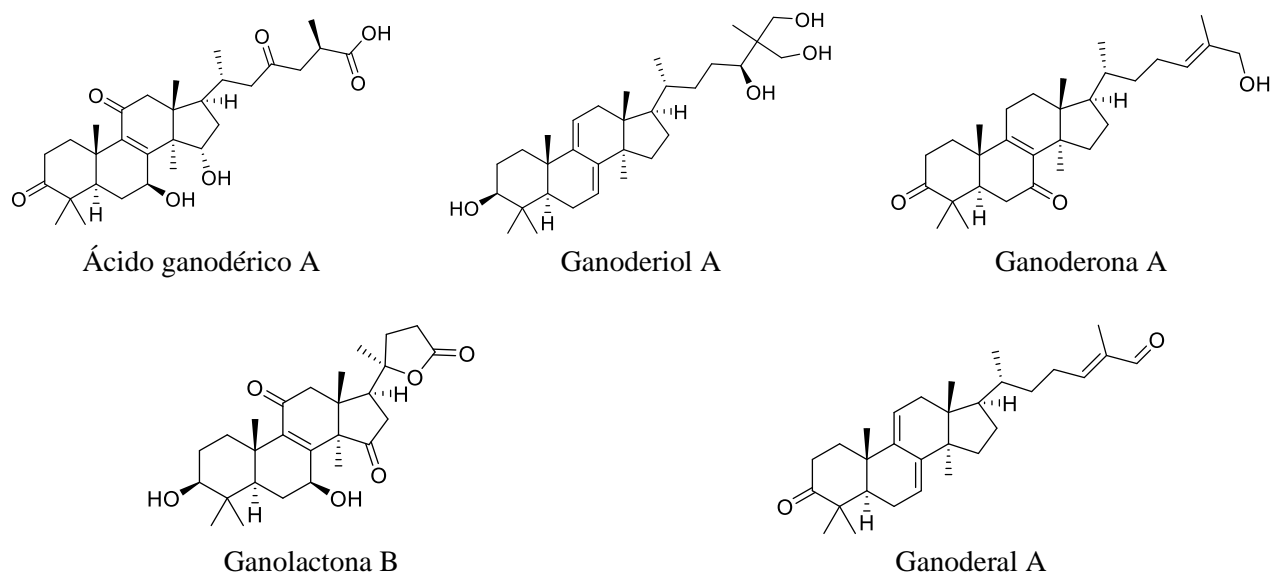


Figura 2. Ejemplos selectos de triterpenoides aislados de *G. lucidum*.

1.3 Hongos del orden Corticiales.

El orden Corticiales contiene alrededor de 150 especies de hongos, principalmente basidiomicetos, agrupados en las familias Corticiaceae, Punctulariaceae y Vuilleminiaceae (Kirk *et al.*, 2008). En general estos organismos presentan como principal característica la formación de placas similares a un líquen sobre la materia que saprofitan o parasitan. Algunas especies de interés son *Erythricium salmonicolor* y *Phanerochaete salmonicolor*, hongos corticiales causantes del mal rosado en varios cítricos, cafetales, hule y acacia (Sebastianes *et al.*, 2007); y *Rhizoctonia zae*, patógeno del maíz y la caña en Brasil y Argentina (Gutiérrez *et al.*, 2007) (**Figura 3**). La gran dificultad que representa el trabajo con este tipo de organismos para su uso clínico o industrial, además de su crecimiento limitado en medios de cultivo tradicionales, es su naturaleza, ya que son dependientes de otros organismos con los que establecen interacciones específicas en su hábitat natural.

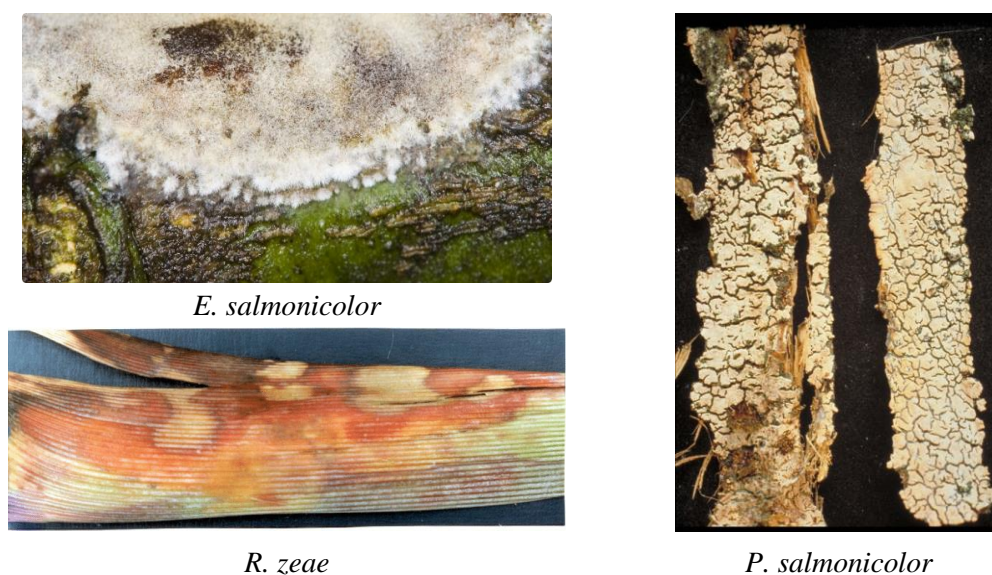


Figura 3. Ejemplos de hongos corticiales (fotografías de <http://www.indexfungorum.org>).

1.4 *Punctularia atropurpurascens* (Berk. & Broome) Petch (Punctulariaceae).

Punctularia atropurpurascens (Berk. & Broome) Petch (Punctulariaceae) es un basidiomiceto del orden de los Corticiales con apariencia violeta-café que forma colonias suaves, cremosas y con apariencia pulverulenta (Martini, 2016; Knijn *et al.*, 2019) (**Figura 4**). Este hongo saprofito crece en la superficie de madera en descomposición, principalmente especies de encino (*Quercus*), y exuda una sustancia violeta translúcida. Tiene hifas septadas con ramificaciones y conidios elípticos (Knijn *et al.*, 2019). La especie tiene como sinonimias *P. subhepatica*, *Thelophora atropurpurascens* y *Derdrocorticium brasiliense* (Liu *et al.*, 2018; Index Fungorum, 2021), y una de sus características importantes es que puede proliferar en medios de cultivo de laboratorio.



Figura 4. *Punctularia atropurpurascens* sobre corteza de árbol (fotografía tomada por Michael Wood para MykoWeb).

Cabe destacar que este hongo no ha sido extensamente estudiado, y los estudios químicos realizados sobre especies del género, *P. atropurpurascens* y *P. strigosozonata*, describen el aislamiento de diterpenodes de tipo kaurano derivados del phlebiakauranol, y de *p*-terfenilquinonas de tipo phlebiarubrona (**Figura 5**). Estas últimas son responsables de la pigmentación característica de estas especies, y otros, como el ácido polipórico y los derivados aldehído y alcohol del phlebiakauranol, han mostrado actividad citotóxica y antibacteriana (Valeria *et al.*, 2003; Anke *et al.*, 1987).

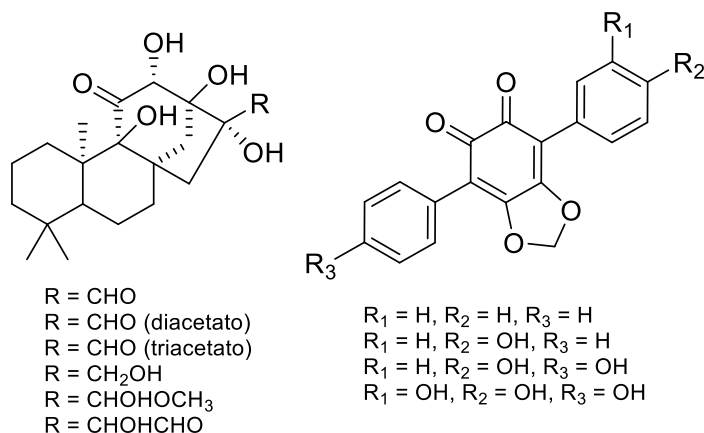


Figura 5. Compuestos aislados de las especies *P. atropurpurascens* y *P. strigosozonata*.

Con base en las consideraciones anteriores, y como parte de un estudio sistemático de hongos de la biodiversidad de nuestro país como fuentes potenciales de nuevas entidades químicas o agentes antimicrobianos, en este trabajo se realizó la investigación química preliminar de una cepa de *P. atropurpurascens* de nuestro país.

2. OBJETIVOS

El objetivo general de la presente disertación fue realizar la investigación química de la especie *P. atropurpurascens* con la finalidad de aislar e identificar algunos de los compuestos mayoritarios presentes en el extracto orgánico.

Para el cumplimiento de este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos particulares:

1. Realizar la revisión bibliográfica de las propiedades químicas y biológicas de la especie *P. atropurpurascens* en las bases de datos especializadas.
2. Aislar en forma axénica a partir de la fuente natural al organismo fúngico objeto de estudio y establecer su identidad mediante métodos moleculares.
3. Cultivar al microorganismo en un medio de crecimiento sólido.
4. Preparar el extracto orgánico a partir del cultivo sólido mediante las técnicas de maceración y reparto.
5. Realizar el fraccionamiento preliminar del extracto orgánico y separar los constituyentes mayoritarios mediante las técnicas cromatográficas de vanguardia.
6. Establecer la naturaleza química de los principios aislados aplicando técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

3. METODOLOGÍA

3.1 Aislamiento, acondicionamiento y preparación del cultivo fúngico.

A partir de una muestra de madera recolectada en el Bosque de Tlalpan en la CDMX por el Biol. Abraham Josué Medina Ortiz del Instituto de Biología, UNAM, se realizó el aislamiento del hongo *P. atropurpurascens* mediante su siembra por picadura en cajas de Petri con medio agar papa dextrosa (APD) suplementadas con antibióticos (Fajardo Hernández, 2016). Una vez observado crecimiento, se realizaron transferencias sucesivas en cajas de Petri frescas con medio APD con y sin antibióticos hasta obtener el cultivo axénico y uniforme. Posteriormente se prepararon inóculos de este hongo en 15 mL de medio líquido YESD (peptona de soya 2%, dextrosa 2% y extracto de levadura 1%) en tubos Falcon de 50 mL, los cuales se mantuvieron a temperatura ambiente y en agitación (100 rpm) por 7 días. Al cabo de este periodo, los cultivos se vertieron sobre 10 matraces Erlenmeyer de 250 mL con medio de arroz (15 g de arroz y 30 mL de agua), y se dejaron crecer de forma estática por 21 días a temperatura ambiente con fotoperiodos de luz oscuridad 12/12 horas (Fajardo Hernández, 2016).

3.2. Identificación molecular de la especie fúngica.

La especie objeto de estudio se identificó mediante el alineamiento de las secuencias de tipo local (BLAST) de los espaciadores de transcripción internos (ITS) ITS1 e ITS4 del ADN ribosomal, reconocidos como marcadores moleculares, con las contenidas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Esta actividad fue realizada en colaboración con el Dr. Huzefa A. Raja de la Universidad de Carolina del Norte en Greensboro (UNCG), Greensboro, Carolina del Norte, EEUU.

