



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

**“EVALUACION IN SILICO DE LOS DERIVADOS DE
FLAVONOIDES COMO INHIBIDORES DE PBP2a DE
Staphylococcus aureus RESISTENTE A LA METICILINA”**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUIMICO FARMACEUTICO**

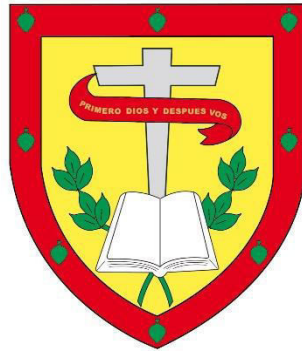
AUTOR: EINSTEEN ANGEL ESPINOZA REYES

DIRECTOR: PhD. JUAN MARCELO CARPIO AREVALO

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

“EVALUACION IN SILICO DE LOS DERIVADOS DE FLAVONOIDES

COMO INHIBIDORES DE PBP2a DE *Staphylococcus aureus*

RESISTENTE A LA METICILINA”

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL

TÍTULO DE BIOQUIMICO FARMACEUTICO

AUTOR: EINSTEEN ANGEL ESPINOZA REYES

DIRECTOR: PhD. JUAN MARCELO CARPIO AREVALO

CUENCA - ECUADOR

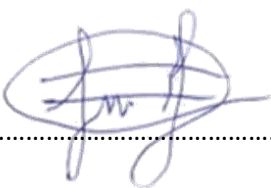
2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Einstein Angel Espinoza Reyes portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0705880466**. Declaro ser el autor de la obra: “**Evaluación in silico de los derivados de flavonoides como inhibidores de PBP2a de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina**”, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **29 de julio de 2024**

F: 

Einstein Angel Espinoza Reyes

C.I. 0705880466

Certificación del Tutor

Dr. Juan Marcelo Carpio Arévalo, PhD
**DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado “*Evaluación in silico de los derivados de flavonoides como inhibidores de PBP2a de Staphylococcus aureus resistente a la meticilina*”, realizado por **Einstein Angel Espinoza Reyes**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, 26 Julio 2024

firma..... Firmado electrónicamente por:
**JUAN MARCELO CARPIO
AREVALO**

Dr. Juan Marcelo Carpio Arévalo, PhD

C.I.: 0103130522

DEDICATORIA.

El presente trabajo va dedicado a mis padres que me brindaron su apoyo y amor incondicional que son mi mas grande inspiración para superarme cada día y doy gracias a Dios por estar conmigo

AGRADECIMIENTOS:

A los docentes de la facultad de bioquímica y farmacia por su calidad académica y trato humano y sobre todo agradecimiento por la ayuda que me ha brindado el Dr. Juan Carpio por la paciencia, esfuerzo y tiempo invertido

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Evaluación *in silico* de los derivados de flavonoides como inhibidores de la PBP2a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina

Einstein Angel Espinoza Reyes

Palabras clave: PBP2a, *Staphylococcus aureus*, análisis *in silico*, resistente a meticilina, flavonoides.

Resumen

Introducción: La resistencia a los antibióticos presente en *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina genera infecciones que dificultan el tratamiento sobre todo a pacientes que presentan un sistema inmunitario comprometido para ello se han realizado estudios de acoplamiento molecular como nueva alternativa para tratar estas infecciones e intervenir en los factores de virulencia.

Objetivo: Evaluar la actividad inhibitoria que presentan las flavonas mediante un ensayo *in silico* frente a la enzima PBP2a de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

Metodología: Para el desarrollo de esta tesis se emplea un diseño experimental *in silico* con un enfoque cuantitativo para evaluar los siguientes aspectos: propiedades ADME, interacciones, niveles de energía de las 30 flavonas con el uso del docking molecular para interactuar con la PBP2a de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

Resultados: Se evaluó la afinidad de cada flavona al interactuar con la enzima PBP2a mediante acoplamiento molecular obteniendo diversos niveles de energía de las 5 mejores moléculas con un rango entre 10,7 – 9 kcal/mol.

Conclusión: Los datos recopilados en este estudio muestran los efectos antibacterianos que presentan las flavonas y su posible uso como nuevo antimicrobiano que ayude al tratamiento de infecciones de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

ACADEMIC DEPARTMENT OF HEALTH AND WELLNESS

FACULTY OF BIOCHEMISTRY AND PHARMACY

***In Silico* Evaluation of Flavonoid Derivatives as Inhibitors of
Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* PBP2a**

Einstein Angel Espinoza Reyes

Keywords: PBP2a, *Staphylococcus aureus*, *in silico* evaluation, methicillin-resistant, flavonoid.

Abstract

Introduction: Antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* generates infections that make treatment difficult, especially in patients with compromised immune systems. Therefore, molecular docking studies have been conducted as a new alternative to treat these infections and intervene in the virulence factors.

Objective: To evaluate the inhibitory activity of *flavones* by an *in silico* essay against the Penicillin-Binding Protein 2a (PBP2a) enzyme of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Methodology: To develop this thesis, an *in silico* experimental design with a quantitative approach was used to evaluate the following aspects: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion (ADME) properties, interactions, and energy levels of the 30 *flavones*, using molecular docking to interact with PBP2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Results: The affinity of each *flavone* to interact with the PBP2a enzyme was evaluated by molecular docking, obtaining different energy levels of the 5 best molecules, ranging between 10.7 and 9 kcal/mol. **Conclusion:** The data collected in this study shows the antibacterial effects of *flavones* and their potential use as a new antimicrobial to aid in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections.

ÍNDICE

I.INTRODUCCIÓN	1
I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
I.3.- OBJETIVOS	5
I.3.1.-Objetivo General:	5
I.3.2.-Objetivos Específicos:	5
I.4.2.- Marco referencial:	12
I.4.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	12
I.4.2.1.1 Generalidades	12
I.4.2.1.2 Clasificación.....	14
I.4.2.1.3 Epidemiología	15
I.4.2.1.4 Principales enfermedades	17
I.4.2.1.5 Principales tratamientos usados para tratar enfermedades por <i>S. aureus</i>	18
I.4.2.1.6 Resistencia de <i>S. aureus</i> frente antibióticos	22
I.4.2.2 Flavonoides	24
I.4.2.2.1 Generalidades, Definición, Estructura, Orígenes y funciones	24
I.4.2.2.2 Ensayos in silico en el descubrimiento de nuevos fármacos	35
II.1. Diseño de investigación	11
Diseño de Investigación: Descriptivo.....	11
Nivel de investigación: Descriptivo	11
Tipo de Investigación:	11
II.2.- Población y muestra.....	12

II.3.- Muestreo y muestra	12
II.4.- Criterios de selección.....	12
II.5.- Definición y clasificación de las variables.....	12
II.6.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.....	13
II.6.1.- Procedimientos estadísticos y análisis de datos.....	14
II.7.- Aspectos éticos	14
III.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
IV.1.- CONCLUSIONES	16
IV.2.- RECOMENDACIONES.....	17
BIBLIOGRAFÍA	18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Moléculas incluidas en el estudio y su energía de unión calculada por Autodock Vina	16
Tabla 2: Predicción de las propiedades ADME de las 5 mejores flavonas	28
Tabla 3: Predicción de las propiedades ADME de las 5 flavonas con menor energía	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tipos y fuentes de flavonoides. Górnjak I, Bartoszewski R, Króliczewski J., 2018 (55)	29
Figura 2: Ruta fenil propanoide y ruta flavonoide. Drago Serrano Ma., 2017 (58) 31	
Figura 3: Análisis de la interacción entre amentoflavona, molécula con mayor energía de unión con PBP2a.....	18
Figura 4: Análisis de las interacciones de la segunda molécula con menor energía	19
Figura 5: Análisis de la interacción de la tercera molécula con menor energía	20
Figura 6: Análisis de la cuarta molécula con menor energía	21
Figura 7: Análisis de la quinta molécula con menor energía	22
Figura 8: Análisis de la interacción entre Pinocembrina con PBP2a con menor nivel de energía.	23
Figura 9: Análisis de la interacción de la segunda molécula con menor energía	24
Figura 10: Análisis de la interacción de la tercera molécula con menor energía. .	25
Figura 11: Análisis de la cuarta molécula con menor nivel de energía.....	26
Figura 12: Análisis de la quinta molécula con menor nivel de energía.....	27

I. INTRODUCCIÓN

Los antibióticos β -lactámicos, como las penicilinas son antibióticos de amplio espectro utilizados para el tratamiento de pacientes que padecen de diversas patologías dependiendo del tipo de organismo bacteriano (1). Este grupo de antibióticos son los fármacos de elección frente a microorganismos como las bacterias gram (+), entre estos, *S. aureus* se considera uno de los patógenos más importantes (2).

La metilina es un antibiótico que pertenece al grupo de los betalactámicos que se caracterizan por presentar un espectro reducido con respecto al grupo de las penicilinas. En la literatura se ha descrito diversas propiedades de resistencia como mecanismo de supervivencia de *S. aureus* MRSA hacia los β -lactámicos, entre ellas encontramos las siguientes: producción de β -lactamasas y supernumerarias que se caracterizan por ser genes que portan a *S. aureus* mrsa una resistencia intrínseca a metilina (3).

S. aureus MRSA ha desarrollado resistencia a la metilina debido a la síntesis de las proteínas fijadoras de la penicilinas (PBP) en este grupo la de mayor interés es la PBP2a que presentan las siguientes características: peso molecular de 78 kDa, baja afinidad a la metilina y a los demás de los β -lactámicos (4). La PBP2a es de origen cromosómico generado por el gen *mec* que presenta en su estructura varios locis entre estos locis los más representativos son la *mecA* que se encarga de codificar a la PBP2a y el *mecR* que es el gen regulador. Las cepas SARM que portan una resistencia intrínseca a metilina en su estructura presentan los siguientes marcadores el gen *mecA* y la PBP2a (5).

El término flavonoide se usa para referirse a una diversidad de compuestos químicos entre ellos podemos destacar los siguientes: flavonoles (presente en manzanas y cebollas), flavonas (presente perejil y apio), flavanonas (presente naranjas y limones), flavanoles (presente te verde y te negro), isoflavonas (presente productos de soja), antocianididas (presente moras y arándanos) y biflavonas (presente Ginkgo biloba) (6). Como alternativa de solución, el uso de herramientas computacionales mediante programas de acoplamiento molecular en la actualidad ha

tenido un elevado impacto, ya que, permite el análisis y selección de moléculas en este caso de flavonoides más prometedoras que pudieran inhibir las enzimas PBP2A de *S. aureus* MRSA.

En este sentido, este trabajo busca dar apoyo en la búsqueda de soluciones a la falta de alternativas de tratamientos y propone el uso de herramientas in silico que permitan identificar flavonoides de origen natural con potencial actividad antibacteriana frente a *S. aureus* MRSA.

Se espera que los resultados proporcionen una mejor comprensión de las interacciones moleculares entre los flavonoides y PBP2a, y que identifiquen compuestos con alto potencial inhibidor que permita el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos contra infecciones causadas por MRSA. Por consiguiente, los resultados obtenidos constituirán una potencial actividad antibacteriana frente a *S. aureus* MRSA.

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.

I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.

S. aureus es una bacteria Gram-positiva, que ocasiona diversas patologías que pueden ir desde daños leves a graves. Dentro de las enfermedades más complicadas que causa esta bacteria se encuentra la neumonía, endocarditis, bacteriemia e infecciones de localización quirúrgica. Además, puede presentar el caso de una colonización asintomática, que facilita su transmisión.

El patógeno *S. aureus* es uno de elevada prevalencia a nivel mundial, coligado a un alto índice de mortalidad y un progreso vertiginoso de resistencia a los antibióticos (9). Universalmente es estimado como una causa transcendental de infecciones mediadas por bacterias en piel, hueso y tejidos blandos, su daño se debe a una composición de factores que incluye resistencia por varios antibióticos, alto índice de traspaso de genética de tipo horizontal, factores de virulencia, así como su rápida adaptación al medio (10).

Las bacterias resistentes a múltiples fármacos representan un problema cada vez mayor en hospitales a nivel mundial. El *S. aureus* MRS es un agente que ocasiona una variedad de patologías infecciosas en los entornos tanto hospitalarios como comunitarios (11).

Las alternativas de tratamiento antimicrobiano para el *S. aureus* MRSA son una vez más limitadas. Las cepas de MRSA son resistentes a la meticilina debido a la formación de enzimas β -lactamasa, así como a la presencia del gen *mecA*, que codifica la proteína de unión a penicilina (PBP2a) que reduce la similitud por los medicamentos β -lactámicos (12).

Por consiguiente, las moléculas de fuente natural pueden representar una excelente opción que ayude al desarrollo de nuevos antimicrobianos. También, el diseño racional de fármacos facilita el análisis *in silico* de moléculas mediante herramientas computacionales, lo que puede mejorar las posibilidades de identificar compuestos naturales con efectividad biológica para inhibir enzimas de bacterias patógenas.

I.2.- JUSTIFICACIÓN

La investigación es novedosa y actual ya que busca dar apoyo en la indagación de soluciones al déficit de antibióticos y propone el uso de herramientas *in silico* que permitan identificar flavonoides de origen natural con potencial actividad antibacteriana frente a *S. aureus* resistente a meticilina. Se aplica una metodología en el campo de la bioinformática, lo que permitirá presagiar energías y realizar cálculos por medios informáticos para enlace entre los potenciales ligandos con la enzima PBP2a *S. aureus* resistente a meticilina. La investigación se ajusta a la línea de la Universidad y en correspondencia a las temáticas del país sobre el desarrollo de los productos naturales con fines terapéuticos. Los beneficios del estudio se enfocan en el aporte de predecir las propiedades farmacocinéticas de los flavonoides, lo que complementa la visión de un potencial terapéutico preliminar en patologías asociadas a infecciones por *S. aureus*. Los beneficiarios directos lo constituyen los profesionales de la salud e investigadores que contarán con información científica que permitirá plantear investigaciones *in vitro* e *in vivo* que corrobore la hipótesis propuesta de este trabajo basada en acoplamiento molecular.

I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA

¿Los derivados los flavonoides presentan actividad inhibitoria frente a las enzimas PBP2a de *S. aureus* resistente a meticilina?

I.3.- OBJETIVOS

I.3.1.-Objetivo General:

Evaluar la actividad inhibitoria que presentan los derivados de flavonoides frente a las enzimas PBP2a de *S. aureus* resistente a meticilina.

I.3.2.-Objetivos Específicos:

- Identificar los derivados flavonoides que presentan efecto antimicrobiano a incluir en el proceso de evaluación por acoplamiento molecular.

- Evaluar por acoplamiento molecular la afinidad que presentan los derivados flavonoides con la enzima PBP2a.
- Establecer la afinidad de los derivados flavonoides con la enzima PBP2a mediante los niveles de energía.

I.4.- MARCO TEÓRICO

I.4.1.- Antecedentes:

La resistencia antibiótica es uno de los retos más críticos que afronta la medicina moderna, y *S. aureus*, ha emergido como un patógeno especialmente preocupante debido a su capacidad para desarrollar resistencia a múltiples antibióticos (13). En este contexto, los estudios *in silico* y el acoplamiento molecular han surgido como herramientas fundamentales para comprender y combatir esta creciente amenaza.

S. aureus es un patógeno comúnmente asociado con una variedad de infecciones, que van desde infecciones cutáneas leves hasta enfermedades graves como la sepsis y la neumonía. Sin embargo, su capacidad para la resistencia a los antimicrobianos ha generado una crisis de salud global (14). Este microorganismo ha tenido resistencia a una extensa variedad de antimicrobianos, incluidos los betalactámicos, vancomicina y linezolid, reduciendo así las opciones de tratamiento efectivo (5).

Los estudios *in silico*, que implican la utilización de computadoras y modelos computacionales para simular y predecir fenómenos biológicos, juegan un papel crucial en la comprensión de la resistencia antibiótica. Estos estudios permiten analizar a nivel molecular cómo se desarrolla la resistencia, identificar los mecanismos subyacentes y prever posibles estrategias para contrarrestarla. Al simular interacciones moleculares, los científicos pueden diseñar moléculas potenciales que inhiban las vías de resistencia o restauren la eficacia de los antibióticos existentes.

El acoplamiento molecular es un método que emplea la informática que modela la interacción entre una molécula pequeña, como un fármaco candidato, y una proteína objetivo, como una enzima o un receptor bacteriano. En el contexto de *S.*

aureus y la resistencia antibiótica, el acoplamiento molecular se utiliza para predecir cómo los fármacos potenciales se unirán a las proteínas responsables de la resistencia y, por lo tanto, interferirán con su actividad. Este enfoque permite el diseño racional de compuestos que puedan combatir la resistencia de manera específica y efectiva (12).

A lo largo de los años, los estudios *in silico* y el acoplamiento molecular han proporcionado valiosos conocimientos sobre la resistencia antibiótica en *S. aureus* y muchas otras especies bacterianas con potencial patogénico. Han facilitado el descubrimiento de nuevos compuestos antimicrobianos, la optimización de los existentes y la identificación de objetivos terapéuticos prometedores. Sin embargo, persisten desafíos, como la necesidad de optimizar la exactitud de los modelos computacionales y la validación experimental de los hallazgos *in silico*.

En un estudio de Zhong-Lin Sun y cols (2020), se logró aislar e identificar la saphoraflavanona G (SG) de la planta *Sophora alopecuroides* con el propósito de observar su efecto antibacterial contra *S. aureus* en ratones. Se infectaron seis grupos de 10 ratones con *S. aureus*, y se les administró SG solo o en combinación con norfloxacina. Los resultados sugieren la viabilidad de evaluar este tipo de flavonoides mediante estudios *in silico* (15).