3.3. Obtención del extracto orgánico.

Una vez transcurrido el período de crecimiento del organismo fúngico en el medio de arroz, se realizó la extracción de los componentes del cultivo mediante una maceración con CHCl_3 -MeOH (1:1; 60 mL por matraz), a temperatura ambiente y en agitación constante (100 rpm) por un periodo de 8 h. Todos los matraces se reunieron y la mezcla resultante (biomasa, arroz y extracto) se filtró al vacío. Al filtrado se adicionaron 600 mL de H_2O y 400 mL de CHCl_3 y la mezcla se mantuvo en agitación constante por 30 min. Posteriormente, la fase orgánica se separó en un embudo de separación y llevó a sequedad a presión reducida en un rotaevaporador. La fracción resultante se resuspendió en 300 mL de CH_3CN -MeOH (1:1) y se realizó un proceso de desgrase por reparto utilizando hexano (300 mL \times 2). La fracción de CH_3CN -MeOH se evaporó a sequedad obteniéndose 1259.3 mg de extracto identificado con la clave interna 01003-083-1.

3.4 Fraccionamiento primario del extracto orgánico 01003-083-1.

El extracto obtenido en el inciso anterior (1168.4 mg) fue fraccionado mediante una cromatografía en columna tipo Flash en un equipo CombiFlash® Lumen Rf+ (Teledyne), equipado con los detectores de arreglo de fotodiodos (PDA; UV λ 200-400 nm) y de dispersión de luz evaporativo (ELSD), sobre una columna preempacada con 40 g de gel de sílice Gold® (Teledyne). El proceso de elución se efectuó en un sistema compuesto por mezclas entre hexano-CHCl₃-MeOH y con un flujo de 40 mL/min. Este proceso cromatográfico permitió la obtención de 14 conjuntos de fracciones primarias las cuales fueron reunidas con base en los perfiles de UV y de ELSD (**Cuadro 1** y **Figura 6**).

Cuadro 1. Resultados del fraccionamiento primario del extracto orgánico 01003-083-1 de *P. atropurpurascens*.

Fracciones	Clave	Cantidad (mg)	Fracciones	Clave	Cantidad (mg)
1–22	01003-128-1	4.9	94–96	01003-128-9	91.9
23–30	01003-128-2	42.0	97	01003-128-10	17.2
31–37	01003-128-3	517.9	98–99	01003-128-11	27.2
38–47	01003-128-4	278.9	100–101	01003-128-12	17.7
48–52	01003-128-5	9.5	102–109	01003-128-13	67.6
53–67	01003-128-6	29.4	110–122	01003-128-14	16.1
68–90	01003-128-7	28.5		Total	1225.6
91–93	01003-128-8	76.8		% Rendimiento	104.9

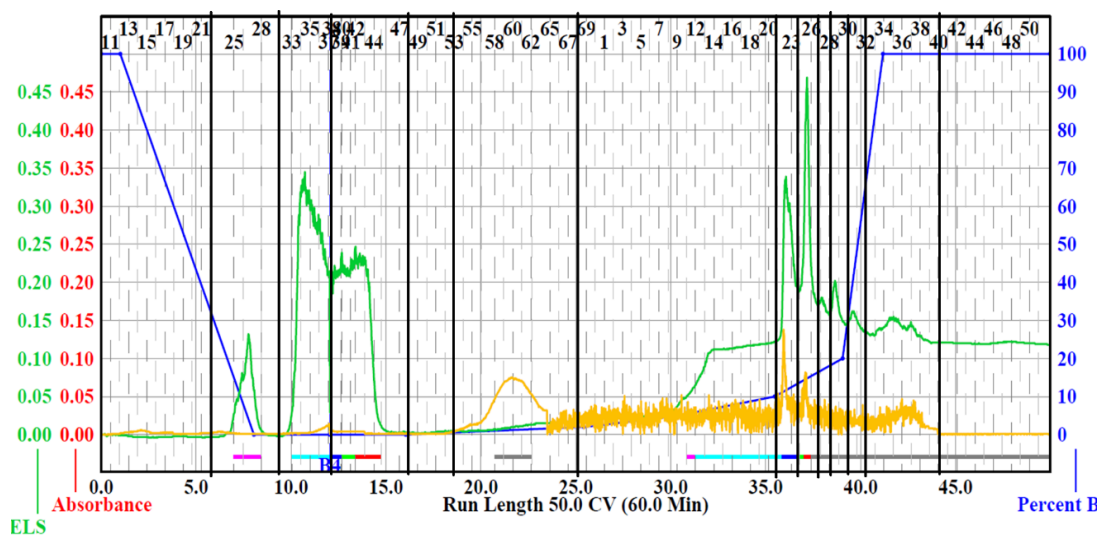


Figura 6. Cromatograma del fraccionamiento primario del extracto 01003-083-1. Detección: PDA (amarillo) y ELSD (verde).

3.5 Aislamiento y purificación de los metabolitos presentes en las fracciones 01003-128-6 y 01003-128-11.

Todas las fracciones primarias obtenidas en el inciso anterior se analizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (HPLC; Waters) equipado con los detectores PDA y ELSD, con la finalidad de establecer su complejidad cromatográfica preliminar. La columna empleada fue una Gemini C₁₈ (5 μm, 250 × 4.6 mm; Phenomenex®) y la fase móvil se compuso entre mezclas de CH₃CN (A) y H₂O (0.1% ácido fórmico) (B), desde 30% a 100% de (A) en 15 min, a un flujo 1 mL/min, en un sistema de gradiente lineal. De éstas, las fracciones con clave 01003-128-6 (29.4 mg; **Figura 7**) y 01003-128-11 (27.2 mg; **Figura 8**) se seleccionaron para la separación de algunos de sus constituyentes. Dicha separación se realizó por la misma técnica de HPLC pero a nivel preparativo empleando una columna Gemini C₁₈ (5 μm, 250 × 21.2 mm) y una fase móvil en gradiente lineal compuesta por mezclas entre CH₃CN (A) y H₂O (0.1% ácido fórmico) (B), desde 30% a 100% de (A) en 15 min y con flujo de 21.24 mL/min (**Figuras 7C y 8C**). Así, de la fracción 01003-128-6 se obtuvieron los compuestos **1** (2.9 mg; *t_R* 7.50 min) y **2** (1.1 mg; *t_R* 17.5 min), y de la 01003-128-11 al compuesto **3** (4.3 mg; *t_R* 14.5 min).

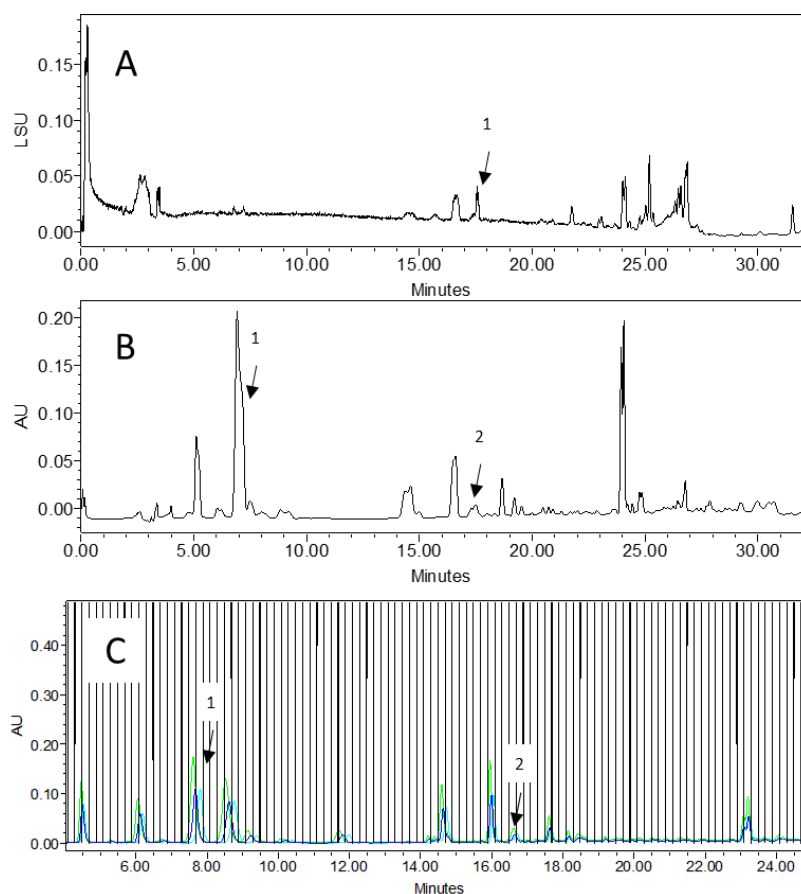


Figura 7. Cromatogramas de la fracción primaria 01003-128-6 por HPLC a nivel analítico (**A**, UV λ 254 nm y **B**, ELSD) y preparativo (**C**, UV λ 254 nm).

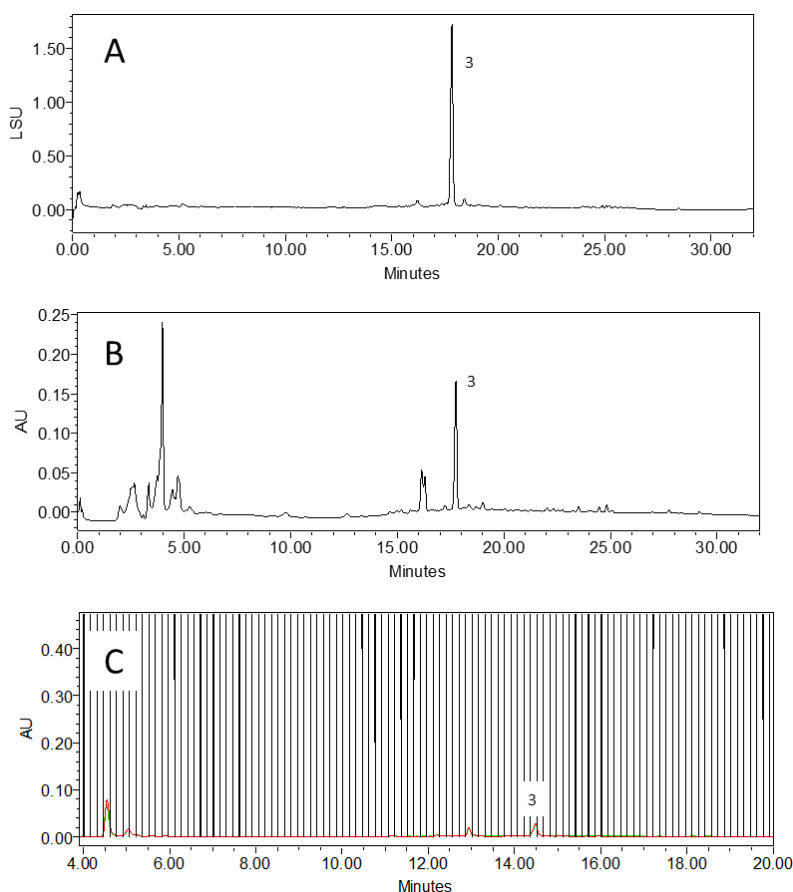


Figura 8. Cromatogramas de la fracción primaria 01003-128-11 por HPLC a nivel analítico (**A**, UV λ 254 nm y **B**, ELSD) y preparativo (**C**, UV λ 254 nm).

3.6 Caracterización estructural de los compuestos 1-3.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C y bidimensionales (COSY, HSQC y HMBC) se registraron en los equipos Varian VNMRS 400 y 500 (400 y 500 MHz) o JEOL ECA 600 (600 MHz), en la UNCG y en la Unidad de Servicios Analíticos para la Investigación y la Industria (USAI), FQ, UNAM. Los disolventes empleados fueron CD_3OD , CDCl_3 o $\text{DMSO}-d_6$. Por otra parte, los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas de alta resolución de ionización por electroespray (HRESIMS; Q-Exactive, ThermoFisher Scientific) en la UNCG, o uno de baja resolución por electroespray de cuadrupolo simple (ESIMS) (SQD, Waters) en el laboratorio 124 de la FQ, UNAM, ambos en los modos positivo (ESI^+) y negativo (ESI^-). Para estos análisis las muestras se introdujeron a través de un cromatógrafo de líquidos de ultra eficiencia (UPLC; Acquity Waters) equipado con un detector PDA (UV λ 190-500 nm) y una columna Acquity BEH Shield C-18 (1.7 μm , 2.1 \times 50 mm, 0.3 mL/min; Waters) (Fajardo Hernández, 2016).