En un estudio de acoplamiento molecular de Fang y cols (16), proponen que los flavonoides inhiben el superenrollamiento del ADN al competir con el sitio de unión de ATP en la subunidad B de la ADN girasa (GyrB). En este mecanismo, los flavonoides que se enlazan al ADN estabilizan el complejo ADN-girasa, lo que provoca la inducción de la escisión del ADN. Además, señalaron que los grupos 3-hidroxilo, 5-hidroxilo, 7-hidroxilo y 4-carbonilo son sustituyentes de flavonoides que desempeñan un papel crucial al interactuar con residuos clave de GyrB.

Recopilación de estudios sobre fitocompuestos muestra que el biflavonoide amentoflavona, que se obtiene por acoplamiento oxidativo de dos moléculas de apigenina, dando como resultado un enlace entre las posiciones C-3 del anillo de hidroxifenilo y C-8 del anillo de cromeno, tiene un papel como inhibidor de la catepsina B, agente antiviral, inhibidor de la angiogénesis, inhibidor de P450 y

metabolito vegetal. De manera específica, se ha comprobado que antagonizan o inhiben la biosíntesis de los citocromos P-450 CYP3A y CYP2C9 (17).

En el estudio realizado por Alhadrami y col. (18) investigaron un conjunto de compuestos fenólicos vegetales comunes para determinar sus posibles efectos antibacterianos contra el *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Se descubrió que los flavonoides, son una clase prometedora de compuestos contra MRSA, particularmente los no glicosilados. Se evidenció que quercetina (-7,2, -7,2 kcal/mol), Kaempferol (-7,6, <-7,0 kcal/mol), Hesperetina (-9,6, -9,9 kcal/mol) son flavonoides glicosilados que pueden lograr una buena interacción con un sitio de unión a la proteína penicilina 2a (PBP2a). Se concluye que esta clase de metabolitos vegetales se considera prometedora como terapia anti-MRSA y puede valer como potencial punto de partida para un mayor progreso de antibióticos de origen vegetal más potentes o terapias adyuvantes.

Otro estudio mostró que flavonas del grupo de kuwanon G, kuwanon H, mulberrin y morusin tienen una alta eficacia contra diversos aislados de MRSA. Según el análisis de estructura-actividad, las ciclohexeno-fenilcetonas y los grupos isopentenilo fueron críticos para acrecentar la permeabilidad de la membrana y disipar la fuerza motriz de los protones. Mientras tanto, los estudios mecanicistas demostraron además que el kuwanon G mostraba una rápida actividad bactericida in vitro con dificultad para desarrollar resistencia a los medicamentos. Kuwanon G apuntó al fosfatidilglicerol y la cardiolipina en la membrana citoplasmática mediante las interacciones electrostática y la formación de enlaces de hidrógeno. Además, el kuwanon G promovió la cicatrización de heridas en un modelo de ratón de infección cutánea por MRSA (19).

En otro estudio, se analizaron un total de 284 fitoquímicos antimicrobianos utilizando el enfoque de acoplamiento molecular. Como valor umbral se utilizó la afinidad de unión de la meticilina, -11,241 kcal/mol. Se encontró que nueve eran buenos inhibidores de la PBP2a, entre los cuales la cianidina, la tetrandrina, la ciclomorusina, la lipomicina y la morusina (valor de la energía -13,755 kcal/mol) mostraron un fuerte potencial de unión con la proteína receptora. Estos fitoquímicos

mejor seleccionados también se acoplaron al sitio alostérico de PBP2a, y la mayoría de los compuestos revelaron fuertes interacciones con el sitio alostérico. La cianidina tuvo la mayor afinidad de unión con PBP2a y una alta absorción gastrointestinal (GI). Nuestros hallazgos sugieren que la cianidina puede usarse como fármaco contra la infección por MRSA, ya sea en forma purificada o que su estructura puede conducir al desarrollo de medicamentos anti-MRSA más potentes. (20)

En una amplia clasificaron 580 antraquinonas en función de sus energías de unión para *S. aureus*, de las cuales la 7,7'-bializarina (ZINC000004783172) exhibió el valor más alto para todas las ADN girasas de la subunidad B. Los resultados revelan el potencial de esta molécula para acoplar firmemente al sitio activo de la subunidad B de las girasas del ADN de *S. aureus*, por lo tanto, representa un candidato prometedor para futuras investigaciones enmarcadas en pruebas *in vitro* destinadas a evaluar su efecto antibacteriano (21).

En este sentido, otro estudio basado en el acoplamiento molecular y el modelo farmacofórico, cálculos de energía libre y simulaciones de dinámica molecular marcaron a la 1,8-dihidroxi-4,5-dinitroantraquinona (DHDNA) como el inhibidor más prometedor frente a *S. aureus*. Además, estos análisis sobresalieron la contribución del grupo nitro a la afinidad de esta antraquinona por el sitio de unión de nucleótidos de PPAT. El DHDNA fue activo *in vitro* frente a bacterias grampositivas con valores de concentración inhibidora mínima (CIM) de 31,25 µg/ml para *S. aureus*, mostrando actividad antimicrobiana (22).

Estudios anteriores han evidenciado la actividad antibacteriana de la sophoraflavanona G (una flavanona) contra MRSA (*S. aureus* resistente a la meticilina) y estreptococos. Al analizar el efecto de la sophoraflavanona G sobre la fluidez de la membrana utilizando membranas modelo liposomales y comparándola con la flaingenona naringenina (una flavanona menos activa), se demostró que la sophoraflavanona G aumenta significativamente la polarización de fluorescencia de los liposomas. Además, se comprobó que el glabrol, la licocalcona A, la licocalcona C y la licocalcona E mostraron una alta eficacia contra el *S. aureus* resistente a la

meticilina (MRSA). El acoplamiento molecular mostró que el glabrol se une al fosfatidilglicerol (PG), la cardiolipina (CAL) y lisil-PG mediante la formación de enlaces de hidrógeno. Las energías de interacción del glabrol con PG, CAL y lisil-PG fueron de $-20,550$, $-26,144$ y $-17,346$ kcal/mol, respectivamente mediante el programa Discovery Studio Client 2018. (23).

Un estudio llevado a cabo por Sosa de León (2020) se centró en la evaluación de la actividad antiadipogénica *in silico* de las flavonas disponibles en las semillas de haba. Según los hallazgos, las semillas frescas de haba exhibieron las concentraciones más elevadas de varios compuestos, incluyendo epicatequina (EC), ácido gálico, catequina, epigallocatequina (EGC), ácido clorogénico, quercetina, quercetina 3- β -D-glucósido y ácido cafeico. Al analizar la puntuación de energía de unión de PPAR γ , se observó que el ligando galato de epigallocatequina (EGCG) consiguió el mayor resultado, con una energía de unión de -9.5 kcal/mol, estableciendo puentes de hidrógeno con los residuos ARG280 y HIS266. En relación con C/EBP β , el ligando EC demostró una energía de unión de -4.43 kcal/mol y estableció dos puentes de hidrógeno en los residuos GLU336 y LYS332. Estos resultados llevaron a la conclusión de que el análisis *in silico* predice el potencial antiadipogénico de los flavonoides (EGCG y EC), por lo que conociendo el efecto antibacteriano de los flavonoides pudiera ser una opción evaluar este tipo de compuestos por acoplamiento molecular para este tipo de efecto frente *S.aureus* resistente a metilina (24).

El trabajo realizado por Velázquez-López y cols (2023) se enfocó en la evaluación de la capacidad antioxidante del gel de Aloe vera, así como en el análisis *in silico* para explorar el potencial terapéutico de sus componentes activos en la enfermedad de Alzheimer. A través del análisis *in silico*, se examinó la interacción potencial de ocho compuestos presentes en el gel de aloe vera con la proteína gamma secretasa. Los resultados revelaron una destacada actividad antioxidante del gel de aloe vera mediante pruebas como ABTS, DPPH y la reducción de radicales OH, con la capacidad de inhibir el 50% de los radicales utilizando concentraciones bajas, y mostrando correlaciones positivas con los niveles de fenoles totales y flavonoides.

En el estudio *in silico*, se observó que el compuesto más prometedor en términos de unión con la gamma secretasa fue la aloe-emodina, que presentó una energía libre de unión más baja (-4.13 Kcal/mol) y una concentración de constante de inhibición menor (< 1 mM), lo que sugiere su posible utilidad como coadyuvante en la terapia de Alzheimer. Por lo que conociendo el efecto antibacteriano de los flavonoides pudiera ser una opción evaluar este tipo de compuestos por acoplamiento molecular para este tipo de efecto frente *S. aureus* resistente a meticilina (25).

Gonzalez y cols (2021) mediante una exhaustiva búsqueda bibliográfica, se identificaron un total de 32 flavonoides, siendo los más comunes la quercetina, biochanina, daidzeína, formononetina y gliciteína, presentes en seis de las nueve frutas estudiadas. En relación con las vitales proteínas comprometidas en procesos crónicos inflamatorios, se obtuvieron 35 proteínas de la base de datos Polysearch2, utilizando un conjunto de interacción entre proteínas. Mediante análisis de intersección, se identificaron ocho proteínas hub (TNF, IL6, TLR4, STAT3, IL10, CXCL8, IL1 β e IL4), enriqueciendo especialmente funciones de las citoquinas y procesos biológicos relacionados con la respuesta del sistema inmunológico. Los flavonoides expusieron valores de analogía semejantes a los inhibidores detallados en la literatura, que oscilaron entre 5.6 y -8.7 Kcal/mol. Entre los flavonoides, morina (-8.2 kcal/mol) y ramnetina (-8.5 kcal/mol) demostraron mayor afinidad a los dos sitios valorados en la IL1 β , mientras que formononetina (-7.0 kcal/mol), diosmetina (-6.4 kcal/mol), fisetina (-7.9 kcal/mol), quercetina (-8.7 kcal/mol) y peonidina (-8.3 kcal/mol) mostraron mayor afinidad a IL6, CXCR2, TNF, TLR4 y STAT3, proporcionalmente (26).

En el estudio realizado por Cárdenas-Hernández y cols (2023) se examinó la afinidad de alianza de los compuestos bioactivos de 10 plantas utilizadas en México para enfermedades infecciosas, utilizando técnicas de acoplamiento molecular con dos portadores en línea disponibles: COVID-19 Docking Server y DockThor. Los resultados revelaron que Cypellocarpin B, Cypellocarpin C, Luteolina 7-glucósido y Syringetin glucopiranósido expusieron la elevada afinidad hacia las proteínas Mpro

y RdRp. Específicamente, la energía de unión del flavonoide Luteolina 7-glucósido con Mpro fue de -8.30 kcal/mol y -9.040 kcal/mol en los servidores CDS y DT, respectivamente, en comparación con el control de Remdesivir que obtuvo -8.30 kcal/mol y -7.919 kcal/mol, correspondientemente. En cuanto a la unión con RdRp, la energía obtenida con CDS fue de -10.00 kcal/mol para Luteolina 7-glucósido, mientras que en DT fue de -6.511 kcal/mol. Por otro lado, Remdesivir mostró valores de -9.20 kcal/mol en CDS y -7.330 kcal/mol en DT. Se resalta que la flavona Luteolina y sus derivados presentan una diversidad de efectos biológicos, entre las que se acentúan las propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias y anticancerígenas. Los resultados del acoplamiento molecular sugieren que el luteolin-7-glucoside podría latentemente inhibir la Mpro en el virus SARS-CoV-2 (27).

En resumen, los estudios *in silico* y el acoplamiento molecular son herramientas esenciales en la búsqueda de moléculas para enfrentar la resistencia antibiótica en *S. aureus*. Su capacidad para modelar interacciones moleculares y predecir la eficacia de los compuestos antimicrobianos ofrece una alternativa más en la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas. Con un enfoque multidisciplinario que integre la bioinformática, la química computacional y la microbiología, podemos abordar de manera más efectiva este desafío urgente y aportar con la salud pública contra las amenazas bacterianas resistentes a los antibióticos.

I.4.2.- Marco referencial:

I.4.2.1 *Staphylococcus aureus*

I.4.2.1.1 Generalidades

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram-positiva, esférica (cocos) que forma racimos característicos al observarse bajo el microscopio. Es una de las especies de bacterias más comunes y versátiles que se encuentran en el microbiota de los seres humanos, especialmente en las mucosas y piel. Se caracterizan porque retienen la tinción de color violeta-azulada en la tinción de Gram por la presencia de una capa gruesa de peptidoglicano en su pared celular. En el microscopio se puede apreciar la fina membrana plasmática, compuesta por fosfolípidos y proteínas (28).

El *S. aureus* pertenece al género *Staphylococcus*, la bacteria de este grupo más reconocida y estudiada. Constituye un patógeno oportunista capaz de provocar una amplia gama de infecciones, que van desde tipo tejidos blandas y cutáneas hasta infecciones severas como bacteriemia, endocarditis, osteomielitis, neumonía y síndrome de shock tóxico. Produce diversas toxinas que contribuyen a su virulencia, como la toxina de choque tóxico, las enterotoxinas (que causan intoxicación alimentaria) y las exotoxinas que dañan los tejidos (29).

Cuando existe inmunosupresión y predisposición en el huésped, *S. aureus* aprovecha la oportunidad para penetrar a los tejidos, adherirse a las células epiteliales y producir la infección. Además de su amplia distribución global, *S. aureus* ha representado un problema significativo de salud pública debido a su resistencia a varios antibióticos, incluidos los β -lactámicos (como la oxacilina), los aminoglucósidos (como la gentamicina y la amikacina), los macrólidos, las lincosamidas, las fluoroquinolonas y el cloranfenicol. La resistencia más destacada ha sido frente a la meticilina (MRSA) y, actualmente, la bacteria también ha comenzado a mostrar resistencia a la vancomicina (30).

Este microorganismo puede transmitirse de diversas formas, siendo las vías más comunes, la unión directa con una persona infectada o portadora de *S. aureus*, especialmente a través de lesiones cutáneas infectadas, heridas o secreciones nasales. La bacteria puede sobrevivir durante períodos variables en superficies y objetos contaminados, si un individuo se pone en contacto con elementos contagiados y posteriormente toca las mucosas o piel su piel, puede transferir la bacteria a sí misma (31).

También *S. aureus* puede contaminar los alimentos, las toxinas producidas por la bacteria en los alimentos contaminados pueden causar intoxicación alimentaria. Aunque menos común que otras vías, puede transmitirse mediante de gotículas que salen de las personas que tienen la infección por vía respiratorias al toser, hablar, o estornudar. En entornos hospitalarios, *S. aureus* puede propagarse de paciente a paciente mediante el contacto con personal médico o visitantes infectados, así como por medio de equipos médicos o dispositivos invasivos contaminados (31).

I.4.2.1.2 Clasificación

Staphylococcus aureus se puede clasificar dependiendo de los criterios que a continuación se menciona por Díaz de Medina (32):

1. Según producen en su metabolismo la enzima coagulasa:
 - *Staphylococcus* coagulasa positivos (incluyendo *S. aureus*): Estas bacterias producen la enzima coagulasa, la cual puede convertir el fibrinógeno presente en el plasma sanguíneo en fibrina, formando coágulos. *S. aureus* es el miembro más destacado de este grupo y es coagulasa positiva. La producción de coagulasa es una característica distintiva de esta especie (33).
 - *Staphylococcus* coagulasa negativos (incluyendo *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*): Estas bacterias no producen la enzima coagulasa y, por lo tanto, no forman coágulos en el plasma sanguíneo. *S. epidermidis* es una especie común que forma parte del microbiota normal de la piel humana. Aunque generalmente es una bacteria comensal, puede producir contagios oportunistas, principalmente en individuos con dispositivos médicos implantados, como catéteres intravenosos o prótesis. *S. saprophyticus* es otra especie coagulasa negativa que puede causar infecciones del tracto urinario, siendo una de las principales causas de cistitis en mujeres jóvenes sexualmente activas (33).

Esta clasificación basada en la producción de coagulasa es útil desde un punto de vista clínico, ya que *S. aureus*, siendo coagulasa positiva, generalmente se asocia con infecciones más graves y una mayor capacidad patogénica en comparación con las especies coagulasa negativas.

2. Según la presencia de la proteína A:
 - *Staphylococcus aureus* puede clasificarse en cepas que poseen o no la proteína A de superficie. La generalidad de las cepas de *S. aureus* son productoras de proteína A, la cual tiene un papel importante en la patogenicidad de la bacteria (32).

3. Según la sensibilidad a los antibióticos:

- Se basa en la respuesta de la bacteria a los antibióticos. Una de las clasificaciones más importantes es la diferenciación entre *S. aureus* sensible a meticilina (MSSA) y *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), esta última siendo una preocupación importante debido a su resistencia a múltiples antibióticos (33).

4. Según el perfil de resistencia antibiótica:

- *Staphylococcus aureus* puede clasificarse según su resistencia a otros antibióticos, como la vancomicina, la clindamicina, la eritromicina, entre otros. Esto es importante para determinar las opciones de tratamiento (33).

5. Según la producción de toxinas:

- *Staphylococcus aureus* produce varias toxinas, incluyendo enterotoxinas, toxina de choque tóxico, exfoliatina, entre otras. Dependiendo de qué toxinas produzca una cepa específica, puede tener un impacto en la gravedad y el tipo de enfermedad que cause (33).

6. Según la epidemiología:

- En entornos clínicos, *S. aureus* puede clasificarse en cepas hospitalarias (asociadas con infecciones adquiridas en hospitales) y cepas comunitarias (asociadas con infecciones adquiridas fuera del entorno hospitalario) (32).

I.4.2.1.3 Epidemiología

A nivel global, *S. aureus* es un patógeno responsable de diversas enfermedades infecciosas y, con el tiempo, se ha transformado en una bacteria multirresistente a los antibióticos. Este microorganismo es una causa significativa de morbilidad y mortalidad en pacientes pediátricos, quirúrgicos y aquellos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). En Estados Unidos, el Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (NNIS, por sus siglas en inglés) informó en 2020 que

las infecciones causadas por *S. aureus* están en aumento, estimando que el 60% de los pacientes hospitalizados sufren infecciones por esta bacteria (35).

La prevalencia de *S. aureus* mundialmente puede variar según el país y las condiciones específicas de salud y sanitarias de cada región. En general, se ha observado una alta prevalencia de infecciones por *S. aureus*, tanto en la colectividad como en el ámbito hospitalario. Además, el aumento de la resistencia a los antibióticos, incluida la resistencia a la metilina (MRSA), es un inconveniente creciente en la región. Como reporta la OMS para el 2020 el porcentaje de *S. aureus* resistente a metilina (SARM) a nivel mundial se comportó en el 35%, siendo Arabia Saudita (49%), Argentina (38%), Camboya (68%), Chipre (50%) y Estados Unidos (63%) los más representativos (36).

De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (PAHO), en 2016 la frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA) en hospitales ecuatorianos fue del 25%. No obstante, desde entonces, la tasa de infecciones ha ido incrementándose continuamente hasta la fecha (37).

Estudio realizado en un Hospital de especialidades en Quito, Ecuador, en el 2021, de encontró que el 95 % de los colaboradores mostraban *Staphylococcus*, específicamente el 12,5 % con *S. aureus* metilino resistente. Conjuntamente, el servicio con distribución mayor de SARM fue Cuidados Intensivos con el 13,19 %. El personal de enfermería con un 31% fueron portadores de *S. aureus* SARM (38).

De acuerdo con datos obtenidos por Cuenca, en 2015 Ecuador reportó un 5,1% de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*. En los años siguientes, se registraron casos adicionales de neumonía, lo que llevó a la conclusión de que el país continúa enfrentando un problema de salud pública debido a la alta incidencia de enfermedades relacionadas con esta bacteria (39).

En un estudio llevado a cabo por Álvarez y Alao (2010) en el Hospital Vicente Corral Moscoso y el Hospital Militar de Cuenca, se analizaron 150 cultivos de *Staphylococcus aureus* obtenidos de muestras de hisopados nasales. De estas muestras, se aislaron 55 cepas de *S. aureus*. Los resultados mostraron que el 37% del personal hospitalario eran portadores nasales de esta bacteria (29).

I.4.2.1.4 Principales enfermedades

Staphylococcus aureus es responsable de una amplia variedad de enfermedades, tanto superficiales como sistémicas, que pueden ser leves, moderadas o graves, dependiendo de varios factores, incluyendo la salud del huésped, la virulencia de la cepa bacteriana y la susceptibilidad a los antibióticos (33).

Infecciones cutáneas y de tejidos blandos

Staphylococcus aureus es una de las primordiales causas de enfermedades de los tejidos blandos y la piel. Estas infecciones incluyen forúnculos, foliculitis, abscesos cutáneos, impétigo y celulitis (33).

Neumonía

Staphylococcus aureus puede causar neumonía, esencialmente en personas con sistemas inmunitarios comprometidos o que están hospitalizadas. La neumonía por *S. aureus* puede ser grave y potencialmente mortal (33).

Bacteriemia y septicemia

La bacteriemia es conlleva a la aparición de bacterias en la sangre, mientras que la septicemia es una respuesta inflamatoria sistémica grave causada por bacterias u otros agentes infecciosos en la sangre. *S. aureus* es una causa importante de bacteriemia y septicemia, especialmente en pacientes hospitalizados.

Endocarditis

La endocarditis es una infección de la membrana interna del corazón y las válvulas cardíacas. *S. aureus* es una de las principales causas de endocarditis bacteriana, que puede ser mortal si no se trata adecuadamente (33).

Osteomielitis

Esta es una infección del hueso que puede ser causada por *S. aureus*. Puede ocurrir como una complicación de una infección de tejidos blandos o como resultado de la diseminación de la bacteria a través del torrente sanguíneo (33).

Infecciones del tracto urinario

Aunque menos comunes que otras infecciones, *S. aureus* puede causar infecciones del tracto urinario, especialmente en personas con factores de riesgo, como catéteres urinarios (33).

Síndrome del shock tóxico

Esta es una enfermedad latentemente mortal producida por la producción de toxinas por parte de ciertas cepas de *S. aureus*. Se caracteriza por fiebre, erupción cutánea, hipotensión y disfunción multiorgánica (32).

Es importante destacar que *S. aureus* puede causar una amplia gama de otras enfermedades, y la gravedad de la enfermedad puede variar significativamente de un individuo a otro. Además, el acrecentamiento de la resistencia a los antimicrobianos, especialmente la resistencia a la meticilina (MRSA), ha complicado la terapia de las infecciones por *S. aureus* y ha aumentado la morbimortalidad asociada con estas enfermedades (39).

4.2.1.5 Principales tratamientos usados para tratar enfermedades por *S. aureus*

- Penicilinas

Históricamente, la penicilina ha sido un tratamiento efectivo para las infecciones por *Staphylococcus aureus* sensible a la penicilina. Sin embargo, debido a la aparición de cepas resistentes, como el *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA), en muchos casos ya no es efectiva (30).

-Cefalosporinas

Algunas cepas de *S. aureus* son sensibles a las cefalosporinas de primera generación, pero también han surgido cepas resistentes (10).

-Carbapenémicos

Son un tipo de antibióticos que tienen la capacidad de matar bacterias. Actúan de manera similar a las penicilinas al detener la producción de una parte importante de la pared celular de las bacterias, lo que las hace más débiles y propensas a morir. Estos antibióticos bloquean una enzima llamada transpeptidasa, que es

fundamental para que se forme la pared celular bacteriana, y también causan daño directo a la estructura celular, lo que lleva a la ruptura de las bacterias (40).

Algunos ejemplos comunes de carbapenémicos incluyen Imipenem, Meropenem, Ertapenem y Doripenem. Estos medicamentos son ampliamente utilizados para atender enfermedades causadas por bacterias de tipo grave en pacientes hospitalizados, principalmente aquellas originadas por bacterias resistentes a otros tipos de antibióticos (40).

Las infecciones provocadas por *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) pueden ser extremadamente graves y están entre las más comunes entre las amenazas resistentes a los antibióticos. Las enterobacterias resistentes a los carbapenémicos (CRE) son un conjunto de bacterias que han desarrollado resistencia a casi todos los antibióticos disponibles, incluidos los carbapenémicos, que suelen ser utilizados como último recurso para tratar patógenos resistentes a los fármacos (30).

-Monobactámicos

Funcionan al detener la producción de una parte clave de la pared celular de las bacterias, pero se enfocan específicamente en la última etapa de este proceso. Esto afecta tanto a las bacterias Gram-negativas como a las Gram-positivas, aunque su efecto es menos notable en estas últimas. El monobactámico Aztreonam es el único que se utiliza en la práctica clínica. Este medicamento es útil para tratar una variedad de infecciones bacterianas en los pacientes (34).

-Macrólidos

Son una opción de tratamiento cuando hay resistencia a las penicilinas o cuando los pacientes tienen alergia a ellas. Estos medicamentos funcionan deteniendo la producción de proteínas en las bacterias. Lo hacen uniendo una parte específica del ribosoma bacteriano, llamada sitio P en la subunidad 50S. Al unirse, bloquean la elongación de las proteínas, lo que interrumpe el proceso de fabricación de proteínas en las bacterias. Algunos ejemplos comunes de macrólidos incluyen la claritromicina, azitromicina y eritromicina. Estos medicamentos se utilizan

ampliamente para tratar diversas infecciones bacterianas en pacientes que no pueden usar penicilinas (29).

-Vancomicina y teicoplanina

Estos son antibióticos de último recurso utilizados para tratar infecciones por MRSA y otras cepas resistentes a la meticilina (40)..

-Otros antibioticos

Linezolid, daptomicina y tigeciclina son otros antibióticos que se utilizan para tratar infecciones por MRSA y otras cepas resistentes. Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX), asimismo puede ser efectivo en la terapia de ciertas enfermedades de los tejidos blandos y la piel causadas por cepas sensibles (40).

Es importante destacar que la terapia determinada para las infecciones originadas por *S. aureus* debe ser determinado por un médico, quien tendrá en cuenta la gravedad de la enfermedad, la sensibilidad de la bacteria a los antibióticos y otros factores clínicos relevantes. Además, el uso apropiado de los antimicrobianos y la prevención de la resistencia bacteriana son fundamentales para garantizar el éxito del tratamiento a mayor tiempo.

Farmacología de la meticilina

La meticilina es un antibiótico perteneciente al grupo de las penicilinas, específicamente a la clase de penicilinas resistentes a las enzimas beta-lactamasas, llamadas también penicilinas antiestafilocócicas.

Mecanismo de acción

La meticilina procede inhibiendo la síntesis de la pared celular de la bacteria. Se une de manera irreversible a las proteínas de enlace de penicilina (PBPs) en la membrana citoplasmática bacteriana. Esta alianza inhibe la transpeptidación, una etapa esencial en la síntesis del peptidoglicano, que es un elemento puntual de la pared celular bacteriana. Como resultado, las bacterias son incapaces de construir una pared celular adecuada y se vuelven vulnerables a la lisis osmótica (41).

Espectro de acción

La metililina es segura contra una amplia gama de bacterias Gram-positivas, incluyendo *S. aureus*, *S. pyogenes* y *S. pneumoniae*. Aunque, no es efectiva contra bacterias Gram-negativas por su falta de capacidad para penetrar la cubierta externa de este patógeno (42).

Farmacocinética

Absorción: La metililina se administra generalmente por vía enteral, pero igualmente puede administrarse por vía intravenosa. La absorción oral es variable y se ve afectada por los alimentos que se hallan en el estómago (41).

Distribución: Se esparce considerablemente en fluidos del cuerpo y tejidos, consiguiendo concentraciones óptimas de la dosis en la piel, pulmones, huesos y tejidos blandos. No atraviesa bien la barrera hematoencefálica (41).

Metabolismo: La metililina es metabolizada en el hígado a metabolitos inactivos.

Eliminación: Se elimina principalmente por la orina, tanto en forma activa como inactiva. La vida media de eliminación es corta, generalmente alrededor de una hora (41)

Indicaciones clínicas

La metililina se usa principalmente para atender infecciones producidas por bacterias Gram-positivas, especialmente *S. aureus* sensible a metililina (MSSA). Sin embargo, debido a la prevalencia creciente de *S. aureus* resistente a la metililina (MRSA), su uso ha disminuido en favor de otros antibióticos, como la vancomicina o el linezolid, para tratar infecciones por MRSA (39).

Efectos adversos

Los efectos secundarios más frecuentes de la metililina contienen reacciones alérgicas como erupción cutánea, prurito y fiebre. Así mismo, puede producir efectos secundarios gastrointestinales. En casos raros, puede provocar nefritis intersticial y reacciones hematológicas como anemia y trombocitopenia (40).

La metilina es un antibiótico importante en la terapia de enfermedades bacterianas causadas por *Staphylococcus aureus* sensible a metilina, aunque su uso se ha reducido últimamente debido al incremento de la resistencia bacteriana.

I.4.2.1.6 Resistencia de *S. aureus* frente antibióticos

La pared de las bacterias del *S. aureus* ofrece protección y resistencia contra varios antibióticos, especialmente aquellos antimicrobianos que necesitan atravesar la membrana plasmática para actuar dentro de la bacteria. No obstante, la pared celular de estas bacterias es un objetivo viable, ya que se han desarrollado antimicrobianos que atacan directamente esta estructura. La transferencia de resistencia entre bacterias Gram-positivas mediante plásmidos es complicada debido a la gruesa capa de peptidoglicano que poseen (43).

Actualmente, las enfermedades bacterianas se han convertido en un desafío médico significativo, ya que las bacterias han desarrollado resistencia a los antibióticos. Esto se debe a diversas razones, como mutaciones y la transferencia de genes de resistencia entre microorganismos del mismo o diferentes géneros. Los mecanismos responsables de esta resistencia incluyen la alteración de la permeabilidad de la membrana, el eflujo de antibióticos y la modificación de fármacos mediante la acción enzimática. Estos problemas de resistencia se han observado en microorganismos como los coliformes, *S. aureus* y *S. pyogenes*, entre otros (37).

S. aureus tiene varios mecanismos de resistencia a la metilina y otros antibióticos beta-lactámicos.

Producción de proteínas de unión modificadas (PBP2a)

El mecanismo principal de resistencia a la metilina en *S. aureus* implica la síntesis de una proteína de unión a la penicilina sobresaltada, nombrada como PBP2a (Penicillin-Binding Protein 2a). Esta proteína posee una afinidad menor por los fármacos beta-lactámicos, incluida la metilina, lo que le consiente seguir sintetizando la pared celular bacteriana incluso en presencia de estos antibióticos.

La PBP2a es codificada por el gen *mecA*, que se localiza en un elemento genético móvil conocido como cassettes cromosómicos estafilocócicos (SCCmec). Esta situación implica que, con las concentraciones de β -lactámicos alcanzadas in vivo, no se forma el complejo acil-enzima entre el antimicrobiano y la PBP2a. Como resultado, la función de transpeptidación de la enzima se preserva, lo que permite el entrecruzamiento de las hebras de peptidoglicano (5).

Elementos genéticos móviles (SCCmec)

Los genes responsables de la resistencia a la meticilina, incluido *mecA*, se encuentran comúnmente en elementos genéticos móviles llamados cassettes cromosómicos estafilocócicos (SCCmec). Estos elementos genéticos se pueden transferir entre diferentes cepas de *S. aureus*, así como entre especies de estafilococos, lo que facilita la expansión de la resistencia a los antibióticos (5).

Regulación de la expresión génica

Otro mecanismo de resistencia a la meticilina en *S. aureus* implica la regulación de la expresión génica. La bacteria puede reducir la cantidad de PBP2a producida o regular otros genes involucrados en la resistencia a los antimicrobianos para reducir su susceptibilidad a la meticilina (5).

Formación de Biofilm

S. aureus es capaz de formar biofilms, que son comunidades bacterianas adheridas a superficies bióticas o abióticas. Los biofilms proporcionan un entorno protegido que favorece la supervivencia de las bacterias y puede hacerlas más resistentes a los antibióticos, incluida la meticilina (44).

Producción de enzimas beta-lactamasas

Mediante la fabricación de enzimas beta-lactamasas que frenan a los antibióticos beta-lactámicos, aunque este mecanismo es menos común en cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA).

Otra variedad de *S. aureus* que muestra un bajo nivel de resistencia a la meticilina a través de un mecanismo independiente de *mec* son las cepas MOD-SA (modified

PBP). Estas cepas se denominan así debido a modificaciones en sus PBPs nativas, aparentemente causadas por la acumulación de mutaciones en los dominios transpeptidasa. Aunque los aislados con estos mecanismos pueden ilustrar bien la diversidad genética bacteriana que da lugar a diferentes mecanismos de resistencia a un mismo antimicrobiano, es importante señalar que constituyen una minoría en comparación con la prevalencia mucho mayor de la resistencia a la meticilina mediada por el gen *mecA*, especialmente en el ámbito de la medicina humana (5).

I.4.2.2 Flavonoides

I.4.2.2.1 Generalidades, Definición, Estructura, Orígenes y funciones

Los flavonoides son compuestos fenólicos caracterizados por una estructura base de C₆-C₃-C₆ y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, abarcando alrededor de 2,000 especies pertenecientes a diversas familias (45). Estos compuestos se encuentran predominantemente en las plantas superiores, especialmente en las partes aéreas como hojas, flores y frutos (46).

Los flavonoides son de bajo peso molecular, y su estructura fundamental (flaván) consta de dos anillos fenilo (A y C) conectados por un puente de tres carbonos que forma un anillo heterocíclico oxigenado (anillo B) (47). Como se observa en la siguiente Figura 1.

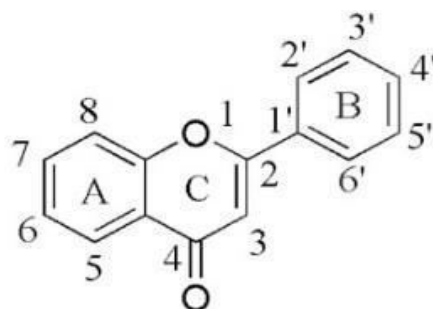


Figura 1: Estructura molecular base de los flavonoides. Wang T, Li Q., 2018 (48)

Los flavonoides se clasifican según los grados de oxidación e insaturación del anillo heterocíclico. Las principales clases de flavonoides incluyen:

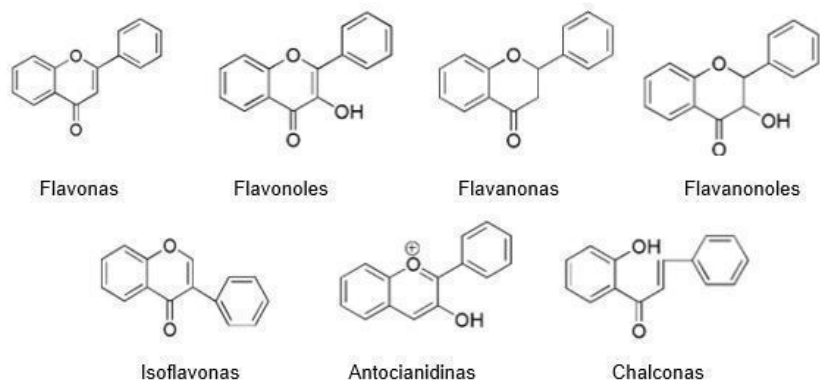


Figura 2: Estructura de los principales flavonoides. Wang T, Li Q., 2018 (48)

Los flavonoides pueden dividirse en distintos subgrupos según el carbono del anillo C al que está conectado el anillo B y el grado de insaturación y oxidación del anillo C. Los flavonoides donde el anillo B se une en la posición 3 del anillo C son llamados isoflavonas. Aquellos con el anillo B unido en la posición 4 se conocen como neoflavonoides. En cambio, los flavonoides con el anillo B unido en la posición 2 se subdividen en varios subgrupos basados en las peculiaridades de la estructura del anillo C (49).