En el caso de los compuestos **2** y **3**, se observó la formación de cristales durante su purificación, por lo que se sometieron a un análisis por rayos X en un difractómetro SuperNova equipado con un detector Atlas con radiación de Cu K α ($\lambda=1.54178$ Å) a 100(2) K. Las estructuras fueron resueltas con los programas SHELX-97, SHELX-2013 o SHELX-2014 y refinadas sobre F², Las correcciones numéricas de absorción se realizaron con base en un modelo cristalino multifacético con el programa CrysAlisPro. Esta actividad fue realizada en colaboración con los Dres. Shabnam Hematian y Firoz Khan de la UNCG.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Investigación química de *P. atropurpurascens*.

La presente investigación se desarrolló como parte de un proyecto enfocado al descubrimiento de nuevas entidades químicas a partir de especies fúngicas selectas. La especie estudiada *P. atropurpurascens*, es un organismo saprófito que crece en la superficie de madera en descomposición y se caracteriza por exudar una sustancia violeta translúcida (**Figura 9A**). Dicho organismo fue aislado a partir de una muestra de madera recolectada en el Bosque de Tlalpan en la CDMX. Los estudios químicos sobre esta especie, y en general sobre el género *Punctularia*, son limitados (Anke *et al.*, 1987; Valeria *et al.*, 2003), además no se ha descrito previamente ningún aislamiento de nuestro país. Así, a partir del aislamiento de *P. atropurpurascens* (**Figura 9B**) se preparó un cultivo en medio sólido y se obtuvo su correspondiente extracto orgánico. El estudio químico de este extracto mediante procesos cromatográficos permitió la obtención de tres productos naturales, el conocido *N*-fenetilacetamida (**1**) y los novedosos 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**) y 16-hidroxi-phlebia-norkauranol (**3**). Por otra parte, la identificación molecular de la especie se realizó mediante el análisis de su secuencia de ITS, y permitió confirmar su identidad como *P. atropurpurascens* (Corticiaceae) (**Figura 10**).

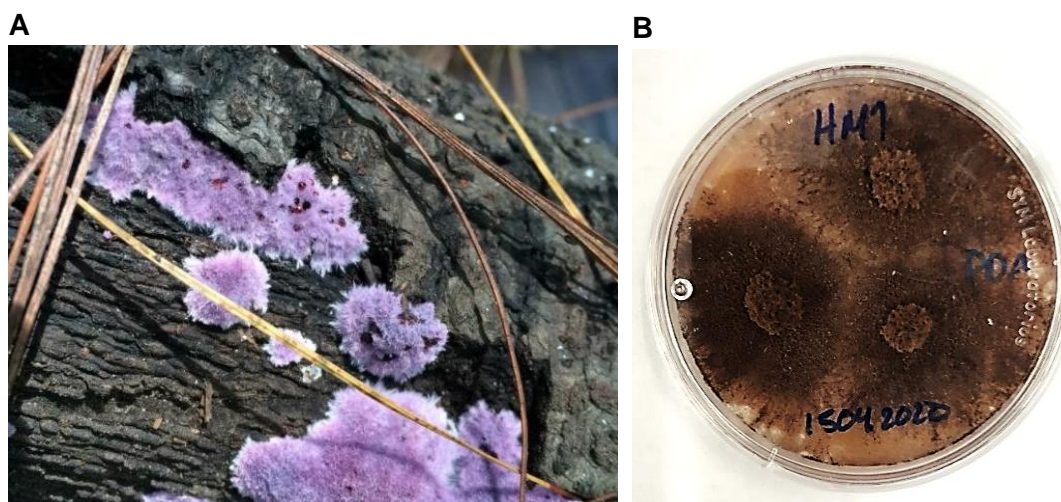


Figura 9. Hongo *P. atropurpurascens* en el ambiente natural en la alcaldía Tlalpan, CDMX, México (**A**) y en cultivo en APD (**B**).

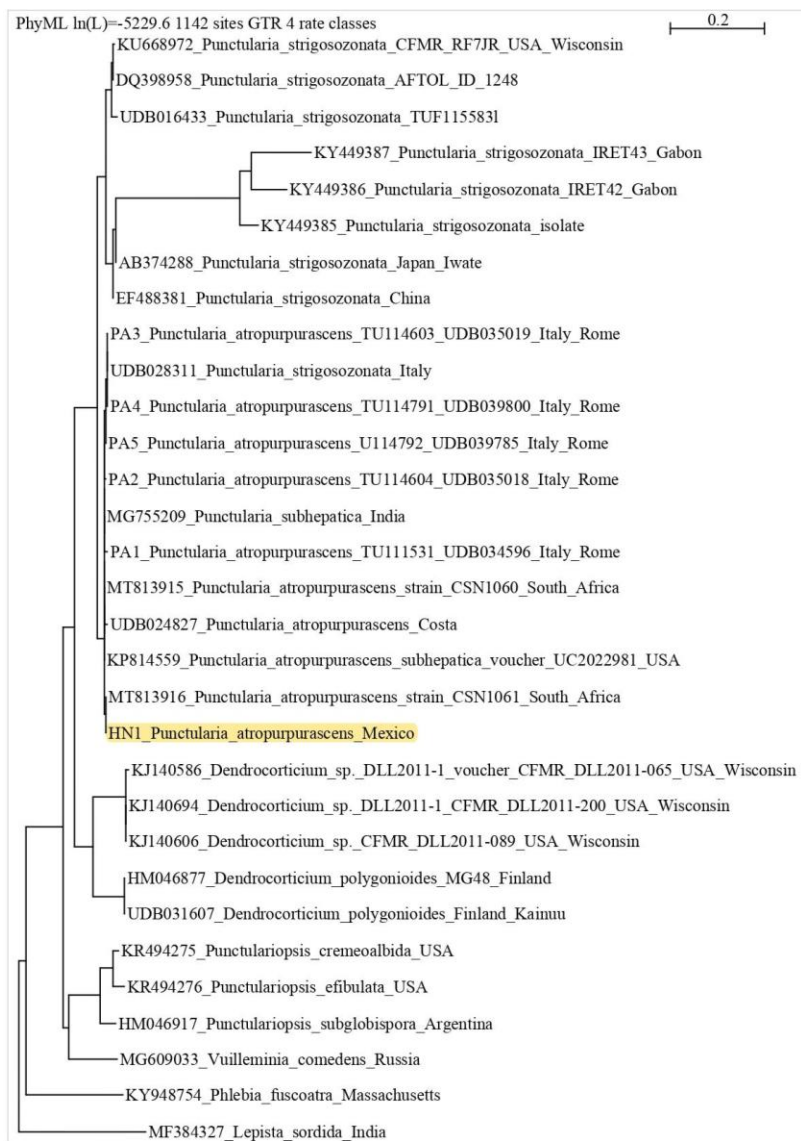


Figura 10. Árbol filogenético de la especie *P. atropurpurascens*.

4.2 Caracterización estructural la *N*-fenetilacetamida (1).

El compuesto **1** se aisló como un sólido blanco. En el espectro de masas (**Figura 11**) se observaron los iones molecular y el aducto con sodio en una relación masa-carga (m/z) de 164.7 $[M+H]^+$ y 186.6 $[M+Na]^+$, respectivamente, lo que permitió calcular la fórmula molecular del compuesto como $C_{10}H_{13}NO$. En el espectro de RMN 1H (**Figura 12**) se observaron dos señales a campos bajos, una triple en δ_H 7.20 ($J=7.3$ Hz, 2H) y una múltiple en δ_H 7.15 (3H), asignables a los protones de un anillo aromático monosustituido. En δ_H 7.88 (1H) se observó una señal simple y ancha que, por el desplazamiento químico, corresponde al protón de un grupo amina (NH). Finalmente, en δ_H 3.22 (td, $J=6.8$ Hz, 2H) y 2.65 (t, $J=7.6$ Hz, 2H) se observaron dos señales atribuibles a dos metilenos de un residuo etilo, y en δ_H

1.74 (3H) una señal simple para un metilo de un acetilo (**Tabla 1**). Por otra parte, el espectro de RMN ^{13}C (**Figura 13**) observaron señales características para un metilo de un acetato (δ_c 23.1), dos metilenos (δ_c 35.7 y 40.7), cinco metinos aromáticos (δ_c 126.6, 128.8 y 129.1), un carbono cuaternario aromático (δ_c 140.1) y un carbonilo de amida (δ_c 169.7) (**Tabla 1**). Todas las señales antes descritas fueron congruentes lo descrito en la literatura para la *N*-fenetilacetamida (**1**).

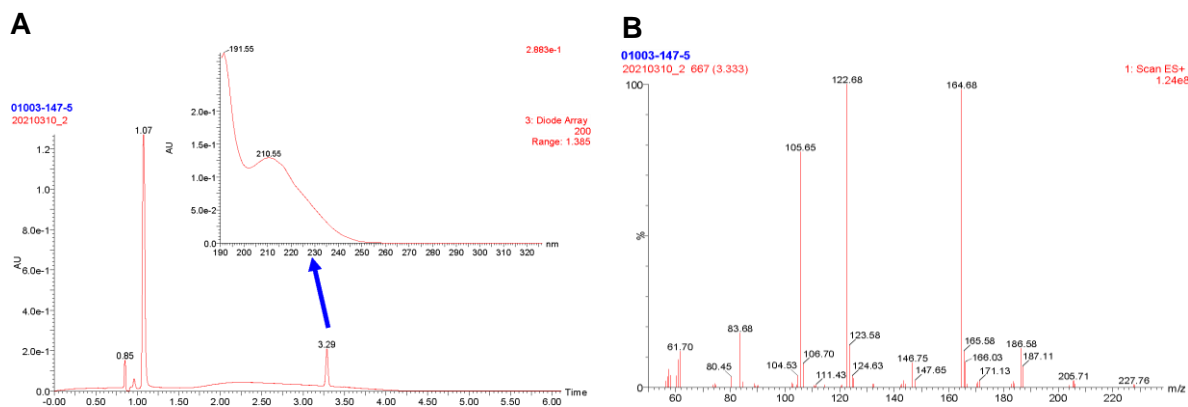


Figura 11. Cromatograma (PDA λ 190-400 nm) y espectros de UV (**A**) y de masas ESI⁺ (**B**) de la *N*-fenetilacetamida (**1**).

La *N*-fenetilacetamida (**1**) ha sido aislada del hongo endófito Y26-02 de *Clerodentrum inerme* (Wu *et al.*, 2009), el ascomiceto *Tricladium* sp. GU288817 (Zou *et al.*, 2011) y el basidiomiceto comestible *Grifola frondosa* (Chen *et al.*, 2018); las bacterias *Streptomyces* sp. Lz53 (Maskey *et al.*, 2003), *Bacillus subtilis* (Han *et al.*, 2009) y *B. thuringiensis* (Vaca *et al.*, 2020); la planta acuática *Gracilaria lemaneiformis* (Lu *et al.*, 2011); y de las algas rojas *Phyllophora crispa* y *Gelidium crinale* (Güven *et al.*, 2010). Cabe mencionar que este producto mostró propiedades alelopáticas contra el alga *Skeletonema costatum* (Lu *et al.*, 2011); antibacterianas contra *E. coli*, *V. cholerae* y *P. aeruginosa* (7, 7 y 8 mm de inhibición en los ensayos de difusión en disco a 750 $\mu\text{g}/\text{disco}$); y antifúngicas contra *F. oxysporum*, *Alternaria* sp. y *M. roleri* (43, 39 y 26 % de inhibición del crecimiento a 1 mg/mL) (Vaca *et al.*, 2020). A la fecha, este producto no ha sido descrito en la literatura como constituyente de alguna especie de *Punctularia*, por lo que su descubrimiento en esta especie es una contribución novedosa de la química del género.