Los subgrupos incluyen: flavonas ($C_{15}H_{10}O_2$), isoflavonoides (3-fenil-1,4-benzopirona), flavonoles ($C_{15}H_{10}O_3$), flavanoles, antocianinas (2-fenil-benzopirilio), chalconas ($C_{15}H_{12}O$) y flavanonas ($C_{16}H_{14}O_6$). La estructura esencial de los flavonoides, puede experimentar diversas modificaciones, como la adición o eliminación de grupos hidroxilo, la metilación de grupos hidroxilo o del núcleo del flavonoide, la dimerización, y en algunos casos, la glicosilación del núcleo o de los grupos hidroxilo de Iso flavonoides (50).

Los flavonoides se encuentran en todas las partes de las plantas. Las flavonas y flavonoles son las más comunes, mientras que las isoflavonas, chalconas y auronas están presentes en menor proporción (51).

Los flavonoides se hallan en el reino vegetal y se extraen de diversas plantas, flores, semillas, verduras, frutas y varias bebidas con alcohol hechas de frutas. Estos compuestos están presentes en todas las partes de las plantas, especialmente en las partes aéreas (52).

En muchas frutas, los flavonoides son compuestos abundantes como las flavonoles, catequinas, proantocianidinas y antocianinas. Los flavonoles, como la kaempferol y quercetina que son especialmente ricos en ciertas hortalizas como las cebollas, brócoli, col, lechuga, tomate y rábano del género *Allium*, *Brassica*, *Lactuca*, *Lycopersicon* y *Raphanus*, respectivamente. Por otro lado, las flavonas se hallan en vegetales como el apio, perejil, pimientos y ciertos tipos de lechuga, mientras que los pimientos verdes son notables por contener tanto flavonoles como flavonas (53).

Las raíces de los vegetales y las verduras generalmente no contienen cantidades reveladoras de proantocianidinas y catequinas, a diferencia de las legumbres que son una excelente fuente de estos compuestos. Por otro lado, las lechugas rojas y cebollas son alimentos que destacan por su contenido en antocianinas, especialmente glicósidos de cianidina. Además, el maíz morado presenta una variedad rica en antocianinas, incluyendo cianidina-3-glucósido y varios glicósidos de delphinidina, pelargonidina y peonidina (53).

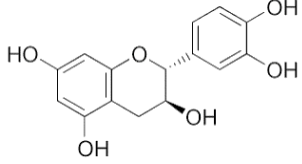
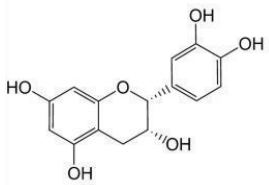
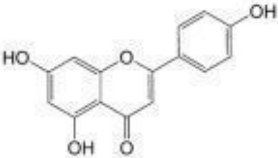
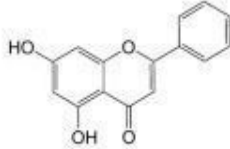
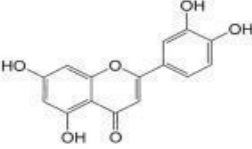
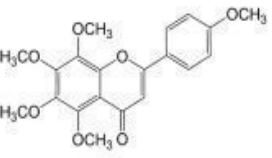
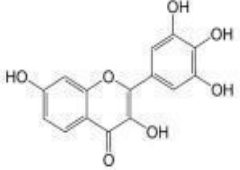
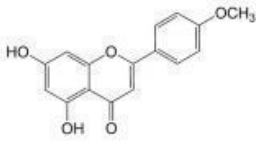
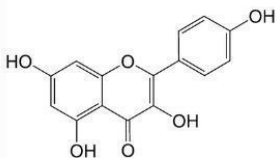
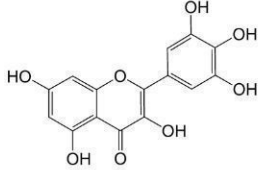
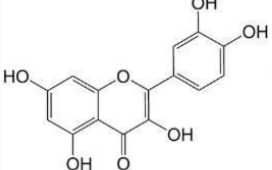
Las flavanonas como el eriodictiol y la naringenina son comunes en cultivos como la cebada, el mijo, centeno y el sorgo. Además, en las cáscaras de avena se encuentra una flavanona, el homoeriodictiol, junto con sus chalconas, que se producen como parte de su biosíntesis (54).

El té es reconocido como una rica fuente de taninos y polifenoles en la dieta, destacando componentes clave como la epigallocatequina-galato (EGCG) que constituye aproximadamente el 50%, y la epicatequina-galato (ECG) que representa alrededor del 27%. Además, se encuentran en el té verde otros flavonoides importantes como la epigallocatequina (EGC), epicatequina (EC), y varias catequinas. También contiene flavonoides adicionales como kaempferol miricetina y quercetina (53). La presente figura muestra un resumen de los tipos y fuentes de flavonoides.

El té es la fuente alimenticia más importante de polifenoles y taninos, y sus principales componentes son epigallocatequina-galato (EGCG) con cerca del 50 % y epicatequina-galato (ECG) 27 %, epicatequina (Ec), epigallocatequina (EGC) y catequinas contenidas en té verde. El té también contiene otros flavonoides, como

miricetina kaempferol y quercetina (53). La presente figura muestra un resumen de los tipos y fuentes de flavonoides.

Tipos y fuentes de flavonoides

Clase	Fuente
<p style="text-align: center;">Flavanoles</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>(+)- catequina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(-)-epicatequina</p> </div> </div>	<p>Té verde</p>
<p style="text-align: center;">Flavonas</p> <div style="display: grid; grid-template-columns: repeat(3, 1fr); gap: 10px;"> <div style="text-align: center;">  <p>apigenina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>crisina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>luteolina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>tangeritina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>robetina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>acacetina</p> </div> </div>	<p>Vino tinto, piel de frutas, trigo, piel de tomate, pimiento rojo, perejil, apio, piel de cítricos</p>
<p style="text-align: center;">Flavonoles</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>kaempferol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>miricetina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>quercetina</p> </div> </div>	<p>Col rizada, cebolla, puerros, arándanos, brócoli, vino tinto, aceite de oliva, té, pomelo y frutos del bosque</p>

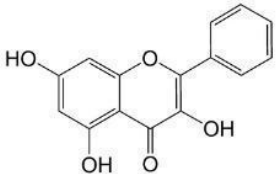
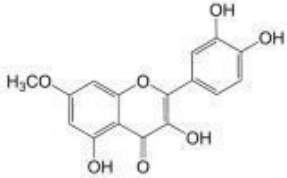
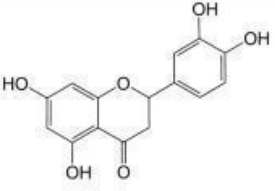
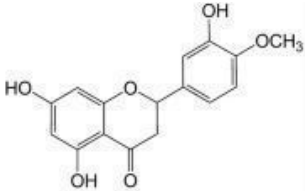
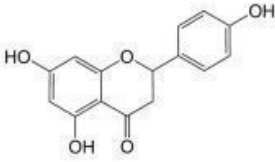
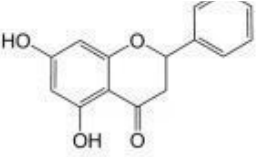
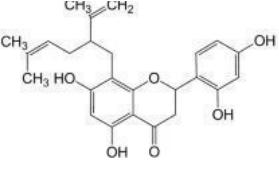
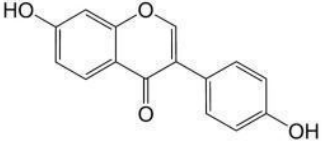
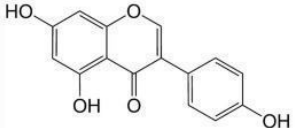
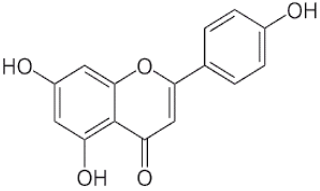
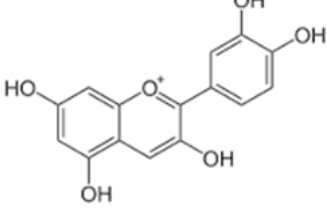
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>galangina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>rhamnetina</p> </div> </div>	
<p style="text-align: center;">Flavanonas</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>eriodictiol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>hesperitina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>naringenina</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p>pinocembrina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>sophoraflavonona G</p> </div> </div>	<p>Pomelo, frutas cítricas, limón, jitomate, naranja, jitomate y menta</p>
<p style="text-align: center;">Isoflavonas</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>daidzeina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>genisteina</p> </div> </div>	<p>Cacahuete, soja y leguminosas</p>
<p style="text-align: center;">Antocianidinas</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>apigenidina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>cianidina</p> </div> </div>	<p>Mora, cereza, fresa, cereales, vino tinto frijoles, berenjenas y rábanos.</p>

Figura 1: Tipos y fuentes de flavonoides. Górnaiak I, Bartoszewski R, Króliczewski J., 2018 (55)

La biosíntesis de los flavonoides es un proceso enzimático que convierte precursores comunes del metabolismo de los fenilpropanoides en una variedad de compuestos flavonoides mediante una serie de reacciones específicas, contribuyendo así a la diversidad química y funcional de estos importantes metabolitos secundarios en las plantas (56).

Todos los flavonoides, en las plantas se producen a partir de chalconas, que son compuestos intermedios de la ruta fenilpropanoide. La formación de las estructuras fundamentales de los flavonoides involucra principalmente tres grupos de enzimas: oxigenasas que dependen del 2-oxo glutarato, hidroxilasas del citocromo P450, y reductasas que requieren NADPH como cofactor (57). Como se observa en la siguiente figura.

Ha surgido un gran interés por el estudio de los flavonoides debido a los beneficios que aporta a la salud. Entre los efectos que están relacionados con los flavonoides son de poseer acción antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, cardioprotectora y neuroprotectora. Además de inhibir infecciones bacterianas, virales o fúngicas, el desarrollo de tumores y de la capacidad de interactuar con un amplio número de proteínas como enzimas, proteínas de tejido y receptores de membrana, modulando de forma específica su actividad

Los flavonoides han despertado considerable interés en la investigación debido a sus múltiples beneficios para la salud. Se ha demostrado que poseen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, neuroprotectoras y cardioprotectoras. Además, tienen la capacidad de inhibir infecciones bacterianas, fúngicas y virales, así como de influir en el desarrollo de tumores. Los flavonoides también pueden interactuar con diversas enzimas, receptores de membrana y proteínas de tejido, modulando específicamente su acción (59).

Algunos flavonoides muestran un potencial prometedor como agentes antibacterianos debido a su capacidad para dirigirse específicamente a células bacterianas y para inhibir factores de virulencia. Además, pueden combatir amenazas bacterianas como la alineación de biopelículas (60).

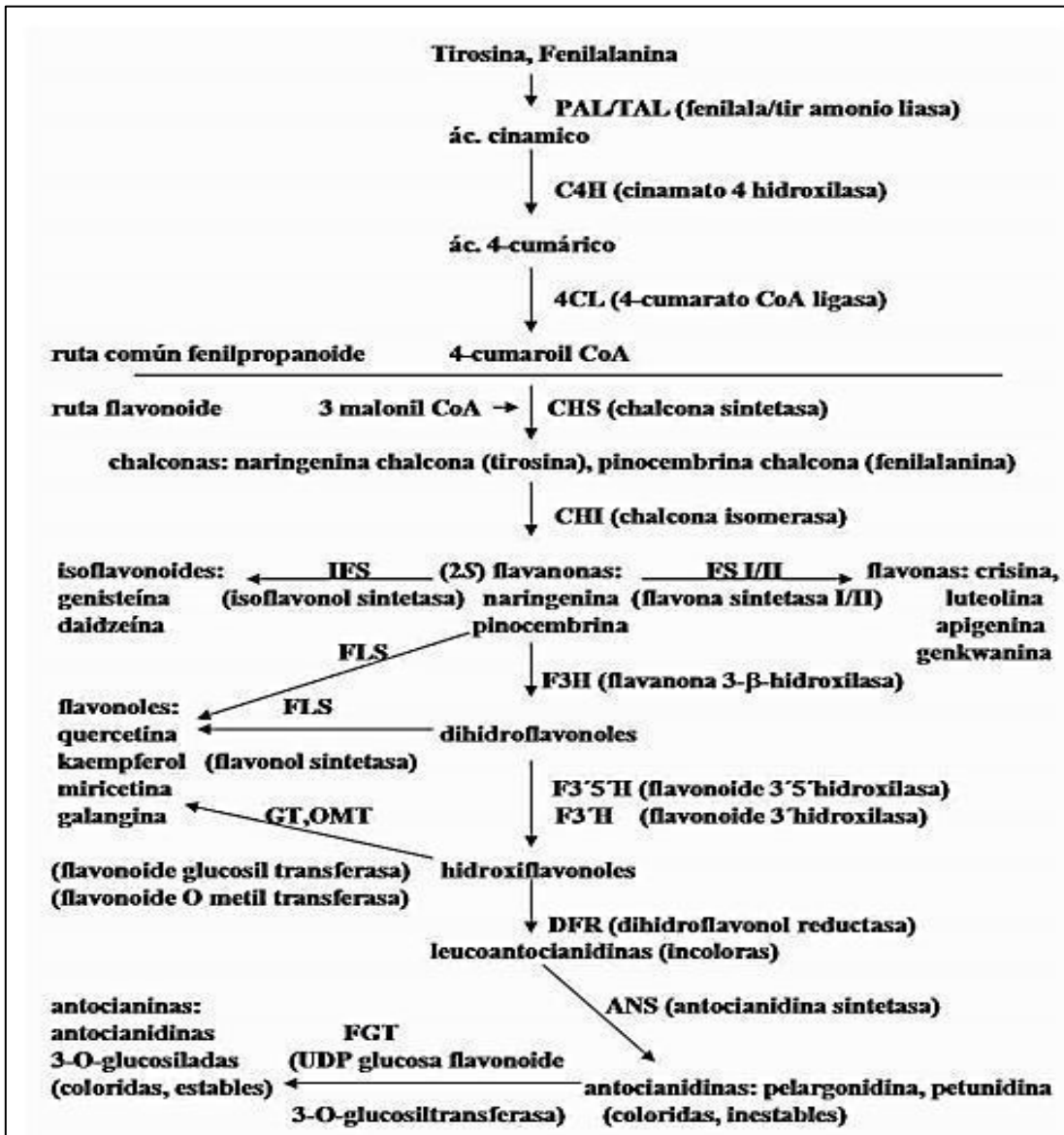


Figura 2: Ruta fenil propanoide y ruta flavonoide. Drago Serrano Ma., 2017 (58)

Compuestos como la genisteína (isoflavona), la quercetina (flavonol), la naringenina (flavanona), la bioanina A (isoflavona O-metilada), la hesperetina (flavanona), los flavan-3-oles del té verde, como la (-)-epigallocatequina (ECG), (-)-galocatequina (GC) y la (-)-epigallocatequina galato (EGCG), han demostrado tener la capacidad de inhibir la actividad de la glicoproteína P en modelos animales utilizando células cultivadas (61).

Se ha observado que varios tipos de flavonoides, como la flavona, apigenina, la galangina, las isoflavonas, los glicósidos de flavonol, las chalconas y las flavanonas exhiben un notable efecto antibacteriano (62). En particular, las flavonas en la actualidad han generado un interés entre los químicos medicinales debido a la amplia gama de actividades biológicas y sus relaciones estructura-actividad (63).

Ha sido ampliamente estudiado el flavonoide morina (flavonol) (2-(2,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxicromen-4-ona), el cual mostró actividad inhibitoria contra *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*. Estudios *in vivo* de alteración de la patogénesis bacteriana incluye eficacia demostrada contra *S. aureus*. Además de las actividades directas y sinérgicas, los flavonoides inhiben una serie de factores de virulencia bacteriana, incluidos los receptores de señales sensibles al quórum sensing, las enzimas y las toxinas (64).

El flavonoide morina (2-(2,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxicromen-4-ona) ha sido objeto de extensos estudios debido a su capacidad inhibitoria contra bacterias como *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus* y *B. subtilis*. Investigaciones *in vivo* han demostrado su efectividad en alterar la patogénesis bacteriana, especialmente contra *S. aureus*. Así como de sus acciones sinérgicas y directas, los flavonoides también inhiben varios factores de virulencia bacteriana, incluyendo receptores de señales regulados por quórum sensing, toxinas y enzimas.