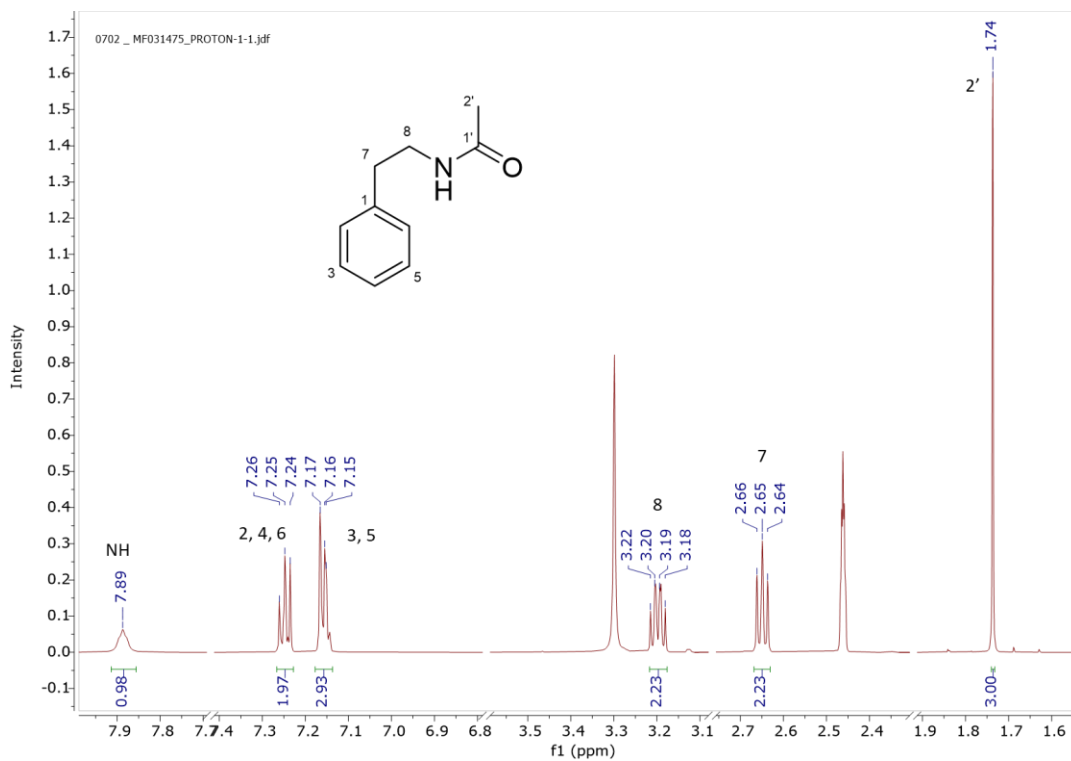


Figura 12. Espectro de RMN ^1H de la *N*-fenetilacetamida (**1**) (DMSO- d_6 , 600 MHz).

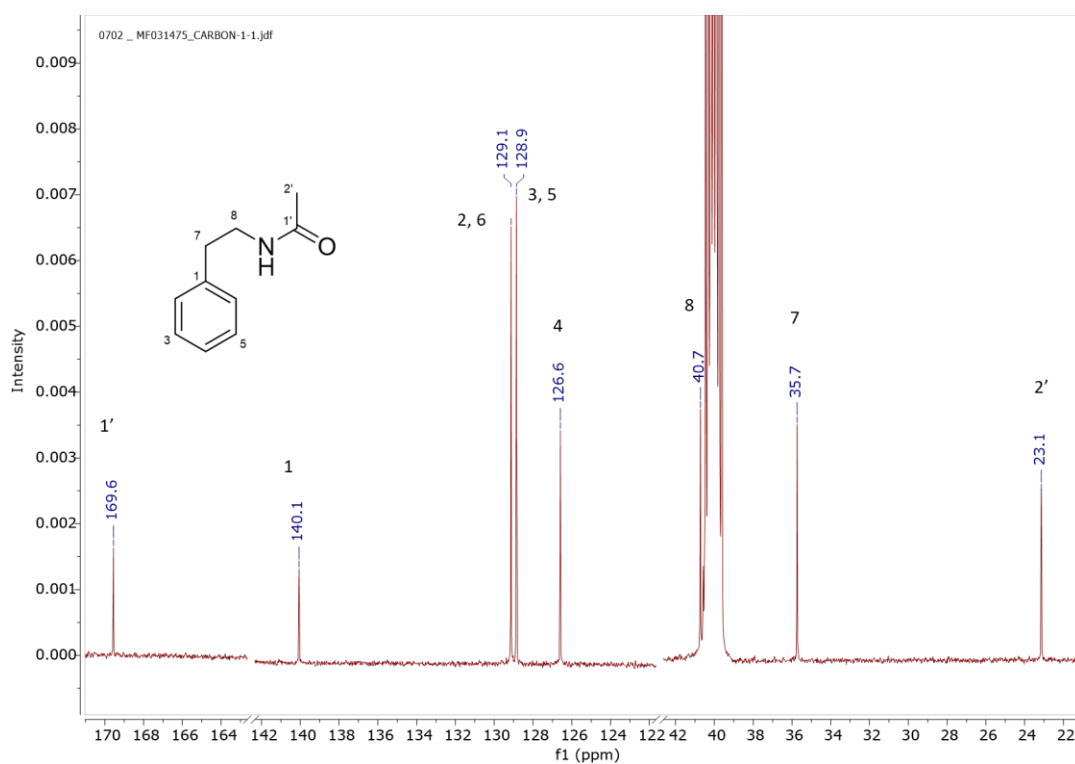


Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C de la *N*-fenetilacetamida (**1**) (DMSO- d_6 , 150 MHz).

Tabla 1. Datos de RMN de la *N*-fenetilacetamida (**1**) en DMSO-*d*₆ (¹H, 600 MHz; ¹³C, 150 MHz).

Posición	1		<i>N</i> -fenetilacetamida*	
	δ_C , tipo de C	δ_H , mult. (<i>J</i> en Hz)	δ_C , tipo de C	δ_H , mult. (<i>J</i> en Hz)
1	140.1 C	-	139.0 C	-
2	129.1 CH	7.20, t (7.3)	128.8 CH	7.32, t
3	128.9 CH	7.15, m	128.9 CH	7.20, m
4	126.6 CH	7.15, m	126.7 CH	7.20, m
5	128.9 CH	7.15, m	128.9 CH	7.20, m
6	129.1 CH	7.20, t (7.3)	128.8 CH	7.32, t
7	35.7 CH ₂	2.65, t (7.6)	35.8 CH ₂	2.82, t (7.0)
8	40.7 CH ₂	3.22, q (6.8)	40.8 CH ₂	3.52, q (7.0)
NH	- -	7.88, s	- -	5.46, s
1'	169.6 C	-	170.1 C	-
2'	23.1 CH ₃	1.74, s	23.5 CH ₃	1.94, s

* Vaca *et al.*, 2020.

4.3 Caracterización estructural de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**).

El compuesto **2** se obtuvo como un sólido cristalino. El análisis del espectro de HRESIMS permitió establecer su fórmula molecular como C₁₅H₂₂O₃, con base en el ion molecular en *m/z* 251.1639 [M+H]⁺ (calc. para *m/z* 251.1642, -1.2 ppm) y que permite 5 grados de insaturación (IDH) (**Figura 14**). En este espectro se observan también las pérdida de una molécula de H₂O ([M-18]⁺) y el aducto con sodio [M+Na]⁺ a partir de ion molecular

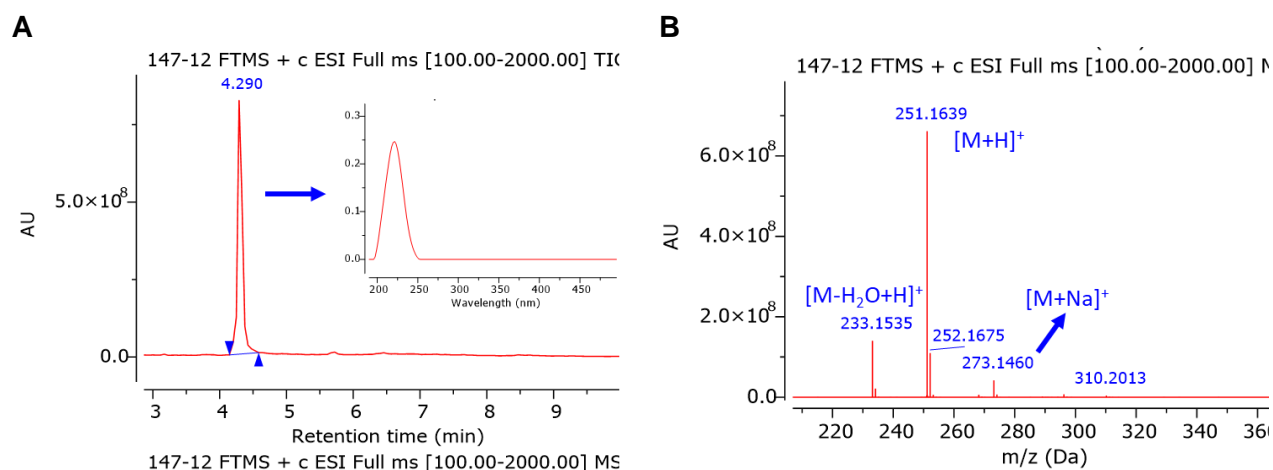


Figura 14. Cromatograma (PDA λ 190-400 nm) y espectros de UV(A) y de masas ESI⁺ (B) de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**).

En el espectro de RMN ¹H (**Figura 15**) se observaron dos señales asignables para un grupo metino y un metileno en δ_H 4.62 (sa) y δ_H 4.59 (d, *J*=16.8 Hz), respectivamente; cuatro

señales múltiples en δ_H 1.23–2.36 atribuibles a metilenos, y tres singuletes en δ_H 1.12, 0.96 y 0.89 característicos de grupos metilo. En el espectro de RMN ^{13}C (**Figura 16**) se observaron las señales para 15 átomos de carbono, y con el apoyo del espectro HSQC (**Figura 17**), se logró su asignación como tres metilos, cinco metilenos, dos metinos y cinco cuaternarios (**Tabla 2**). Las señales antes detalladas mostraron una importante similitud con las descritas para el sesquiterpeno con núcleo drimano isodrimenina (**Figura 18**) (Mauris *et al.*, 1999 y referencias ahí citadas; Hueso-Rodríguez *et al.*, 1989). Sin embargo, el compuesto **2** tiene un metino más y un metileno menos que la isodrimenina. Cabe señalar que el hidrógeno en δ_H 4.62 mostró una correlación en el espectro HSQC con la absorción en δ_C 69.3, lo que indica la presencia de una función carbinólica secundaria. La diferencia de 16 uma observada en el espectro de masas entre **2** con respecto a la isodrimenina, permitió confirmar la presencia de dicha función, cuya ubicación en la posición C-1 se dedujo con base en los cuadros de conectividad observados para los protones H-1, H-2 y H-3 en el espectro COSY (**Figura 19**) y en las correlaciones en el espectro HMBC entre C-9 y H-7, H-11 y H-15, y C-8 y H-7 y H-11 (**Figura 20**).

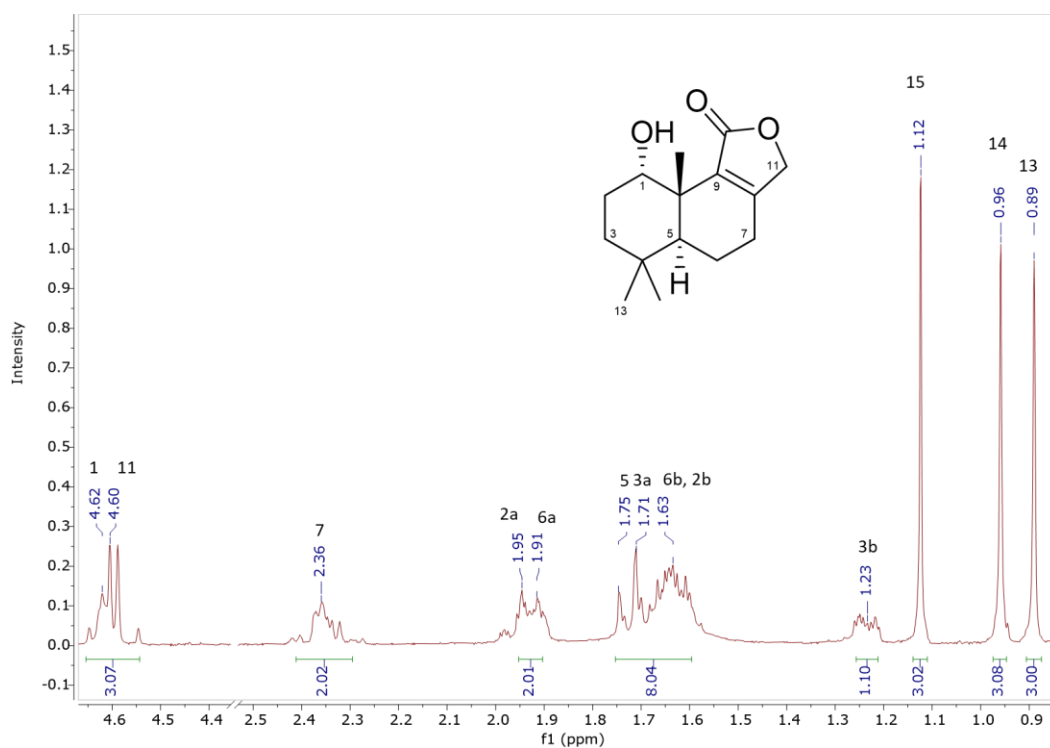


Figura 15. Espectro de RMN 1H de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**) ($CDCl_3$, 400 MHz).

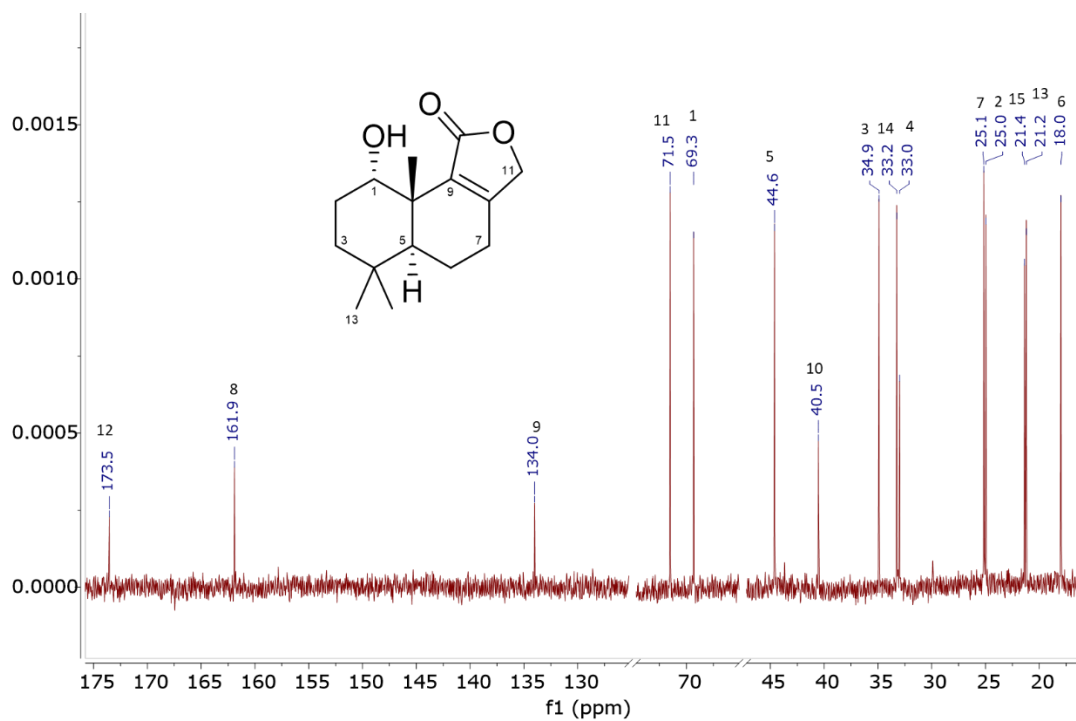


Figura 16. Espectro de RMN ^{13}C de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**) (CDCl_3 , 100 MHz).

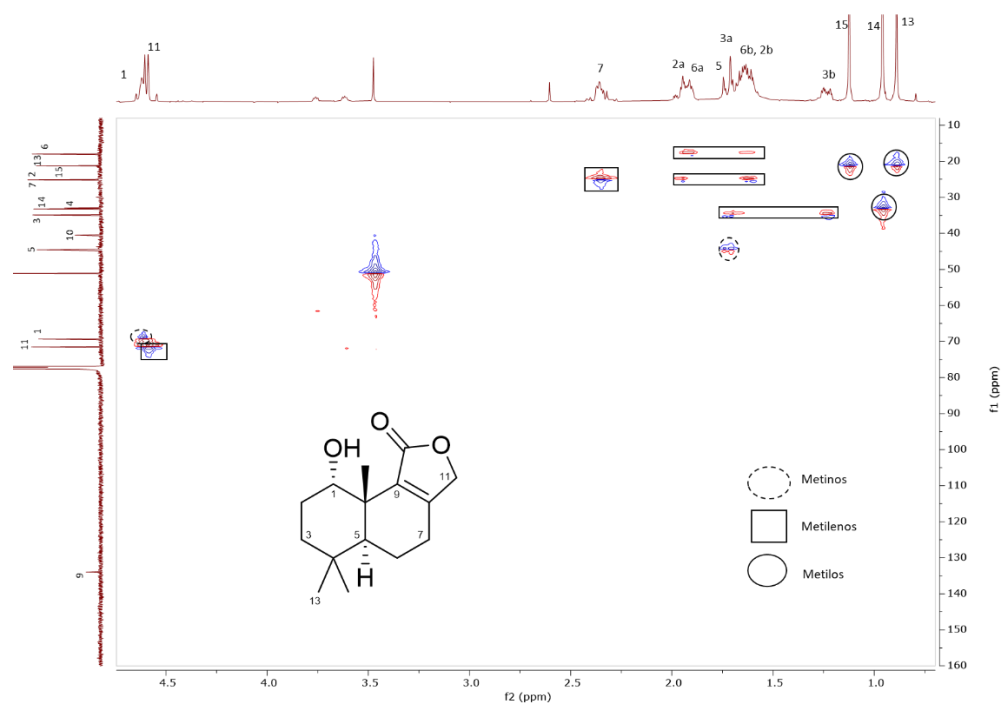


Figura 17. Espectro HSQC de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**) (CDCl_3 , 400 MHz).

Tabla 2. Datos de RMN de la 1 α -hidroxi-isodrimenina (**2**) en CDCl₃ (¹H, 400 MHz; ¹³C, 100 MHz).

Posición	2			HMBC C→H	Isodrimenina*		
	δ_C , tipo de C	δ_H , mult. (J en Hz)			δ_C , tipo de C	δ_H , mult. (J en Hz)	
1	69.3 CH	4.62, s		15	34.5 CH ₂		
2	25.0 CH ₂	1.62, m 1.94, m		3	18.3 CH ₂	2.6, m	
3	34.9 CH ₂	1.23, m 1.71, m		13, 14	41.8 CH ₂	3.28, m	
4	33.0 C	-		3, 13, 14	33.1 C	-	
5	44.6 CH	1.73, m		13, 14, 15	52.3 CH	-	
6	18.0 CH ₂	1.64, m 1.94, m		5	18.1 CH ₂	-	
7	25.2 CH ₂	2.36, m		5	25.3 CH ₂	-	
8	161.9 C	-		7, 11	159.2 C	-	
9	134.0 C	-		7, 11, 15	135.5 C	-	
10	40.5 C	-		5	34.9 C	-	
11	71.5 CH ₂	4.59, d (16.8)		-	70.6 CH ₂	4.53, m	
12	173.5 C	-		-	172.4 C	-	
13	21.2 CH ₃	0.89, s		3, 14	21.4 CH ₃	0.92, s	
14	33.2 CH ₃	0.96, s		3, 13	33.4 CH ₃	0.96, s	
15	21.4 CH ₃	1.12, s		-	20.0 CH ₃	1.17, s	

* Maurs *et al.*, 1999 y referencias ahí citadas; Hueso-Rodríguez *et al.*, 1989.

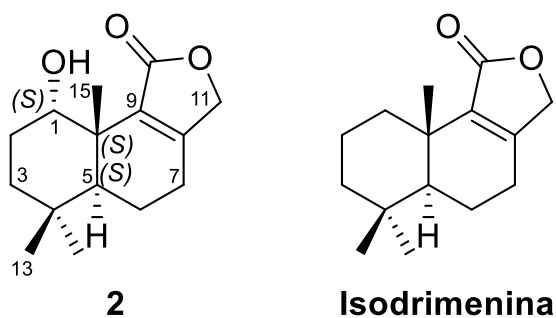


Figura 18. Estructura de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**) la isodrimenina.

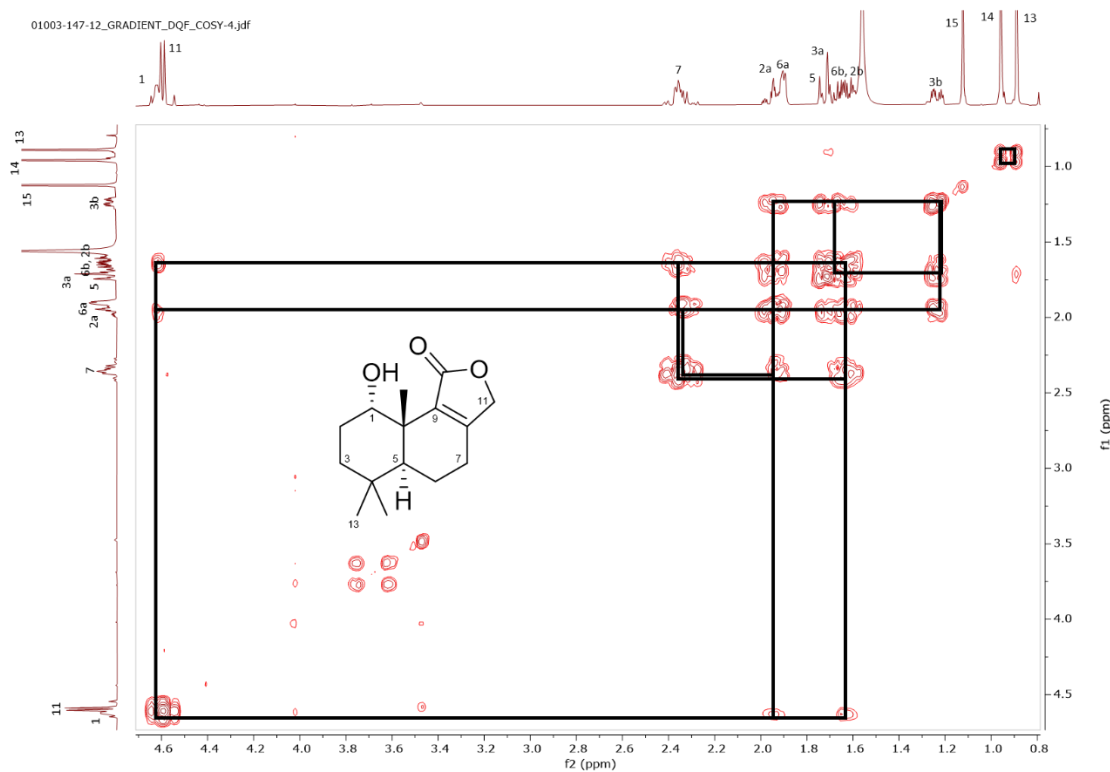


Figura 19. Espectro COSY de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**) (CDCl₃, 400 MHz).