Mecanismos de acción antibacteriana de los flavonoides

Se ha documentado que los flavonoides son efectivos inhibidores de las topoisomerasas, lo cual contribuye a su efecto antimicrobiana. Un ejemplo destacado es la ADN girasa, una enzima crucial en la replicación del ADN que está presente exclusivamente en organismos procariotas. Por esta razón, la ADN girasa representa un propósito valioso para los fármacos antimicrobianos (62).

Investigaciones ejecutadas con predecesores radioactivos manifestaron que la síntesis de ADN se inhibe fuertemente por las flavonas en *Proteus vulgaris*, para la síntesis de ARN fue más dañada en *S. aureus*. Los flavonoides con mejor acción

fueron: miricetina (flavonol), (-) - epigallocatequina (flavanol) y robinetina (flavona) (65).

Se ha comprobado que una variante de *S. aureus* resistente a las 4-quinolonas mostró una susceptibilidad más alta a la galangina, un flavonol, en comparación con otras cepas sensibles y resistentes a dicha quinolona. Lo que podría indicar que la galangina ejerce su acción antibacteriana a través de la topoisomerasa IV y la enzima girasa, que son relativamente similares en estructura y función (65).

Estudios de acoplamiento molecular realizados por Fang et al. (2016) y Plaper et al. (2003) han propuesto el mecanismo mediante el cual los flavonoides inhiben la ADN girasa. Sugieren que los flavonoides actúan competitivamente en el sitio de unión de ATP de la subunidad B de la ADN girasa (GyrB), impidiendo el superenrollamiento del ADN. En este proceso, los flavonoides se unen al ADN y estabilizan el complejo ADN-girasa, lo cual induce la ruptura del ADN. Fang et al. (2016) han observado que los grupos 3,5 y 7 -hidroxilo y 4-carbonilo son esenciales para la actividad de los flavonoides al interactuar con residuos clave de GyrB. Este resultado está en correspondencia con estudios anteriores de Wu et al. (2013) (55)

Estudios anteriores han confirmado que la sophoraflavanona G, una flavanona, exhibe efecto antibacteriano contra estreptococos y MRSA (*S. aureus* resistente a meticilina). Se ha estudiado el efecto de la sophoraflavanona G en la fluidez de la membrana empleando modelos liposomales y al compararla con la naringenina, una flavanona menos activa. Los resultados mostraron que la sophoraflavanona G aumenta significativamente la polarización de fluorescencia de los liposomas, lo cual indica una alteración en la fluidez de la membrana en regiones tanto hidrofílicas como hidrofóbicas. Este cambio sugiere que la sophoraflavanona G reduce la fluidez de las capas externa e interna de la membrana celular bacteriana, lo que contribuye a su actividad antimicrobiana (64).

Se ha propuesto la teoría de que las licochalconas afectan el metabolismo energético, dado que se necesita energía para la atracción activa de varios metabolitos y para la síntesis de macromoléculas. Estudios han demostrado que las

licochalconas tienen un fuerte efecto inhibitorio sobre el consumo de oxígeno en bacterias como *S. aureus* y *M. luteus*, pero no en *E. coli*. También, se observó que las licochalconas A y C inhiben específicamente la enzima NADH-citocromo c reductasa, sin afectar al citocromo c oxidasa o a la NADH-CoQ reductasa (65).

Se han estudiado complejos de metal-quercetina, incluyendo los de cobalto (II), cadmio (II) y manganeso (II), los cuales han mostrado un efecto antibacteriano considerablemente más alta que la quercetina sola contra bacterias como *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *B. cereus*. Esto resalta el potencial de los complejos y combinaciones de metal-polifenoles como agentes efectivos en el tratamiento antibacteriano (66).

Las catequinas ejercen un efecto antibacteriano al interactuar con las membranas celulares bacterianas. Este proceso implica la unión de las catequinas a la doblecapa lipídica, lo que resulta en la ruptura de la membrana bacteriana y la inhibición de la síntesis de enzimas tanto intracelulares como extracelulares. Se ha observado que las catequinas son menos efectivas contra bacterias Gram-negativas en comparación con las Gram-positivas. En el caso de la cepa de *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA), la ruptura de la membrana inducida por las catequinas provocó una pérdida de potasio, lo que es un indicio inicial de daño en la membrana de estos microorganismos (60).

Budzynska y colaboradores (2011) llevaron a cabo una investigación que destacó la actividad antimicrobiana de las 3-ariliden-flavanonas lipófilas sintéticas. Estas flavanonas, modificadas con diversos compuestos fenólicos en la posición C-3 del anillo C, mostraron una alta efectividad contra *S. epidermidis*, *S. aureus* y *E. faecalis*. El mecanismo subyacente involucra la iniciación de la agregación celular bacteriana por parte de los flavonoides, lo cual afecta la integridad de las membranas y conduce a la alteración de la biopelícula bacteriana (67).

El potencial de membrana, crucial para la energía necesaria en los procesos químicos de los sistemas vivos, representa un factor vital para el crecimiento y la supervivencia de las células bacterianas. El uso de isobavacalcona y 6-

prenilapigenina, extraídas de especies de *Dorstenia*, resultó en la pérdida de polarización de la membrana bacteriana de *S. aureus* (60).

Por tanto, sólo licochalcones A y C declaran efectos antibacterianos contra las bacterias Gram-positivas (*S. pyrogenes*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *C. botullinum* y *S. pneumoniae*,) y se imputan a la presencia de residuos de prenil lipófilo en el anillo D de licochalcones A y C, lo que proporciona su penetración en la bacteria (67).

Se ha sugerido que los flavonoides, en particular las proantocianidinas y catequinas debido a sus capacidades antioxidantes, puedan neutralizar los factores tóxicos bacterianos producidos por *Bacillus anthracis*, *S. aureus* y *Clostridium botulinum*. La toxina α -hemolisina (H1a), que pertenece a las formadoras de poros bacterianos tipo barril β , es uno de los principales factores de virulencia secretados por *S. aureus* (60).

Soromou y cols. (2013) informaron que la pinocembrina, una flavanona de miel, redujo la producción de α -hemolisina de *S. aureus* de manera dependiente de la concentración (la pinocembrina reduce el nivel de transcripción de los genes H1a y δ -hemolisina) (68).

1.4.2.2 Ensayos in silico en el descubrimiento de nuevos fármacos

El diseño, elaboración y aprobación por métodos convencionales de nuevos fármacos resulta un proceso muy lento, costoso y complejo, pudiendo llegar alcanzar cifras altas de millones de dólares en gasto y por un tiempo prolongado. En la actualidad el uso de las metodologías computacionales ha constituido una alternativa en la investigación volviéndose cruciales para el descubrimiento de fármacos.

Los estudios *in silico* muestran disímiles posibilidades de factores significativos entre los que enfatizan, la reacción molecular con descriptores tóxicos y enzimas. No obstante, estos estudios pueden tener algunas deficiencias que pueden limitar predecir con precisión. Por lo tanto, se sugiere llevar a cabo estudios que correlacionen el análisis computacional con investigaciones realizadas en entornos de laboratorio y en organismos vivos (69).

Los ensayos "in silico" en el desarrollo de nuevos medicamentos son un enfoque computacional que utiliza herramientas de modelado y simulación para predecir la actividad biológica, la interacción con blancos terapéuticos y otras propiedades farmacológicas de compuestos químicos antes de su síntesis y prueba en el laboratorio (26). El término "in silico" se deriva del latín y significa "en silico", haciendo referencia al uso de computadoras y software para llevar a cabo estas investigaciones.

Algunas de las técnicas y herramientas "in silico" utilizadas en el descubrimiento de medicamentos incluyen (26):

Diseño de medicamentos asistido por computadora (CADD): Se utilizan métodos de modelado molecular, como el docking molecular y el screening virtual, para predecir la afinidad y la actividad de un compuesto frente a una diana terapéutica específica.

Modelado de estructura molecular: Se utilizan técnicas de modelado por computadora para predecir la estructura tridimensional de proteínas y otros blancos terapéuticos, así como la conformación y propiedades de los compuestos químicos.

Simulaciones de dinámica molecular: Se utilizan para estudiar la interacción entre compuestos químicos y proteínas a nivel atómico, permitiendo la predicción de la estabilidad de los complejos ligando-receptor y la agudeza de los mecanismos de respuesta de los medicamentos.

Análisis de propiedades físico-químicas: Se utilizan para predecir propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los compuestos, como solubilidad, permeabilidad, biodisponibilidad y toxicidad.

Modelado de redes de interacciones biológicas: Se utilizan para estudiar y visualizar las interacciones entre proteínas, genes, metabolitos y otras moléculas biológicas, lo que puede proporcionar información sobre las vías y mecanismos de respuesta de los fármacos.

Los ensayos "in silico" son una herramienta poderosa y rentable en el descubrimiento de fármacos, ya que permiten reducir el número de compuestos que se sintetizan y prueban experimentalmente, así como optimizar el diseño de

fármacos para mejorar su eficacia y seguridad antes de los ensayos preclínicos y clínicos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que estas predicciones computacionales deben ser validadas experimentalmente para garantizar su precisión y fiabilidad.

El docking molecular, conocido también como acoplamiento molecular, es una técnica bioinformática que utiliza simulaciones computacionales para predecir y calcular las interacciones entre ligandos (moléculas pequeñas) y proteínas. Este método ayuda a determinar la posición óptima y las características beneficiosas de la unión entre un ligando y su objetivo en estructuras tridimensionales. Cuanto más precisa y favorable sea esta unión específica, más activa será biológicamente la molécula, mejorando así su efectividad como agente terapéutico o biológico (70).

En este sentido, los estudios sobre actividad inhibitoria que presentan los derivados de los flavonoides frente a las enzimas PBPS de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante acoplamiento molecular son escasos, de allí, la importancia se realizar la presente investigación.

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

II.1.- Diseño de investigación

El estudio es de tipo experimental mediante evaluación *in silico* con un enfoque cuantitativo en donde se evaluó la energía que presentan las interacciones entre los flavonoides con la proteína PBP2a de *S. aureus* resistente a la meticilina. Además, se evaluaron las interacciones entre la diana y los compuestos mejores, así como determinadas propiedades farmacodinámicas y fisicoquímicas.

Diseño de Investigación: Descriptivo

Nivel de investigación: Básico

Enfoque: Cuantitativo

Tipo de Investigación:

- **Por el ámbito:** De campo
- **Por la técnica:** Observacional
- **Por la temporalidad:** Transversal actual.

La investigación emplea el AutoDock Vina, siendo uno de los programas de código abierto más rápidos y con precisión en la determinación de posición utilizados para el acoplamiento molecular (71) . En este contexto, el progreso de fármacos y potenciales moléculas empleadas en estudios como antibacterianos involucra la evaluación de la absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME), por tanto, los modelos informáticos establecen opciones admitidas a los experimentos. La herramienta web SwissADME ofrece acceso gratis a varios de modelos predictivos rápidos que permite este tipo de evaluación en la investigación (72). Para la obtención de las estructuras de las moléculas se hace uso del Banco Datos de Proteínas (PDB; <http://www.pdb.org/>) como el único depósito internacional de estructuras tridimensionales y datos de macromoléculas biológicas autorizado para su empleo internacional (73).

II.2.- Población y muestra

Se utilizaron estructuras flavonoides de origen natural a través de una búsqueda bibliográfica para posterior a ello prepararse mediante programas de Autodock Vina para el acoplamiento molecular.

II.3.- Muestreo y muestra

De la base de datos UCSF ZINC 15 se extrajeron 30 moléculas de flavonoides de origen vegetal que fueron valoradas sobre la enzima PBP2a de *S. aureus* resistente a la meticilina.

II.4.- Criterios de selección

Para la obtención de la muestra se utilizaron los mencionados criterios:

- **Criterios de inclusión:** Se incluyeron, las flavonas de origen vegetal que presenten la estructura 2-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona
- **Criterios de exclusión:** Se excluyeron las moléculas de origen sintético que no presentaran la estructura 2-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona

II.5.- Definición y clasificación de las variables

1. Energía libre de unión: cuantitativa

Definición: cambio de energía libre coligado con la unión del ligando con la diana.

Indicador: escala de energía libre de unión de Autodock Vina

Escala de medición: Kcal/mol

2. Interacción Ligando-enzima: cualitativa

Definición: enlaces polares y no-polares, que se forman entre ligando y la diana.

Indicador: representación gráfica de los enlaces.

Escala de medición: ninguna

3. Propiedades ADME: cualitativa

Definición: conjunto de criterios para definir la Absorción, Distribución, Metabolismo

y Excreción.

Indicador: resultado del análisis de Swiss ADME prediction

Escala de medición: ninguna

II.6.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos

Se llevó a cabo una búsqueda de flavonas naturales en la base de datos ZINC 15, utilizando como criterio que todas las moléculas incluyeran la estructura 2-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona, resultando en 33 moléculas para el estudio. Posteriormente, en el programa Avogadro, se optimizó la estructura de estas moléculas ajustando su protonación a un pH de 7,4 y minimizando su energía mediante el campo de fuerza MMFF94. Las moléculas optimizadas se guardaron en formato MOL2 para su posterior análisis mediante docking molecular.

La estructura de la enzima PBP2a de *S. aureus* resistente a meticilina se extrajo de Protein Data Bank (PDB). El código de la enzima empleada es 5M1A y para su análisis se utilizará el módulo Dockprep de USCF Chimera y se resguardará en formato PDB.

El análisis de las afinidades de los flavonoides por PBP2a se llevó a cabo utilizando el programa AutoDock Vina a través del servidor ezCADD. En este programa, se cargó la proteína PBP2a optimizada junto con cada uno de los 30 ligandos, y se establecieron las coordenadas del centro activo para la caja de acoplamiento.

Se consideró la energía de unión de las 30 moléculas en la pose 1 (la que presenta el valor de energía más negativo, indicando la mayor energía de unión). Estas energías se guardaron en formato pdbqt para su uso posterior en el análisis de interacción de cada ligando.

Para analizar las interacciones y visualizarlas gráficamente, se utilizó el módulo de análisis de superficie y unión del programa Biovia Discovery Studio. En este software, se cargaron la proteína y la primera pose de cada ligando, lo que permitió observar en un diagrama 2D las interacciones generadas por cada molécula.

El análisis de las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas se llevó a cabo utilizando el servidor Swiss ADME del Instituto Suizo de Bioinformática. Para esto, se utilizó la representación en una dimensión de las moléculas (códigos SMILES) de las mejores moléculas y se cargaron en SwissADME

II.6.1.- Procedimientos estadísticos y análisis de datos

Los resultados obtenidos se lograron con el uso de autodock Vina que posterior a su obtención se colocaron los resultados en una tabla de Excel, estos resultados fueron posibles con el uso de UCSF chimera para guardarlos en formato png. Los resultados de la farmacocinética de los compuestos flavonoides fueron obtenidos gracias al uso de Swiss ADME que posterior a su obtención se colocaron los resultados en una plantilla de Excel.

Las energías conseguidas por el programa autodock vina se colocaron de manera jerárquica en una tabla de Excel además de colocar los resultados 2D de cada interacción obtenida entre el flavonoide con PBP2a destacando los aminoácidos que intervienen en la interacción.

II.7.- Aspectos éticos

El estudio no necesitará de muestras biológicas ni utilizará información sensible que pueda quebrantar algún elemento bioético.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

En el presente trabajo se emplearon 30 flavonoides de origen vegetal para evaluar los niveles de energía producido al interaccionar la estructura flavonoide con la proteína fijadora de penicilina utilizando el software autodock vina. Los resultados del análisis de acoplamiento molecular se reflejan en la siguiente tabla 1.

El análisis de las energías refleja que la media de energía del total de las 30 moléculas evaluadas es -8.5 kcal/mol. Las 10 mejores moléculas muestran energías en un rango de -10,7 a -8,3 kcal/mol. Las 5 mejores moléculas presentaron un rango promedio entre -10,7 y -9,1 kcal/mol.

Tabla 1: Moléculas incluidas en el estudio y su energía de unión calculada por Autodock Vina

	Código zinc	Nombre común	Formula	Energía (kcal/mol)
1	ZINC3984030	AMENTOFLAVONA	C30H18O10	-10,7
2	ZINC2043107859	TILIROSIDA	C30H26O13	-9,7
3	ZINC1757652	SILIBININA	C25H22O10	-9,7
4	ZINC8382286	HESPERIDINA	C28H34O15	-9,2
5	ZINC85567736	KUWANON G	C40H36O11	-9
6	ZINC595402	CICLOCOMUNOL	C20H16O6	-8,5
7	ZINC5733553	PECTOLINARIGENINA	C17H14O6	-8,4
8	ZINC5195808	MORUSINA	C25H24O6	-8,4
9	ZINC18185774	LUTEOLINA	C15H10O6	-8,3
10	ZINC5733652	DIOSMETINA	C16H12O6	-8,3
11	ZINC3870414	GALATO DE EPIGALOCATEQUINA	C22H18O11	-8,1
12	ZINC1645590	OMBUIN	C17H14O7	-8
13	ZINC3881558	MORIN	C15H10O7	-7,9
14	ZINC14727558	MORERA	C25H26O6	-7,8
15	ZINC14728050	ESTEPOGENINA	C15H12O6	-7,8
16	ZINC4098510	CIRSILIL	C17H14O7	-7,8
17	ZINC18847037	BIOCANINA A	C16H12O5	-7,8
18	ZINC3871576	APIGENINA	C15H10O5	-7,8
19	ZINC14644952	PENDULETINA	C18H16O7	-7,7
20	ZINC156701	NARINGENINA	C15H12O5	-7,7

21	ZINC13838618	MEARNSETINA	C16H12O8	-7,7
22	ZINC3869768	KAEMPFEROL	C15H10O6	-7,7
23	ZINC100018343	TAXIFOLINA	C15H12O7	-7,6
24	ZINC3869685	QUERCETINA	C15H10O7	-7,6
25	ZINC5998754	RAMNOCITRINA	C16H12O6	-7,5
26	ZINC4935	PINOCEMBRINA	C15H12O4	-7,5
27	ZINC3874317	MIRICETINA	C15H10O8	-7,5
28	ZINC1573789	DIHIDROMORINA	C15H12O7	-7,3
29	ZINC2008848	SOPHORAFLAVANONA G	C25H28O6	-7,1
30	ZINC6484603	AYANIN	C18H16O7	-7

Análisis de interacciones de los flavonoides con mayor afinidad por la enzima

1.-Amentoflavona

La amentoflavona presentó un valor de energía de -10,7 kcal/mol, en su interacción con la enzima PBP2a se exhibió una formación de cinco puentes de hidrogeno empezando por el grupo cetona del carbono 4 que forma un puente de hidrogeno con el aminoácido SER 240 del anillo C, segundo puente de hidrogeno se forma en el anillo B en el carbono 4 en donde forman 2 puentes de hidrogeno entre los aminoácidos ARG 241 y THR 165, su ultimo enlace de hidrogeno se forma en el anillo C de la segunda estructura de apigenina en el carbono 5 del anillo A con HIS 293

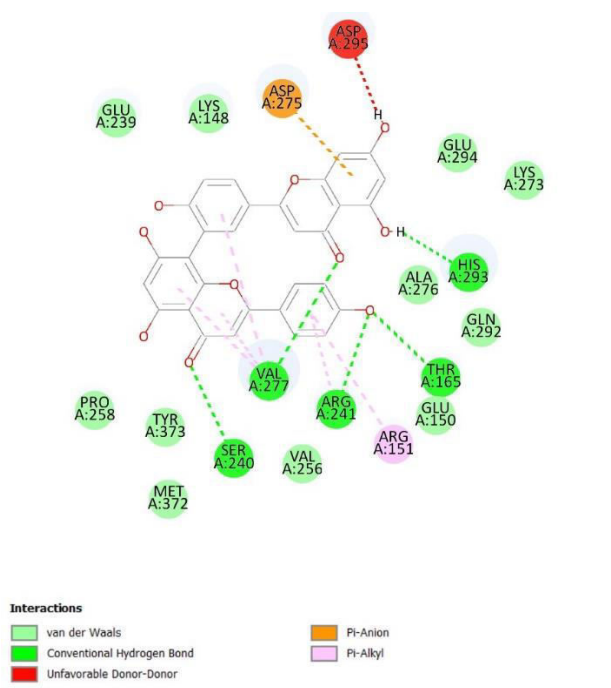


Figura 3: Análisis de la interacción entre amentoflavona, molécula con mayor energía de unión con PBP2a

Entre otros enlaces que se presenta con la interacción de la amentoflavona frente a PBP2a es el enlace pi-anion en el anillo A de la segunda apigenina y el enlace pi-alquilo en el anillo B de la primera apigenina.

2.-Tilirosida

La tilirosida presenta diferentes interacciones con la PBP2a entre ellas se hallan las siguientes: tiene 2 puentes de hidrógeno, el primero se presenta en el carbono 6 que contiene un enlace glucosídico en donde interactúa con VAL 277, el segundo puente de hidrógeno está presente en el grupo hidroxilo del carbono 7 que interactúa con VAL 256.

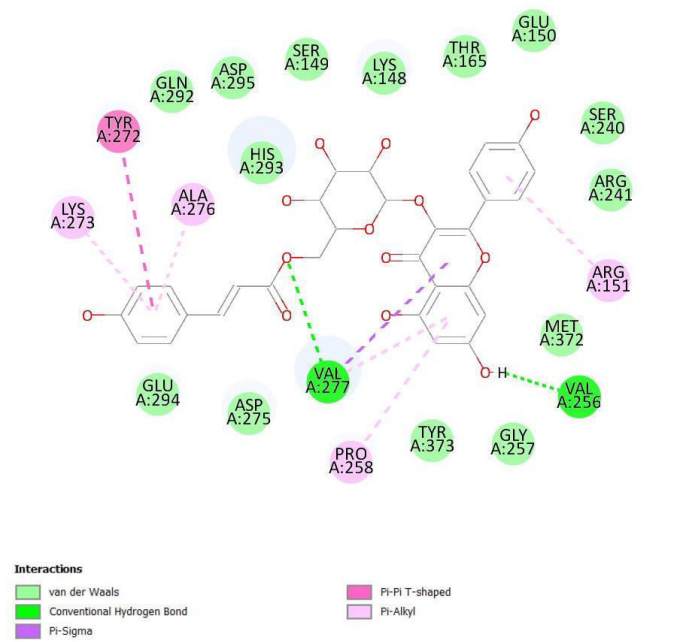


Figura 4: Análisis de las interacciones de la segunda molécula con menor energía

Entre otras interacciones destacables encontramos las siguientes: enlace Pi-Pi T se forma en el carbono 7 con TYR 272, enlaces Pi-alkilo que se encuentra en el anillo A que interactúa con PRO 258, en el anillo B interactúa con ARG 151, el último enlace Pi-alkilo se presenta en el carbono 7 con ALA 276 y LYS 273.

3.-Silibinina

La silibinina presentó un nivel de energía de -9,7 kcal/mol, logró la formación de 6 puentes de hidrógeno, el primero se forma en el grupo hidroxilo del carbono 5 que se unió a LYS 273, el segundo se forma en el grupo cetona del carbono 4 que se une a ASP 295, el tercer puente de hidrógeno se forma en el grupo hidroxilo del carbono 3 con ASP 295, el cuarto se forma en el grupo hidroxilo del carbono 20 con THR 165, el quinto se forma en el grupo hidroxilo del carbono 21 con THR 165, el sexto se forma en el grupo hidroxilo del carbono 21 con ARG 241.

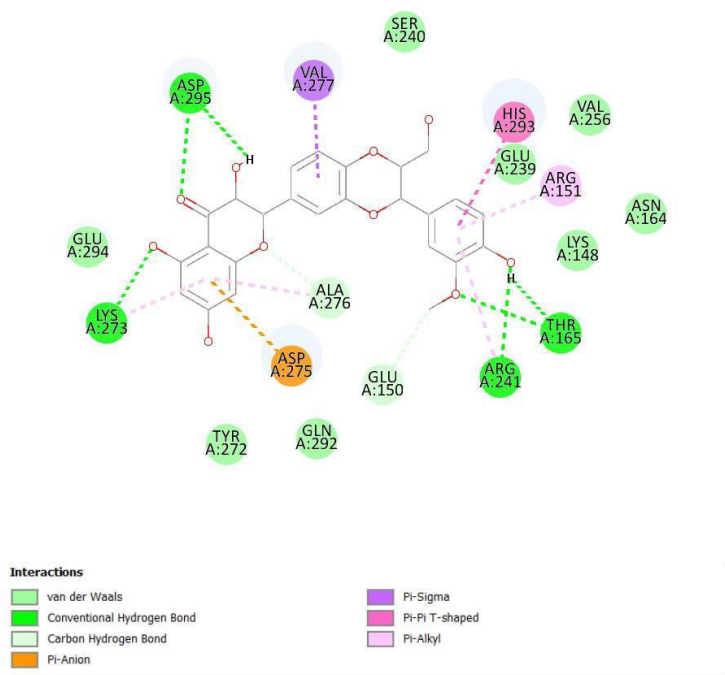


Figura 5: Análisis de la interacción de la tercera molécula con menor energía

En otras interacciones formadas encontramos al enlace pi anion que se forma en el anillo A con ASP 275, mientras que en la cadena A se forma un enlace pi alquilo con ALA 276. En el anillo B se forma un enlace Pi-sigma con VAL 277, en el anillo E se forma un enlace Pi-Pi con HIS 293, mientras que en el anillo E se forma un enlace Pi-alquilo con ARG 151.

4.-Hesperidina

La hesperidina presentó un valor de energía de -9,2 kcal/mol, entre las diferentes interacciones que logró presentar con la PBP2a encontramos los siguientes: 4 puentes de hidrógeno empezando con el carbono 2 del ramnosido con SER 240, el segundo se formó en el enlace glucosídico que se sitúa en el carbono 6 del segundo ramnosido con ARG 241, el tercero se formó en el enlace glucosídico que se sitúa en el carbono 7 de la cadena A, finalmente el ultimo puente de hidrógeno se formó en el grupo hidroxilo del carbono 5 de la cadena B.

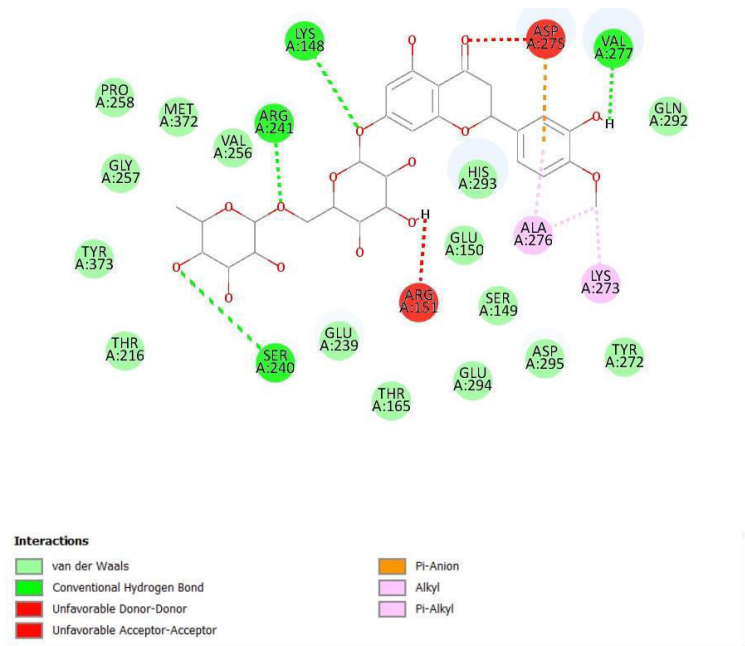


Figura 6: Análisis de la cuarta molécula con menor energía

Entre otras interacciones que presenta la interacción la hesperidina podemos destacar a la interacción pi-alquilo con el grupo hidroxilo del carbono 5 y VAL 277.

5.-Kuwanon g

La kuwanon g presentó energía de -9 kcal/mol, en sus interacciones con la PBP2a podemos destacar lo siguiente: formación de 3 puentes de hidrógeno, primer puente se formó en el carbono 5 del grupo hidroxilo del anillo A con Ser 240, segundo puente de hidrógeno se formó en la cetona que se encuentra en el carbono 21 con THR 238, finalmente el ultimo puente de hidrogeno se formó en el grupo hidroxilo del carbono 25 con LYS 148.

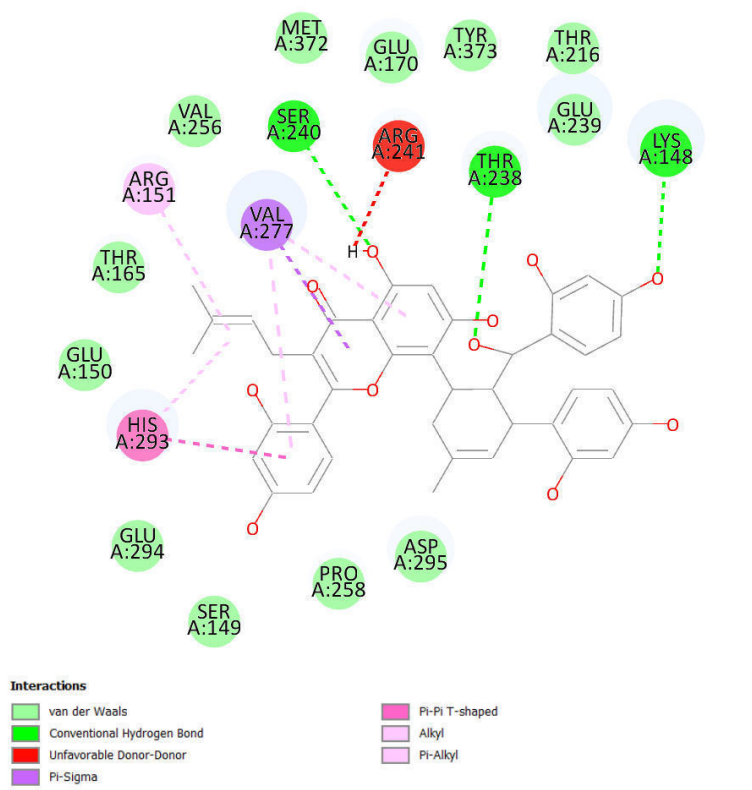


Figura 7: Análisis de la quinta molécula con menor energía

Entre otros enlaces que presenta la kuwanon g podemos mencionar los siguientes: La formación de enlaces pi sigma en el anillo C y B con VAL 277, enlaces Pi-Pi entre el anillo B y HIS 293, finalmente la formación de un enlace Pi alquilo entre el carbono 11 y ARG 151.

Análisis de las 5 moléculas que presentan menor afinidad con la PBP2a Pinocembrina

La pinocembrina presentó un nivel de energía de -7,5 kcal/mol con las siguientes interacciones: 2 puentes de hidrógeno, el primer puente se formó en el grupo hidroxilo del carbono 5 con ASP 275, el segundo se formó en el grupo cetona del carbono 4 con VAL 277.

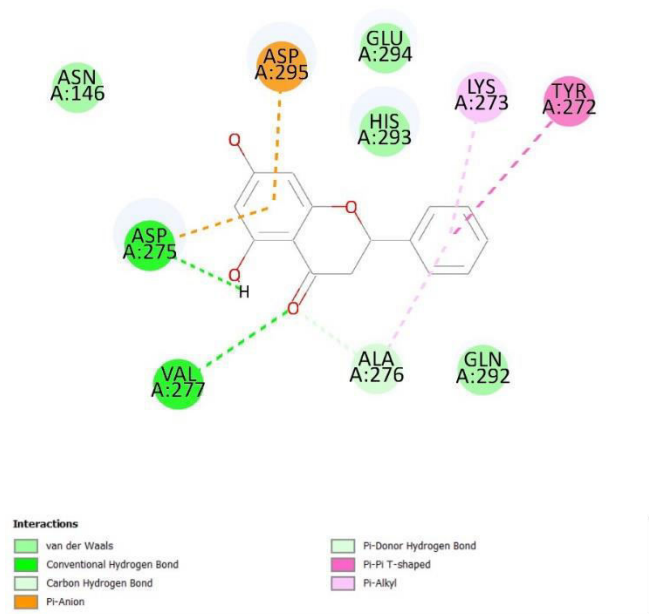


Figura 8: Análisis de la interacción entre Pinocembrina con PBP2a con menor nivel de energía.

Entre otras interacciones que se pueden destacar encontramos las siguientes: enlace pi anión se formó en la cadena A, enlace Pi – Pi T se formó en la cadena B y finalmente el enlace Pi-alkilo se formó en la cadena B.

Miricetina

La miricetina presentó un nivel de energía de -7,5 kcal/mol con las siguientes interacciones: 7 puentes de hidrógeno, el primero se formó en grupo hidroxilo del carbono 7 con VAL 256, el segundo se formó en el grupo hidroxilo del carbono 3 con GLU 239, el tercero se formó en el grupo hidroxilo del carbono 3 con ASN 164, el cuarto se formó en el grupo hidroxilo del carbono 3 con THR 165, el quinto se formó en el grupo hidroxilo del carbono 4 con THR 165, el sexto se formó en el grupo hidroxilo del carbono 4 con ARG 151 y el séptimo puente de hidrógeno se formó en el grupo hidroxilo del carbono 5 con ARG 151.

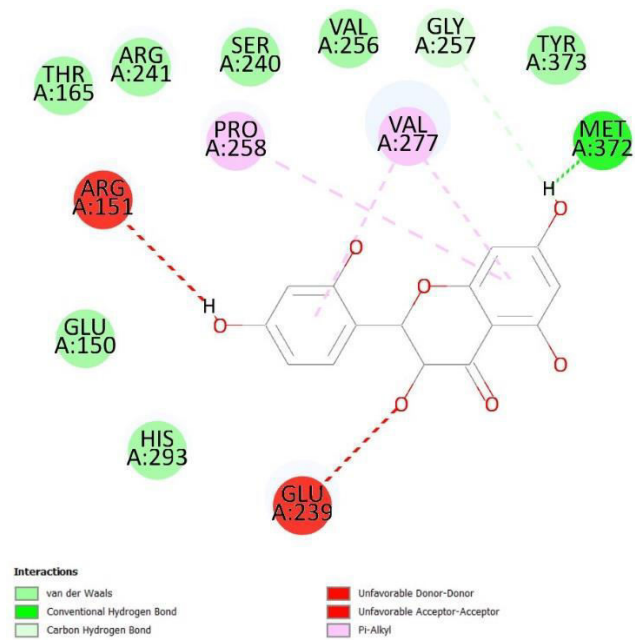


Figura 10: Análisis de la interacción de la tercera molécula con menor energía.

Soforaflavanona G

La soforaflavanona G presenta un nivel de energía de -7,1 kcal/mol entre las diferentes interacciones encontramos las siguientes: 1 puente de hidrógeno en el grupo hidroxilo del carbono 4 con ARG 241, el segundo se forma en el grupo hidroxilo del carbono 4 con SER 240 y el tercero se forma en el grupo hidroxilo del carbono 5 con SER 240.