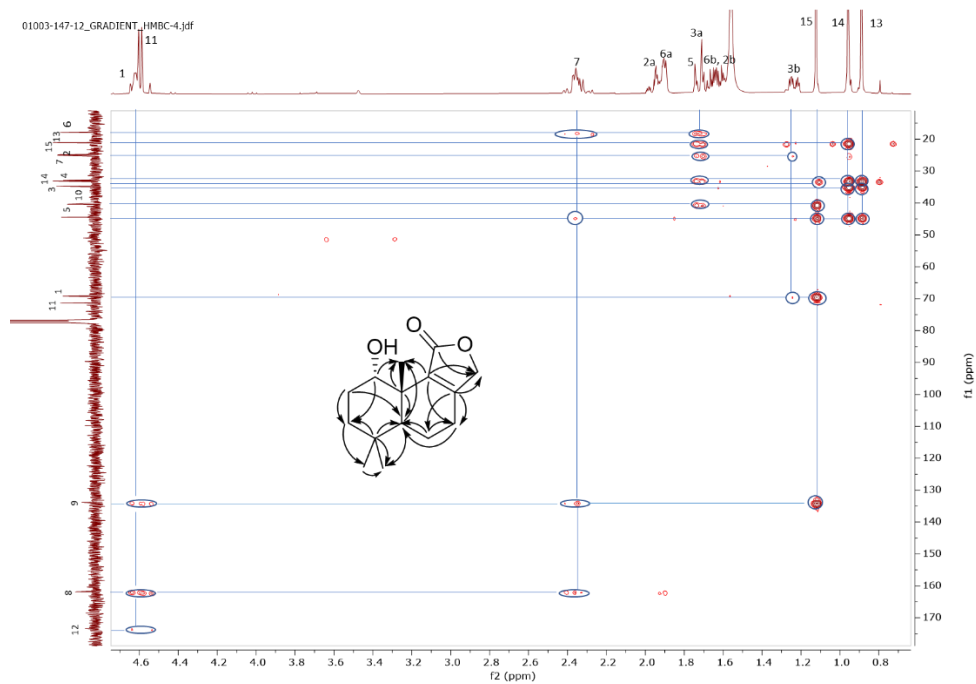


Figura 20. Espectro HMBC de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**) (CDCl₃, 400 MHz).

Con base en las evidencias espectroscópicas y espectrométricas antes mencionadas, la estructura de **2** se propuso como el derivado hidroxilado en C-1 de la isodrimenina, y se le asignó el nombre trivial de 1- α -hidroxi-isodrimenina. Cabe mencionar que este compuesto no se encuentra descrito en las bases de datos SciFinder y Dictionary of Natural Products, por lo que constituye un nuevo producto natural. Por último, la configuración absoluta de **2** se estableció de manera inequívoca como 1*S*,5*S*,10*S*-**2** mediante su análisis por difracción de rayos X, el cual presentó un valor del parámetro de Flack de 0.08(11) (**Figura 21**).

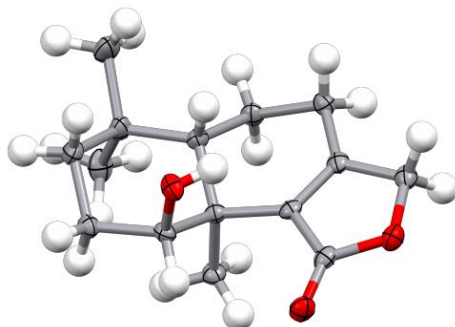


Figura 21. Estructura por rayos X de la 1- α -hidroxi-isodrimenina (**2**).

4.4 Caracterización estructural del 16-hidroxi-phlebia-nor-kauranol (**3**).

El compuesto **3** se aisló como un sólido cristalino. El espectro de HRESIMS en modo positivo permitió establecer su fórmula molecular como $C_{19}H_{30}O_5$ con base en el ion molecular $[M + H]^+$ en m/z de 339.2165 (calc. para m/z 339.2166, -0.3 ppm; IDH=5) (**Figura 22**). De forma muy interesante, en este espectro se observan las pérdidas consecutivas correspondientes a 4 moléculas de H_2O ($[M-18]^+$) a partir de ion molecular (**Figura 22**).

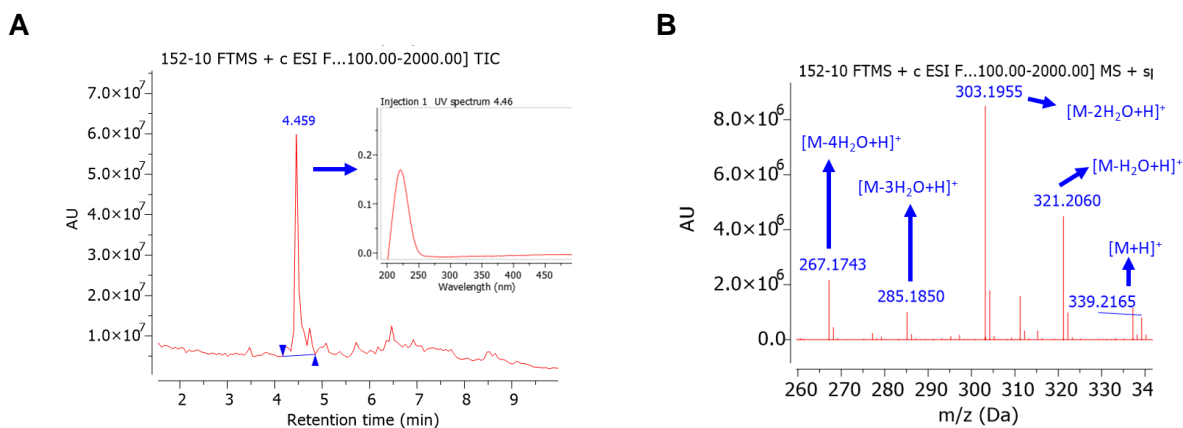


Figura 22. Cromatograma (PDA λ 190-400 nm) y espectros de UV (**A**) y de masas ESI⁺ (**B**) del 16-hidroxi-phlebia-nor-kauranol (**3**).

En el espectro de ^1H -RMN del producto natural (**Tabla 3** y **Figura 23**) se observaron las señales para:

- dos oximetinos en δ_{H} 4.07 (dd, $J=5.1, 11.3$ Hz) y δ_{H} 4.10 (d, $J=2.0$ Hz);
- un metino alifático en δ_{H} 1.56 (m);
- tres singuletes correspondientes a grupos metilo en δ_{H} 0.82, 0.85 y 1.41; y
- siete metilenos en la región comprendida entre δ_{H} 1.10 – 2.90.

En el espectro de RMN ^{13}C (**Tabla 3** y **Figura 24**) se observaron 19 señales para átomos de carbono, los cuales fueron asignados con ayuda del espectro de HSQC (**Figura 25**) como tres metilos, un carbonilo, siete metilenos, tres metinos, tres carbonos cuaternarios, y dos carbonos sp^3 oxigenados. El desplazamiento químico de los carbonos cuaternarios en δ_{C} 33.0, C-4; δ_{C} 44.6, C-8; y δ_{C} 43.9, C-10, fue congruente con lo descrito para algunos diterpenoides de núcleo kaurano, particularmente los derivados del phlebiakauranol (Anke *et al.*, 1987). Por otra parte, los cuadros de conectividad observados en el espectro de COSY, específicamente entre H-15 y H-16 (**Figura 26**), así como las correlaciones observadas en el espectro de HMBC entre C-7 con H-14, C-5 con H-7, C-15 con H-16, C-9 con H-19 y C-13 con H-12 (**Figura 26**), permitieron confirmar el núcleo propuesto de tipo kaurano (Anke *et al.*, 1987). Por último, la presencia de un grupo hidroxilo en C-16 (δ_{C} 74.5) en lugar de un grupo carbonilo como en el phlebia-*nor*-kauranol aislado del hongo *Phlebia strigozonata* (Anke *et al.*, 1987; Lisy y Clardy, 1975), permitieron establecer estructura del compuesto **3** como la del 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol, el cual constituye un nuevo producto natural (**Figura 28**). La configuración absoluta de este compuesto fue confirmada de manera inequívoca mediante la técnica de difracción de rayos X, como *5R,8R,9S,10R,12R,13S,16S*-**3** (parámetro de Flack, 0.02(3)) (**Figura 29**).

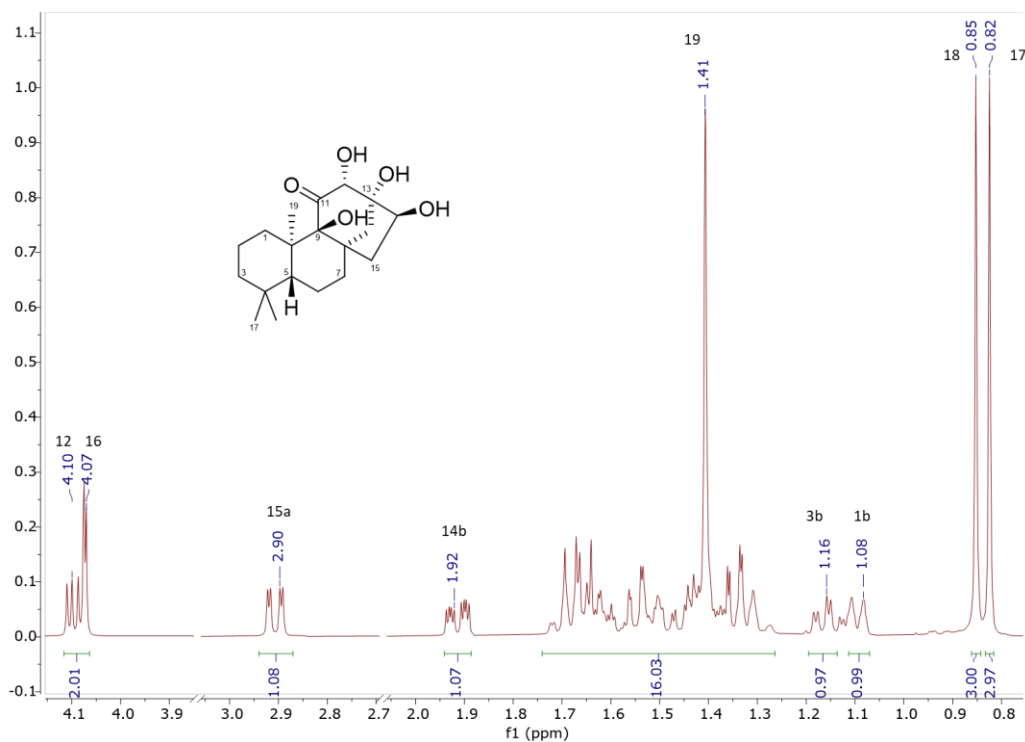


Figura 23. Espectro de RMN ^1H del 16-hidroxi-plebia-nor-kauranol (**3**) (CD_3OD , 500 MHz).