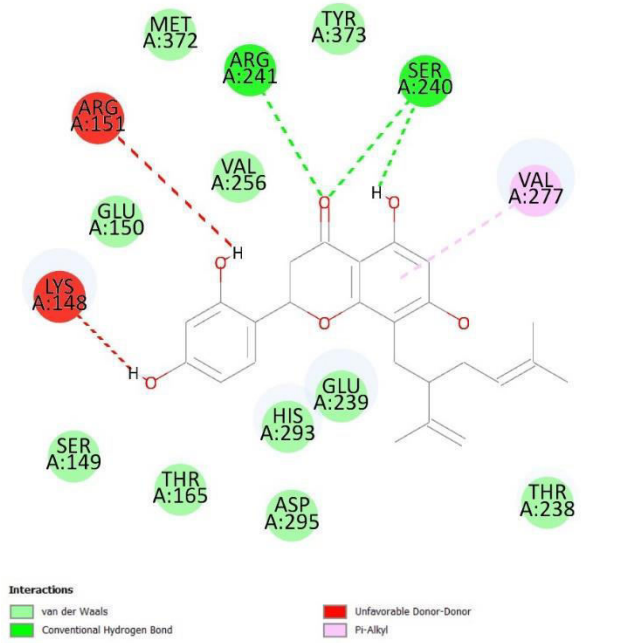


Figura 11: Análisis de la cuarta molécula con menor nivel de energía

Ayanin

La ayanin presentó un nivel de energía de -7 kcal/mol con las siguientes interacciones: 1 puente de hidrógeno en el grupo hidroxilo del carbono 5, Anillo C se produjo la formación de un enlace Pi-anion con ASP 275, cadena A se formó un enlace Pi-anion con ASP 275, en el grupo hidroxilo del carbono 4 se dio la formación de un enlace Pi-sigma, en el anillo B se formó un enlace Pi-alkilo con ALA 276, finalmente se dio la formación de un enlace Pi-alkilo en la cadena C con LYS 273.

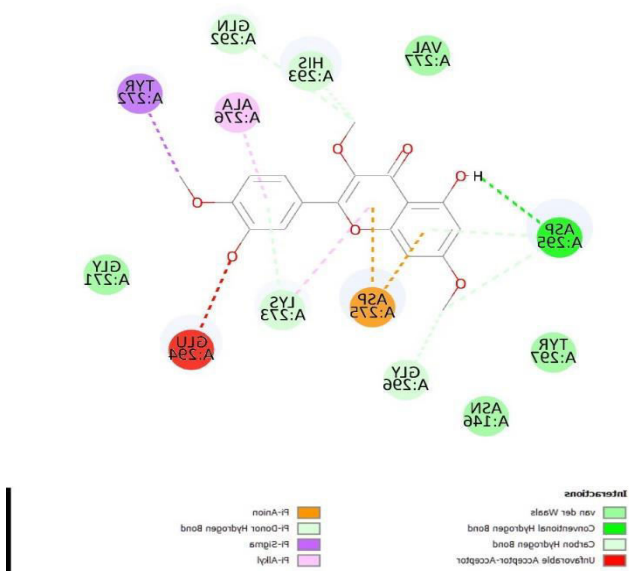


Figura 12: Análisis de la quinta molécula con menor nivel de energía

Predicción de las propiedades ADME de las 5 mejores flavonas.

Se realizó una predicción utilizando las 5 flavonas que presentaron los niveles de energía más altos con el uso del programa SwissADME para evaluar si las flavonas presentaran las propiedades adecuadas para ser utilizadas como fármacos, en las predicciones realizadas se obtuvieron los siguientes resultados:

	Amentoflavona	Tilirosida	Silibinina	Hesperidina	Kuwanon G
Absorción gastrointestinal	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo
Permeabilidad BHE	No	No	No	No	No
sustrato gp-p	No	No	No	Si	No
Inhibidor de CYP1A2	No	No	No	No	No
Inhibidor de CYP2C19	No	No	No	No	No
Inhibidor de CYP2C9	No	No	No	No	No

Inhibidorde CYP2D6	No	No	No	No	No
Inhibidorde CYP3A4	No	No	Si	No	No

Tabla 2: Predicción de las propiedades ADME de las 5 mejores flavonas

La kuwanon g y la hesperidina podrían ser sustratos de la glicoproteína P, mientras que la Silibinina presentaría capacidad de inhibir de uno de los citocromos específicamente en CYP3A4. El resto de las moléculas no mostraron capacidad de afectar los parámetros evaluados.

Predicción de las propiedades ADME de las 5 flavonas con menor energía.

Se realizó las predicciones con las flavonas con los valores más bajos de las flavonas utilizando el programa SwissADME para evaluar las propiedades que presenta cada compuesto para ser utilizado como un fármaco, entre las diferentes propiedades presentes podemos destacar las siguientes:

Tabla 3: Predicción de las propiedades ADME de las 5 flavonas con menor energía

	Pinocembrina	miricetina	dihidromorina	Soforaflavanona G	Ayanin
Absorción gastrointestinal	alta	Baja	Alta	Alta	Alta
Permeabilidad BHE	Si	No	No	No	NO
sustrato gp-p	No	No	No	No	No
Inhibidorde CYP1A2	Si	Si	No	No	Si
Inhibidorde CYP2C19	Si	No	No	No	No
Inhibidorde CYP2C9	No	No	No	SI	Si
Inhibidorde CYP2D6	No	No	NO	No	Si
Inhibidorde CYP3A4	No	Si	No	Si	Si

La absorción gastrointestinal se comportó alta en las moléculas, pinocembrina, dihidromorina, Soforaflavanona G y Ayanin.

Presentó solamente la pinocembrina una permeabilidad de la barrera hematoencefálica y ninguna molécula presentaron interacciones con la glicoproteína P.

La pinocembrina presento una inhibición de los citocromos CYP1A2 y CYP2C19, la miricetina con los citocromos CYP1A2 y CYP3A4, la sforaflavanona presentó una interacción con los citocromos CYP2C9 y CYP3A4, mientras que ayanin logró una inhibición de los citocromos CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6 y CYP3A4.

Discusión

Las flavonas se caracterizan por ser un subgrupo de los flavonoides que presenta una estructura compuesta por 2-fenil-cromen-4-ona, se diferencia de los otros grupos de flavonoides por presentar una unión del anillo B con el carbono 2 del anillo C, presentan cierta similitud debido a que comparten un bioprecursor en común que son las flavanonas, sin embargo, presentan diferencias en su estructura ya que los flavonoles presentan un grupo hidroxilo en el carbono 3 del anillo C (74).

En la actualidad no existen estudios en donde evidencien una amplia efectividad con respecto a propiedades antibacterianas de las flavonas sin embargo existen estudios que explican los posibles efectos antibacterianos teniendo en cuenta las siguientes características: grupos hidroxilos, formación de doble enlace en el C2 y C3, ausencia de grupos hidroxilos en la cadena B, prenilación de las cadenas B y A, que evidencia su efectividad al interaccionar con la PBP2a (75).

Entre ellos encontramos a los 5 compuestos de nuestro estudio con los niveles de energía más altos entre ellos a la amentoflavona que presentó el valor de -10,7 kcal/mol debido a la formación de enlaces no polares que lograron interaccionar con la estructura hidrofóbica de la PBP2a entre los cuales podemos mencionar los siguientes: serina, valina, arginina, treonina, histidina. Otra cualidad presenta la amentoflavona que le da una propiedad bactericida, esto se debe a la presencia de dímeros y a la saturación del anillo C (76).

Adicional Yamaguchi y cols. (77) mostraron en su estudio que los efectos sinérgicos de la amentoflavona con los antibióticos surgen a causa de la alteración en el metabolismo celular del ácido tricarboxílico provocando una disminución de la concentración del NADH intracelular, además de incrementar en la producción de especies reactivas de oxígeno como son peróxidos y superóxidos.

La tilirosida constituyó otra molécula con valores de energía alto de -9,7 kcal/mol en su interacción con la enzima PBP2a debido a la formación de 2 puentes de hidrógeno, además de una saturación del carbono 2, una hidroxilación en sus carbonos 2 y 5 . En este contexto, Kuok CF y cols. (78) reflejaron que los efectos sinérgicos entre la tilirosida y los antibióticos gentamicina y oxacilina potenciaron la acción antibacteriana frente a cepas de *S.aureus* resistente a meticilina, lo cual se deben a la lipofilicidad que presenta en su estructura de la tilirosidad permitiendo una mayor interacción con la parte hidrofóbica de la PBP2a y PBP4 dando como resultado la inhibición de las bombas de eflujo evitando una eliminación del fármaco además de producir efectos sobre la transcripción de la bomba en *S.aureus*.

La silibinina mostró un nivel de energía de -9,7 kcal/mol en su interacción con la PBP2a debido a la formación de 6 puentes de hidrógeno, no presentó en su estructura una saturación del carbono 2 del anillo C y exhibió una cantidad disminuida de los grupos hidroxilo. En este sentido, estudio realizado por Alhadrami & Hamed (18) encontraron diversas características que presenta la silibinina que le permite tener un efecto anti MRSA con el sitio de unión PBP2a presentando un valor de energía entre -8,8 y -9,3 kcal/mol se menciona: la adición de un grupo hidroxilo en carbono 7 del anillo A que disminuye el efecto anti-MRSA, sin embargo la adición de una unidad disacárido revierte el efecto a la resistencia a los antibióticos B-lactámicos y la presencia de un grupo hidroxilo en el carbono 3 que disminuye los efectos anti-MRSA, aunque la unión a un disacárido revierte su efecto.

La hesperidina formo 4 puentes de hidrogeno y enlaces no polares presentando en su una unidad de azúcar compuesta por 3 grupos hidroxilos que favorecen la interacción con la PBP2a, además no presenta una saturación de su anillo C disminuyendo su nivel de energía e interacciones. De manera similar, investigación *in vitro* realizada por Titaporn y cols (79) encontró una de las propiedades destacables de la hesperidina que le confiere el efecto antibacteriano en estudio frente ampicilina se debe a que la interacción de los radicales hidroxilos con desoxirribosa que ocasiona una fragmentación de su estructura, esta liberación de radicales hidroxilos son los responsables de afectar a los carbohidratos, ADN,

ácidos grasos poliinsaturados y proteínas del *S. aureus* resistente a meticilina. Sin embargo, estudio realizado por Alhadrami y col. (18) encontró en la interacción de la hesperidina frente al sitio activo de PBP2a que la adición de grupos hidroxilo en el anillo B se asoció con una disminución de la actividad anti-MRSA (CMI = 31,25 µg/mL). Además, disminuyó la estabilidad de la unión durante el MDS (RMSD = 3,7 Å) y la energía libre de enlace. Además, el doble enlace entre C-2 y C-3 no parece ser una característica importante para la bioactividad.

La kuwanon g en la presente investigación formó 3 puentes hidrógeno, el primero se dio en el carbono 5 del anillo A con SER 240 debido gracias al grupo hidroxilo, segundo puente de hidrogeno se formó en la cetona situada en el carbono 21 con THR 238, su último puente se formó en el grupo hidroxilo del carbono 5 con LYS 148, entre otros enlaces destacables tenemos los siguientes: saturación del anillo C que permite la formación de enlaces pi sigma, mientras que el segundo enlace pi sigma se forma debido a los grupos hidroxilo del anillo B, estos 2 enlaces se unen a VAL 277, enlace Pi-PI se forma entre el anillo B y HIS 293 gracias a la insaturación y a los grupos hidroxilo, finalmente el enlace pi alquilo entre el carbono 11 y ARG 151 se produce por la prenilación del carbono 11.

Estudios sobre el kuwanon g muestran resultados análogos, la actividad antibacteriana se produjo debido a los grupos isopentenilo y ciclohexeno fenil cetona provocando un efecto bactericida en MRSA y en *S.aureus* sensible a la meticilina, este efecto bactericida se debe a la formación de grandes poros y la interrupción de la fuerza motriz de protones de la membrana bacteriana donde la formación de puentes de hidrógenos y la presencia de enlaces no polares pi sigma (unión entre cadena lateral $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$. con anillo C de la flavona son responsable del efecto sinérgico (80).

Analizando las propiedades ADME de las 5 mejores moléculas una característica en común entre todas es la baja absorción gastrointestinal siendo útil para tratar infecciones locales en el tracto gastrointestinal y evitar la presencia de diversas reacciones adversas, en cuanto a la permeabilidad de la barrera hematoencefálica

ningún compuesto logró atravesarlo evitando así efectos adversos indeseables en el sistema nervioso central, en las interacciones con la glicoproteína P ninguna flavona presentó una interacción a excepción de la hesperidina que si mostró interacciones afectando el mecanismo bactericida evitando su acción en el medio intracelular de S.aureus MRSA , finalmente tenemos a los citocromos en donde se evidenció que la mayoría de las flavonas no lograron una inhibición en algún citocromo, sin embargo la silibinina provocó una inhibición del citocromo CYP3A3 esto puede desencadenar toxicidad en el organismo debido al incremento de las concentraciones plasmáticas del fármaco debido al incremento de la vida media de los fármacos.

CAPÍTULO IV
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

IV.1.- CONCLUSIONES

Se realizó un estudio *in silico* que logró identificar a las flavonas que presentan un potencial de acción inhibitoria frente al sitio activo de PBP2a de *S.aureus* resistente a meticilina. En el análisis realizado se evidenció que las flavonas tienen una afinidad e inhibición a la PBP2a debido a que presentan las siguientes características en su estructura: compuesta por un doble enlace en el carbono 2 del anillo C, dimerización, saturación del anillo C, hidroxilación del carbono 2 y 5, presencia de varios grupos hidroxilos que lograron la formación de varios puentes de hidrógeno. Todas estas características permitieron interaccionar con la proteína obteniendo valores de energía entre -10,7 y -9,1 kcal/mol. Además de la formación de enlaces como son los puentes de hidrógeno se consiguió la formación de enlaces no polares que ayudaron a su interacción. Con respecto a sus propiedades ADME varias de estas moléculas muestran un perfil adecuado.

IV.2.- RECOMENDACIONES

- Realizar experimentos *in vitro* para evaluar la actividad antibacteriana de las flavonas que han sido encontradas en este estudio.
- Evaluar el efecto sinérgico de las flavonas frente a otros subgrupos de flavonoides para comprobar la inhibición mínima de cada una de ellas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Camarena J, Sánchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Control de Calidad SEIMC. [Online].; 2020 [cited 2023 Junio 26. Available from: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestem/bactia/sarm.pdf>.
2. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infección, Genética y Evolución. 8(6):747-763. [Online].; 2008 [cited 2024 6 18. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S156713480800141X?via%3Dihub>.
3. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Madrid: FPES. [Online].; 2015 [cited 2023 Junio 26. Available from: <http://www.sepsis-one.org/32-uncategorised/166-staphylococcus-aureus-resistente-a-meticilina-sarm.html>.
4. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proc Natl Acad Sci U S A.99(11):7687-92. [Online].; 2002 [cited 2024 6 19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12032344/>.
5. Aguayo-Reyes A, Quezada-Aguiluz M. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. Rev. chil. infectol. 35(1): 7-14. [Online].; 2018 [cited 2023 Junio 26. Available from: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000100007.
6. Balbuena-Escalona V. Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin. MULTIMED; 16 (1):

15. [Online].; 2012 [cited 2023 Junio 26. Available from: <https://revmultimed.sld.cu/index.php/mtm/article/view/517/846>.
7. Vindela A, Cercenado E. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying the mecC gene: an emerging problem? Rev. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica34(5):277-279. [Online].; 2016 [cited 2023 Junio 25. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0294-2_11.
8. Álvarez Lam I, Ponce Bittar J. Staphylococcus aureus, evolución de un viejo patógeno. Revista Cubana de Pediatría, 84(4), 383-391. [Online].; 2012 [cited 2023 Junio 25. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312012000400007&lng=es&tlng=es.
9. Marquilles Bonet C, Alexandre Lozano S, Real Gatus J. Prevalencia de infección por Staphylococcus aureus resistente a meticilina en heridas crónicas en atención primaria de Lleida: estudio retrospectivo. Gerokomos [Internet]. [citado 2023 Jun 27] ; 26(4): 157-161. [Online].; 2015 [cited 2023 Junio 26. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122434>..
10. Nodarse Hernández R, del Campo Abad R. Staphylococcus aureus resistente a meticilina como causa de infección de piel y partes blandas. Rev Cub Med Mil. 42(1): 116-123. [Online].; 2013 [cited 2023 Junio 26. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-928X2015000400008&lng=es.
11. Martínez Oquendo A, Montes de Oca M. Resistencia antimicrobiana del Staphylococcus aureus resistente a meticilina en el Hospital Dr. Gustavo Aldereguía Lima. Medisur [online]. 15(2): 210-216. [Online].; 2017 [cited 2023 Junio 26. Available from:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2017000200010&lng=es&nrm=iso.