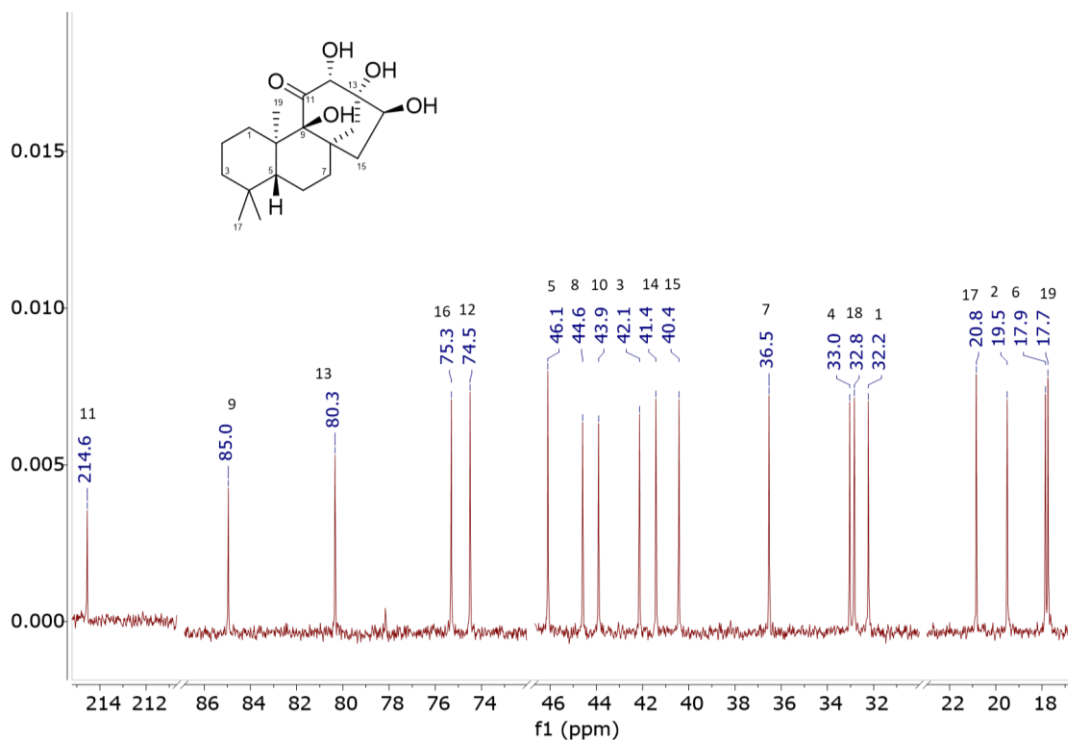


Figura 24. Espectro de RMN ^{13}C del 16-hidroxi-plebia-nor-kauranol (**3**) (CD_3OD , 125 MHz).

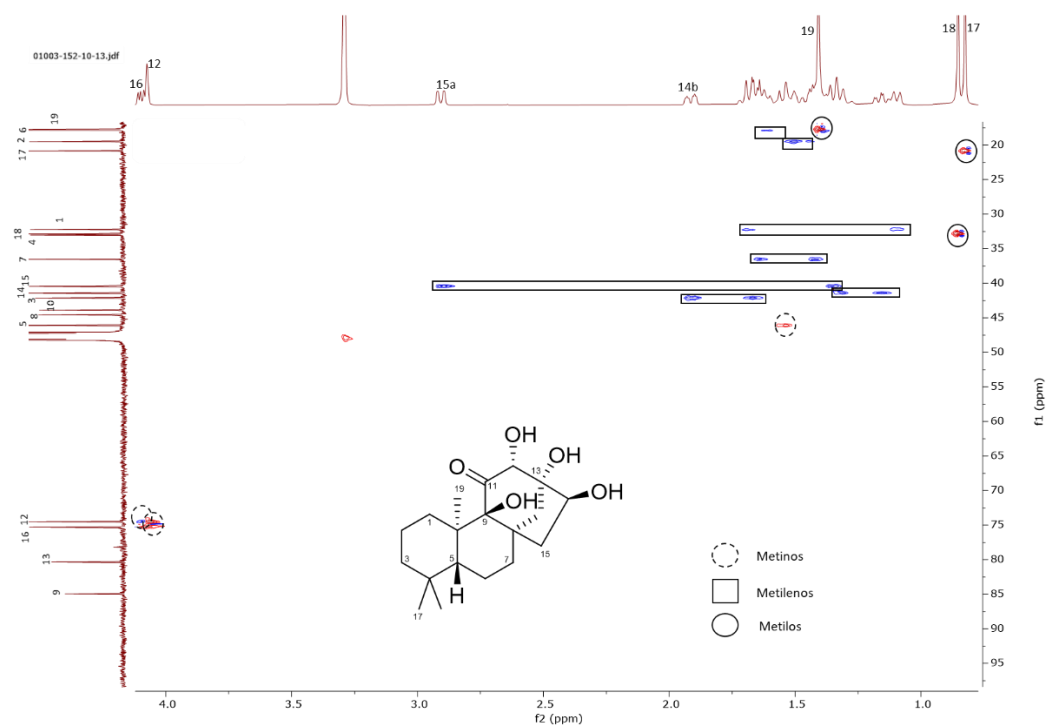


Figura 25. Espectro HSQC del 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol (**3**) (CD₃OD, 500 MHz).

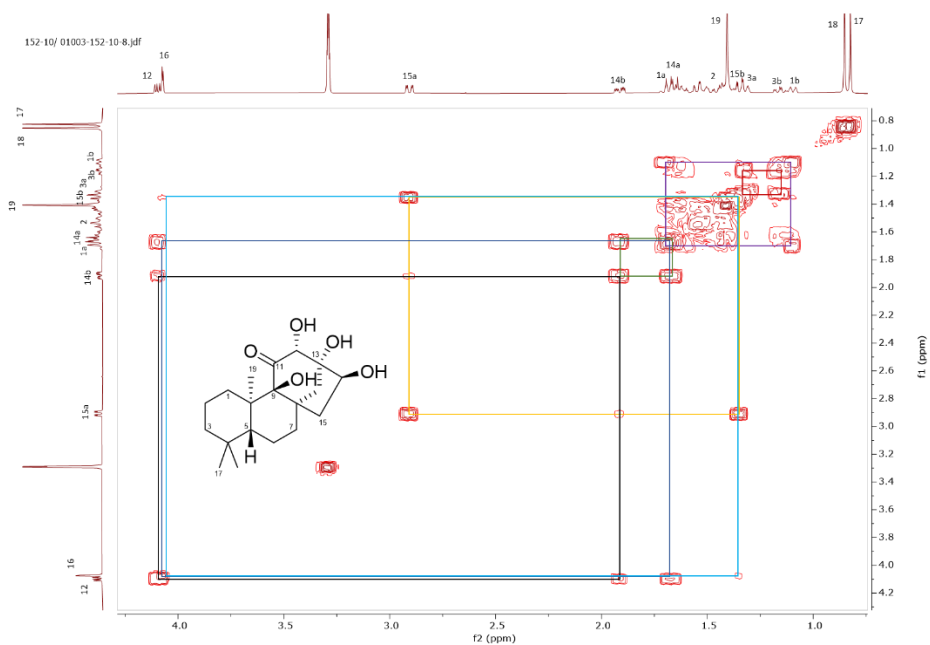


Figura 26. Espectro COSY del 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol (**3**) (CD₃OD, 500 MHz).

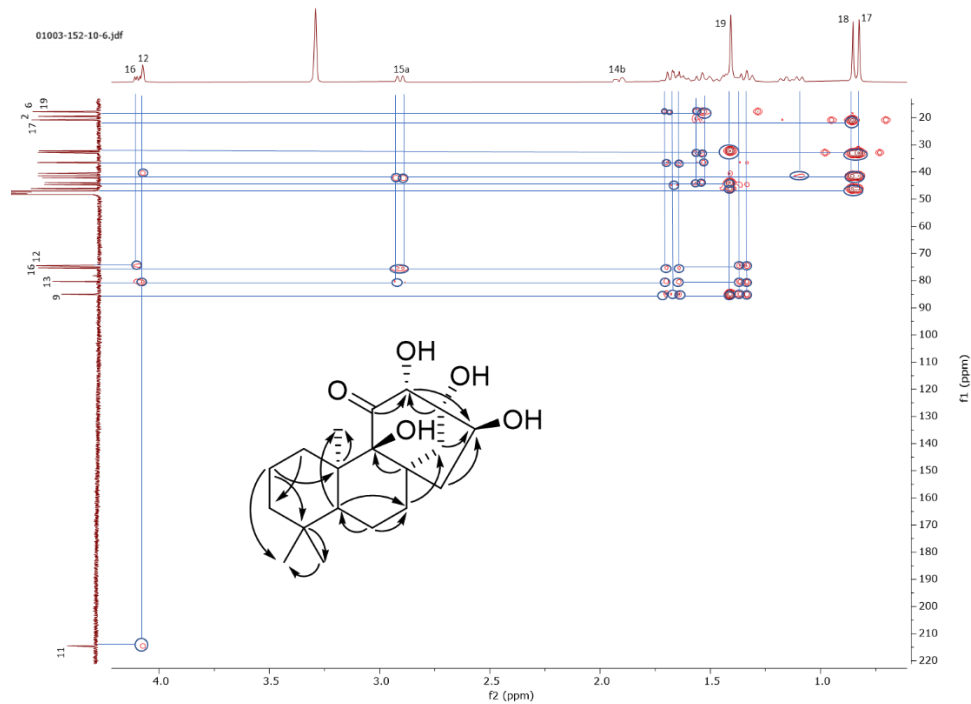


Figura 27. Espectro HMBC del 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol (**3**) (CD₃OD, 500 MHz).

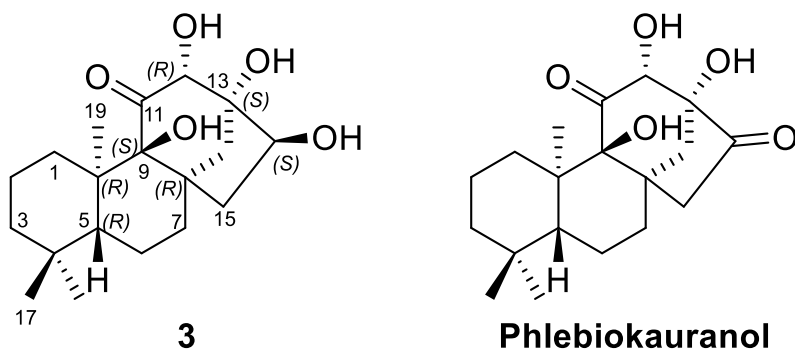


Figura 28. Estructura del 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol (**3**) y del phlebiokauranol.

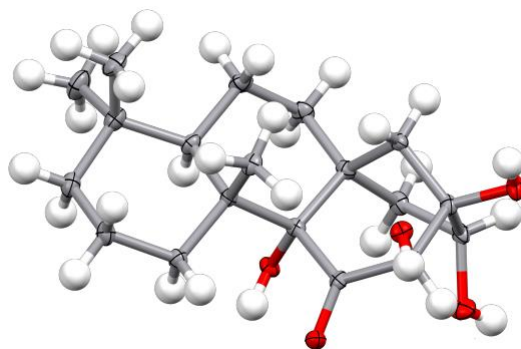


Figura 29. Estructura por rayos X del 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol (**3**).