12. Liscano Y, Amú A, González A. Caracterización in silico de la interacción entre la proteína PBP2a "señuelo" de *Staphylococcus aureus* resistente y las unidades monoméricas de polímeros Eudragit E-100 y poli(ácido maleico-alt-octadeceno). *Polímeros (Basilea)*. 15;13(14):2320. [Online].; 2021 [cited 2023 Junio 26. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8309622/>.
13. Gould M, Esposito S. New insights into meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(2):96-104. [Online].; 2012 [cited 2024 6 19. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857911004596?via%3Dihub>.
14. Mediavilla JR, Chen , Mathema. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA), *Current Opinion in Microbiology*, 15(5):588-595. [Online].; 2012 [cited 2024 6 19. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S136952741200118X?via%3Dihub>.
15. Sun ZL, Sun SC, He JM. Synergism of sophoraflavanone G with norfloxacin against effluxing antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents*. Sep;56(3):106098. [Online].; 2020 [cited 2023 Julio 3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32707171/>.
16. Fang Y, Zang T, et al. 3D-QSAR and docking studies of flavonoids as potent *Escherichia coli* inhibitors. *Sci Rep* 6, 23634. [Online].; 2016 [cited 2023 Julio 3. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep23634>.

17. NIH. Amentoflavona. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2024). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5281600, amentoflavona. [Online].; 2024 [cited 11 mayo 2024. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281600>.
18. Alhadrami HA, Hamed AA, Hassan HM. Flavonoids as Potential anti-MRSA Agents through Modulation of PBP2a: A Computational and Experimental Study. *Antibiotics (Basel)*. 31;9(9):562. [Online].; 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7559925/>.
19. NIH. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2024). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5281668, Kuwanon H. [Online].; 2024 [cited 2024 mayo 11. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281668#section=Chemical-Gene-Co-Occurrences-in-Literature>.
20. Tabassum R, Kousar S, et al. In Silico Method for the Screening of Phytochemicals against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. *Biomed Res Int*.18;2023:5100400. [Online].; 2023. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37250750/>.
21. Carpio JM, Amorin JC. An in-silico analysis reveals 7,7'-bializarin as a promising DNA gyrase B inhibitor on Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Computers in Biology and Medicine*. 135: 104626. [Online].; 2021 [cited 2024 6 19. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2021.104626>.
22. Amorim J, Vásquez V, Cabrera A, Martinez M, Carpio J. In Silico and In Vitro Identification of 1, 8-Dihydroxy-4, 5-dinitroanthraquinone as a New Antibacterial Agent against Staphylococcus aureus and Enterococcus faecalis. *Molecules*.

- 29(203). [Online].; 2024 [cited 2024 6 19. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules29010203>.
23. Shuai-Cheng W, et al. Antibacterial Effect and Mode of Action of Flavonoids From Licorice Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Front. Microbiol.* vol. 10. [Online].; 2019 [cited 2023 Julio 3. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02489/full>.
24. Sosa de León D. Bioaccesibilidad de los flavonoides de semillas de habas (*Vicia faba* L.) Y y su efecto antiadipogénico in silico. Tesis de grado. Universidad Autónoma de de Nuevo León. [Online].; 2022 [cited 2024 marzo 20. Available from: <http://eprints.uanl.mx/23201/1/1080132070>.
25. Velázquez-López A, García-Rojas V, Tornero-Martínez A, Mora-Escobedo R. Aloe vera: capacidad antioxidante y uso potencial como agente terapéutico en el tratamiento del Alzheimer mediante evaluación in silico. *Revistaciencia.v18i2.1803*. [Online].; 2023 [cited 2024 marzo 20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101300>.
26. González Cabarcas C. Identificación IN-SILICO de flavonoides bioactivos presentes en nueve frutas tropicales con potencial uso en el tratamiento de enfermedades asociadas a procesos inflamatorios crónicos. Universidad de Cartagena. [Online].; 2021 [cited 2024 marzo 20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.017> .
27. Cárdenas-Hernández E, Velázquez-Medina E, et al. Evaluación de compuestos bioactivos de plantas de uso medicinal en México, para predecir posibles inhibidores del SARS-CoV-2: análisis entre dos servidores de acoplamiento molecular. *Revista Bio Ciencias* 10, e1395. [Online].; 2023 [cited 2024 marzo 20. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/343649725> An In silico perception

for newly isolated flavonoids from peach fruit as privileged avenue for a countermeasure outbreak of COVID-19.

28. Pires C. Morfología y estructura bacteriana. *Current Raptor Studies in México CIBNOR-CON*: 71–82. [Online].; 2014 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://www.yumpu.com/es/document/view/31433444/morfologia-y-estructura-bacteriana>.
29. Alvarez Serrano ME, Alao Maza MA. Prevalencia de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* en el personal del Hospital Vicente Corral Moscoso y Hospital Militar, patrón de sensibilidad antimicrobiana. Cuenca, 2010. *Rev Fac Cienc Médicas Univ Cuenca*. [Online].; 2013 [cited 2023 Julio 4. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/20620>.
30. Wernli D, Jørgensen PS, Harbarth S, Carroll SP. Antimicrobial resistance: the complex challenge of measurement to inform policy and the public. *PLoS Med*;14:e1002378. [Online].; 2017 [cited 2023 Julio 4. Available from: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S0016-3813202000020017200018&lng=en.
31. Molina J. Virulencia del *Staphylococcus aureus* en la población aledaña a centros de salud. Universidad Peruana Unión. [Online].; 2020 [cited 2024 marzo 23. Available from: <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/3179>.
32. Diaz de Medina G. Infecciones causadas por bacterias grampositivas multirresistentes (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* spp.). *Microbiología de Enfermedades Infecciosas*, 31(8), 543–551. [Online].; 2013.
33. Ensink G, Ernst A. Infecciones por *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido en la comunidad: experiencia de 10 años en un hospital pediátrico de Rosario, Argentina. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 116(2):

- 119–125. [Online].; 2018 [cited 2024 marzo 23. Available from: https://www.sap.org.ar/uploads/archivos/files_ao_ensinck_9-2-18pdf_1518198817.pdf.
34. Herrera K. Prevalencia de Staphylococcus aureus resistente a la meticilina. Tesis de grado: universidad central del Ecuador. [Online].; 2015 [cited 2023 Julio 4. Available from: <http://200.12.169.19/bitstream/25000/8242/1/T-UC-0006-051.pdf>.
35. Hernandez-Sarmiento R. Prevalencia y perfil de susceptibilidad de Staphylococcus aureus meticilino resistente de fenotipo comunitario en jóvenes deportistas. Rev. mex. pediatr.86(1):13-17. [Online].; 2019 [cited 2024 marzo 23. Available from: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0035-00522019000100013.
36. OMS. Porcentaje de infecciones del torrente sanguíneo debidas a Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM). [Online].; 2023 [cited 2024 marzo 23. Available from: <https://data.who.int/es/indicators/i/5DD9606>.
37. Giono-Cerezo S, et al. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. Gac. Méd. Méx, 156(2):172-180. [Online].; 2020 [cited 2023 Julio 4. Available from: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132020000200172.
38. Vaca C E, Cruz P S, Iñiguez J S. Prevalencia de Staphylococcus aureus meticilino resistente en el personal de salud de un Hospital de Especialidades en Quito-Ecuador. Revista San Gregorio, (45). [Online].; 2021 [cited 2024 marzo 23. Available from:

<https://revista.sangregorio.edu.ec/index.php/REVISTASANGREGORIO/article/view/1515>.

39. Cuenca Riascos E. Staphylococcus aureus meticilino resistente en personal de salud del Hospital Isidro Ayora - Loja. Tesis de grado. Univesidad Nacional de Loja. [Online].; 2015 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/13881/1/TESIS%20FINA>
40. Gurusamy KS, Koti R, et al. Antibioticoterapia para el tratamiento de las infecciones por Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM) en heridas quirúrgicas. Cochrane. [Online].; 2013. Available from: https://www.cochrane.org/es/CD009726/WOUNDS_antibioticoterapia-para-el-tratamiento-de-las-infecciones-por-staphylococcus-aureus-resistente-la.
41. Virga MC. Farmacología de las infecciones. Argentina. Universidad Nacional. [Online].; 2020. Available from: <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/27397/Farmacolog%C3%ADa%20de%20las%20infecciones.pdf?sequence=3&isAllowed=y>.
42. Morón R F. Farmacología General. Cuba. editorial Ciencias Médica. [Online].; 2002.
43. Mora X. Diferenciando Bacterias Gram +y Gram -. Selecciones avícolas. [Online].; 2012 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2012/2/6536-diferenciando-bacterias-gran-y-gram.pdf>.
44. Samaniego-Lucas G, et al. Staphylococcus aureus: factores asociados a su hipervirulencia y adhesión y formación de biopelículas. Pol. Con. 6(9): 1826-1860. [Online].; 2021 [cited 2024 marzo 23. Available from:

[file:///C:/Users/USER/Downloads/Dialnet-StaphylococcusAureus-8094512%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USER/Downloads/Dialnet-StaphylococcusAureus-8094512%20(1).pdf).

45. Russo R, Speranza S M. Los flavonoides en la terapia cardiovascular. Rev. costarric. (8)1: 13-18. [Online].; 2006 [cited 2023 julio 4. Available from: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-41422006000100003&script=sci_abstract&tlng=es.
46. Carrión Jara A. Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica. Tesis de Grado. Universidad de Cuenca. [Online].; 2010 [cited 2023 Julio 4. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>.
47. García A F, Periago G M. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Fundación Dialnet. ISBN: 84-689-9795-1. [Online].; 2016 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=6036>.
48. Wang T, Li Q, Bi K. Flavonoides bioactivos en plantas medicinales: Estructura, actividad y destino biológico. Asian J Pharm Sci.13(1):12-23. [Online].; 2018. Available from: https://www.researchgate.net/publication/319126182_Bioactive_flavonoids_in_medicinal_plants_Structure_activity_and_biological_fate.
49. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoides: una visión general. 29;5:e47. [Online].; 2016 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5465813/>.
50. IIDENUT. Los flavonoides, clasificación e impacto en la salud. [Online].; 2022 [cited 2023 Julio 4. Available from:

<https://www.iidenut.org/instituto/2022/10/14/los-flavonoides-clasificacion-e-impacto-en-la-salud/>.

51. Rodríguez M J, Torrenegra G R, Bautista B L. Contribución al estudio de flavonoides en hojas y determinación de la actividad antioxidante en *Chromolaena tacotana* (klatt) T. M. King & H. Rob. Repositorio Institucional UDCA. Tesis de Grado. [Online].; 2017 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/720?show=full>.
52. Martínez A. Flavonoides - Facultad de Química Farmacéutica - Universidad de Antioquia. [Online].; 2015 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://www.yumpu.com/es/document/view/14473174/flavonoides-facultad-de-quimica-farmaceutica-universidad->.
53. Surso Laos F. Evaluación de la actividad de flavonoides y sus metabolitos en el organismo modelo *Caenorhabditis elegans*.. [Online].; 2011 [cited 2023 Julio 4. Available from: https://www.europeana.eu/en/item/2022712/lod_oai_gredos_usal_es_10366_110630_ent0.
54. Schendel R S. Contenido de fenol en granos germinados. Granos germinados.. [Online].; 2019 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/flavanones>.
55. Górnjak I, Bartoszewski R, Króliczewski J. Revisión exhaustiva de las actividades antimicrobianas de los flavonoides vegetales. *Phytochem Rev.*18(1):241-72. [Online].; 2019 [cited 2024 marzo 24. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-018-9591-z>.

56. Forkmann G, Werner H. Biosynthesis of Flavonoids, *Comprehensive Natural Products Chemistry*, 713-748, ISBN 9780080912837. [Online].; 1999. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091283-7.00028-X>.
57. Hernández G S, Marino L, Inser D. Flavonoides. aplicaciones medicinales e industriales. *Invenio*. 22(40):2. [Online].; 2019 [cited 2023 Julio 4. Available from: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/113738/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
58. Drago Serrano M. Flavonoides recombinantes de relevancia farmacéutica. *Rev Ing y Competitividad*. 6(2):93-104. [Online].; 2007 [cited 2024 marzo 24. Available from: https://www.academia.edu/36962555/Flavonoides_recombinantes_de_relevancia_farmac%C3%A9utica Recombinant flavonoids of pharmaceutical relevance.
59. González-Jiménez FE, Hernández-Espinosa N. Empleo de antioxidantes en el tratamiento de diversas enfermedades crónico-degenerativas. *Rev Esp Cienc Salud*. 18(1):16-21. [Online].; 2015 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=60707>.
60. Górnaiak I, Bartoszewski R, Króliczewski J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochem Rev* 18, 241–272. [Online].; 2019 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-018-9591-z#citeas>.
61. Higdon J. Flavonoides. *Inst Linus Pauling Univ Estatal Or*. [Online].; 2014 [cited 2024 marzo 24. Available from: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids>.

62. Babii Cornelia MG, Bahrin Lucian D. Un flavonoide sintético novedoso con potentes propiedades antibacterianas: actividad in vitro y modo de acción propuesto.. [Online].; 2018 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/a>.
63. Manjinder S, Om S. Chapter 4 - Flavone: An Important Scaffold for Medicinal Chemistry, Key Heterocycle Cores for Designing Multitargeting Molecules. Elsevier. 133-174. ISBN 9780081020838. [Online].; 2018. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10856-016-5796-0>.
64. Cushnie TP, Lamb AJ. AJ. Avances recientes en la comprensión de las propiedades antibacterianas de los flavonoides. *Int J Antimicrob Agents*.38(2):99-107. [Online].; 2011 [cited 2024 marzo 24. Available from: <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1949848>.
65. Thebti A, Meddeb A, et al. Antimicrobial Activities and Mode of Flavonoid Actions. *Antibiotics (Basel)*.12(2):225. [Online].; 2023 [cited 2024 marzo 24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9952116/>.
66. Betts JW, Hornsey M. Nuevos antibacterianos: alternativas a los antibióticos tradicionales. Poole RK, editor. *Adv Microb Physiol*. 73: 123-69. [Online].; 2018 [cited 2024 marzo 24. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065291118300195>.
67. Budzynska A, Rozalski M, Karolczak W. 3-arilidenflavanonas sintéticas como inhibidores de las etapas iniciales de la formación de biopelículas por *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. *Z Naturf. C* 66:104–114. [Online].; 2011 [cited 2024 marzo 24. Available from: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2011-3-403/html>.

68. Soromou LW, Zhang Y Y. Las concentraciones subinhibitorias de pinocembrina ejercen actividad anti-Staphylococcus aureus al reducir la toxina alfa expresión. J Appl Microbiol 115:41. [Online].; 2013 [cited 2024 marzo 24. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10292-3>
69. Luzuriaga M, Carpio JM. Evaluación in silico de catequinas como inhididores de la beta-lactamasa Tem-1 de Escherichia coli". [Online].; 2022 [cited 2023 Julio 4.
70. Ballón Paucara WG, Grados Torrez RE. Acomplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. Rev CON-Cienc;7(2):55-72. [Online].; 2019 [cited 2023 Julio 4. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08359-x>
71. Eberhardt J, et al. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. J. Chem. Inf. Model. 61(8): 3891–3898. [Online].; 2021. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jcim.1c00203>.
72. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep.3;7:42717. [Online].; 2017. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28256516/>.
73. Bernan H, Henrick K, Nakamura H. Anuncio del banco de datos de proteínas mundial. Nat Struct Mol Biol 10 , 980. [Online].; 2003. Available from: <https://www.nature.com/articles/nsb1203-980>.
74. Amorim JC, Carpio, JM. Alpha-Naphthoflavone as a Novel Scaffold for the Design of Potential Inhibitors of the APH(3')-IIIa Nucleotide-Binding Site of

Enterococcus faecalis. *Microorganisms* 2023, 11(9), 2351. [Online].; 2023 [cited 2024 6 20. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092351>

75. Shamsudin NF, Ahmed QU, Mahmood S, et al. Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. *9;27(4):1149*. [Online].; 2022 [cited 2024 6 20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.015>
76. Roy A, Khan A, Ahmad I, Alghamdi S, et al. Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. *Biomed Res Int*. 2022:5445291. [Online].; 2022 [cited 2024 6 20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9192232/>.
77. Yamaguchi LF, Vassão DG, Kato MJ, Mascio P. Biflavonoids from Brazilian pine *Araucaria angustifolia* as potentials protective agents against DNA damage and lipoperoxidation. *Phytochemistry*. 66(18):2238-47. [Online].; 2005 [cited 2024 6 20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.017>
78. Kuok CF, Hoi SO, Hoi CF. Synergistic antibacterial effects of herbal extracts and antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A computational and experimental study. *Exp Biol Med (Maywood)*. 242(7):731-743. [Online].; 2017 [cited 2024 6 20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5363687/>.
79. Titaporn C, et al. Enzymatic Synthesis, Structural Analysis, and Evaluation of Antibacterial Activity and α -Glucosidase Inhibition of Hesperidin Glycosides. *Catalysts*. 11(5), 532. [Online].; 2021 [cited 2024 6 20. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4344/11/5/532>.
80. Shuai-Cheng Wu , et al. Natural Flavones from *Morus alba* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* via Targeting the Proton Motive Force and

Membrane Permeability. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 67 (36), 10222-10234. [Online].; 2019 [cited 2024 6 20. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3406-1>

81. Mona El-Aasr , et al. Antimicrobial and Immunomodulatory Activities of Flavonol Glycosides Isolated From *Atriplex halimus* L. Herb. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 8(10):1159-1168. [Online].; 2016 [cited 2023 Julio 3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101300>.

82. Landeta M J. Evaluación de la actividad antibacteriana de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Treinta Reales, utilizando un modelo in vivo. [Online].; 2015 [cited 2023 Julio 3. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6365>.

ANEXOS

Autorización de publicación en el repositorio institucional

Einstein Angel Espinoza Reyes portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0705880466**. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “**Evaluación in silico de los derivados de flavonoides como inhibidores de PBP2a de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina**” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **29 de julio de 2024**

F: 

Einstein Angel Espinoza Reyes

C.I. 0705880466