Tabla 3. Datos de RMN del 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol (**3**) en CD₃OD (¹H, 500 MHz; ¹³C, 125 MHz).

Posición	δ_c , tipo de C		δ_H , mult. (J en Hz)	HMBC C→H
1	32.2	CH ₂	1.08, m 1.69, m	3, 5
2	19.5	CH ₂	1.43, m 1.50, m	4, 10
3	42.1	CH ₂	1.16, m 1.34, m	5, 17, 18
4	33.0	C	-	17, 18
5	46.1	CH	1.56, m	7, 19
6	17.9	CH ₂	1.61, m	5, 7
7	36.5	CH ₂	1.64, m 1.43, m	5, 14
8	44.6	C	-	9, 16
9	85.0	C	-	7, 12
10	43.9	C	-	19
11	214.5	C	-	12
12	74.5	CH	4.10, d (2.0)	16
13	80.3	C	-	12, 14, 16
14	41.4	CH ₂	1.66, m 1.92, m	12, 16
15	40.4	CH ₂	1.36, m 2.90, m	8, 16
16	75.3	CH	4.07, dd (5.1, 11.3)	12, 15
17	20.8	CH ₃	0.82, s	3, 15, 18
18	32.8	CH ₃	0.85, s	3, 5, 17
19	17.7	CH ₃	1.41, s	1, 5

5. CONCLUSIONES

Las conclusiones derivadas de la presente disertación se resumen a continuación:

- Se realizó el aislamiento de la especie fúngica *Punctularia atropurpurascens* a partir de un sustrato colectado en el Bosque de Tlalpan en la CDMX. La identificación de este hongo se realizó mediante el análisis comparativo de su secuencia de la región del espaciador de transcripción interno (ITS) con aquellas reportadas en la base de datos especializada.
- El estudio químico del cultivo de este hongo en medio sólido (arroz húmedo) permitió el aislamiento y la caracterización de la *N*-fenetilacetamida (**1**), 1 α -hidroxi-isodrimenina (**2**) y 16-hidroxi-phlebia-*nor*-kauranol (**3**). Estos últimos dos corresponden a productos son novedosos y cuya configuración absoluta fue determinada mediante análisis de difracción de rayos X.
- Por último, este trabajo constituye una aportación original al conocimiento de la biodiversidad de nuestro país, además del metabolismo secundario y potencial químico de la especie *P. atropurpurascens*.

Los resultados aquí descritos fueron incorporados en un manuscrito que lleva por título “New Terpenoids from the Corticioid Fungus *Punctularia atropurpurascens*”, mismo que fue sometido para su publicación en la revista *Planta Medica* el 15 de diciembre de 2021.

6. REFERENCIAS

- Aguirre-Acosta, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., Valenzuela, R. (2014). *Biodiversidad de hongos en México*. Revista Mexicana de Biodiversidad, 85(Supl. ene), S76–S81. <https://doi.org/10.7550/rmb.33649>.
- Anke, H., Casser, I., Steglich, W., Pommer, E. H. (1987). *Antibiotics from basidiomycetes. 26 Phlebiakauranol aldehyde an antifungal and cytotoxic metabolite from Punctularia atropurpurascens*. The Journal of Antibiotics, 40(4), 443–449. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.40.443>.
- Chen, S., Yong, T., Xiao, C., Su, J., Zhang, Y., Jiao, C., & Xie, Y. (2018). *Pyrrole alkaloids and ergosterols from Grifola frondosa exert anti- α -glucosidase and anti-proliferative activities*. Journal of Functional Foods (Vol. 43, pp. 196–205). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.007>
- Dias, D. A., Urban, S., & Roessner, U. (2012). *A historical overview of natural products in drug discovery*. Metabolites, 2(2), 303–336. <https://doi.org/10.3390/metabo2020303>.
- Fajardo Hernández, C. A. (2016). *Aislamiento e identificación de metabolitos biodinámicos a partir de la especie endófito Biscogniauxia sp.* [Tesis de Maestría, Facultad de Química]. Recuperado del Repositorio de la Universidad Nacional Autónoma de México
- Gutiérrez, S. A., Cúndom, M. A., Barrera, V., Gasoni, L. (2007). *First record of Rhizoctonia zeaen corn in Argentina*. Australasian Plant Disease Notes, 2(1), 137. <https://doi.org/10.1071/dn07054>.
- Güven, K. C., Percot, A., Sezik, E. (2010). *Alkaloids in marine algae*. Marine Drugs, 8(2), 269–284. <https://doi.org/10.3390/md8020269>.
- Han, W., Lu, X., Xu, Q., Liu, X., & Jiao, B. (2009). *Isolation, identification and biological characterization of secondary metabolites produced by a marine Bacillus subtilis*. Academic Journal of Second Military Medical University (Vol. 28, Issue 10, pp. 1234–1238). China Science Publishing & Media Ltd. <https://doi.org/10.3724/sp.j.1008.2008.01234>.
- Hueso-Rodríguez, J. A., & Rodríguez, B. (1989). *A new and efficient route to optically active drimanes. synthesis of (+)-winterin, (+)-confertifolin, (+)-isodrimenin, and (+)-bicyclofarnesol*. Tetrahedron, 45(5), 1567–1576. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(89\)80155-3](https://doi.org/10.1016/0040-4020(89)80155-3).
- Index Fungorum. *Thelephora atropurpurascens* Berk. & Broome. [online]. Recuperado el 27 de enero de 2022 en <https://www.gbif.org/species/113315771>.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., Stalpers, J. A., eds. (2008). *Dictionary of the Fungi (10th ed.)*. Wallingford: CABI. p. 173

- Kiyota, H., Shi, Q. W., Oritani, T. (2002). *A new drimane from the heartwood of the Japanese yew, Taxus cuspidata*. *Natural Product Letters*, 16(1), 21–24. <https://doi.org/10.1080/1057563029001479>.
- Knijn, A., Saar, I., Ferretti, A. (2019). *Biological characteristics of Punctularia atropurpurascens through morphological and molecular analyses during development*. *Italian Journal of Mycology*, 48(1), 39–49. <https://doi.org/10.6092/issn.2531-7342/9574>.
- Li, H., Liang, Y. R., Chen, S. X., Wang, W. X., Zou, Y., Nuryyeva, S., Hu, J. F. (2020). *Amentotaxins C–V, structurally diverse diterpenoids from the leaves and twigs of the vulnerable conifer Amentotaxus argotaenia and their cytotoxic effects*. *Journal of Natural Products*, 83(7), 2129–2144. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00064>.
- Lin, H. C., Hewage, R. T., Lu, Y. C., Chooi, Y. H. (2019). *Biosynthesis of bioactive natural products from Basidiomycota*. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 17(5), 1027–1036. <https://doi.org/10.1039/c8ob02774a>.
- Lisy, J. M., Clardy, J. (1975). *X-Ray structures of phlebiakauranol and phlebianorkauranol, highly oxygenated antibacterial metabolites of Phlebia strigosozonata*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 406–407. <https://doi.org/10.1039/C39750000406>.
- Liu, S. L., Nakasone, K. K., Wu, S. H., He, S. H., Dai, Y. C. (2018). *Taxonomy and phylogeny of Lopharia s.s., Dendrodontia, Dentocorticium and Fuscocerrena (Basidiomycota, Polyporales)*. *Mycology*, 32, 25–48. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.32.23641>.
- Lu, H., Xie, H., Gong, Y., Wang, Q., & Yang, Y. (2011). *Secondary metabolites from the seaweed Gracilaria lemaneiformis and their allelopathic effects on Skeletonema costatum*. *Biochemical Systematics and Ecology* (Vol. 39, Issues 4–6, pp. 397–400). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.05.015>
- Martini, E. (2016). *Punctularia atropurpurascens* (Berk.) Petch (1916). *Excerpts from Crusts & Jells*. 1–8.
- Maskey, R. P., Helmke, E., Laatsch, H. (2003). *Himalomycin A and B: Isolation and structure elucidation of new fridamycin type antibiotics from a marine streptomyces isolate*. *The Journal of Antibiotics*, 56(11), 942–949. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.56.942>.
- Maurs, M. (1999). *Microbial hydroxylation of natural drimenic lactones*. *Phytochemistry*, 52(2), 291–296. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(99\)00199-5](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(99)00199-5).
- Peralta, R. M., da Silva, B. P., Gomes Côrrea, R. C., Kato, C. G., Vicente Seixas, F. A., & Bracht, A. (2017). *Enzymes from basidiomycetes—peculiar and efficient tools for biotechnology*. *Biotechnology of Microbial Enzymes* (pp. 119–149). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803725-6.00005-4>.

- Sebastianes, F. L. de S., Maki, C. S., Andreote, F. D., Araújo, W. L., Pizzirani-Kleiner, A. A. (2007). *Genetic variability and vegetative compatibility of Erythricium salmonicolor isolates*. *Scientia Agricola*, 64(2), 162–168. <https://doi.org/10.1590/s0103-90162007000200009>.
- Seke Etet, P. F., Nwabo Kamdje, A. H., Vecchio, L., Farahna, M., & Mahomoodally, M. F. (2016). *Signaling pathways sustaining antibiotic resistance*. *Antibiotic Resistance*. Elsevier, pp. 37–61. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803642-6.00003-4>.
- Singh, A. K., Rana, H. K., Pandey, A. K. (2019). *Fungal-derived natural product: synthesis, function, and applications*. *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi*. Springer International Publishing, pp. 229–248. https://doi.org/10.1007/978-3-030-14846-1_8.
- Vaca, J., Salazar, F., Ortiz, A., & Sansinenea, E. (2020). *Indole alkaloid derivatives as building blocks of natural products from Bacillus thuringiensis and Bacillus velezensis and their antibacterial and antifungal activity study*. *The Journal of Antibiotics* (Vol. 73, Issue 11, pp. 798–802). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0333-2>.
- Valeria Calì, C. S., Tringali, C. (2003). *Polyhydroxy-p-terphenyls and related p-terphenylquinones from fungi*. *Bioactive Natural Products (Part J)*. Elsevier, pp. 263–307. [https://doi.org/10.1016/s1572-5995\(03\)80009-1](https://doi.org/10.1016/s1572-5995(03)80009-1).
- Vieira Gomes, D. C., de Alencar, M. V. O. B., dos Reis, A. C., de Lima, R. M. T., de Oliveira Santos, J. V., da Mata, A. M. O. F., Soares Dias, A. C., da Costa, J. S., Junior, de Medeiros, M. das G. F., Paz, M. F. C. J., Gayoso e Almendra Ibiapina Moreno, L. C., Castro e Sousa, J. M. de, Islam, M. T., Melo Cavalcante, A. A. de C. (2019). *Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic/antitumoral bioactives from the phylum Basidiomycota and their possible mechanisms of action*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108643. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108643>.
- Yang, Y., Zhang, H., Zuo, J., Gong, X., Yi, F., Zhu, W., & Li, L. (2019). *Advances in research on the active constituents and physiological effects of Ganoderma lucidum*. *Biomedical Dermatology*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s41702-019-0044-0>.
- Wu, H. H., Tian, L., Chen, G., Xu, N., Wang, Y. N., Sun, S., Pei, Y. H. (2009). *Six compounds from marine fungus Y26-02*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(8), 748–751. <https://doi.org/10.1080/10286020903025783>.
- Zou, X., Liu, S., Zheng, Z., Zhang, H., Chen, X., Liu, X., Li, E. (2011). *Two new imidazolone-containing alkaloids and further metabolites from the ascomycete fungus Tricladium sp.* *Chemistry & Biodiversity*, 8(10), 1914–1920. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000372>.