

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de nuevos
compuestos orgánicos derivados de benzimidazol, hidrazidas,
pirazol y piridazina, frente a *Staphylococcus aureus***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA:
RUIZ GARCÍA CITLALLI

ASESOR:
Dr. Tonatiuh A. Cruz Sánchez

COASESORES:
Dra. Betsabé Rodríguez Pérez
Dr. José Guillermo Penieres Carrillo

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos:

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por todo lo que me enriqueció, por prepararme y darme la oportunidad de realizar mis estudios, pero sin duda alguna por dejarme decir con orgullo que soy egresada de la UNAM.

A mi madre y familia, por cuidarme, darme fuerzas, ayudarme a levantar después de cada tropiezo y apoyarme siempre, gracias por su sacrificio y amor, y porque sencillamente sin todo ello, no habría sido posible culminar mis estudios.

Dr. Tonatiuh A. Cruz, gracias por todo el apoyo y facilidades que me brindo para hacer posible este trabajo, gracias de corazón por la confianza otorgada desde que llegue al laboratorio y sus valiosos consejos, orientación y por haberme tenido la paciencia necesaria, así como motivarme a seguir adelante y estar siempre pendiente de mi avance.

Dra. Betsabé Rodríguez, gracias por la confianza y por dejarme ser parte de su gran equipo de trabajo, y sobre todo por la paciencia y por compartir conmigo sus valiosas ideas, conocimientos y su tiempo.

Dr. Guillermo Penieres, gracias por su apoyo para que se lograra este proyecto, por regalarme un poco de su valiosa experiencia, por la orientación, dedicación, conocimiento que compartió conmigo y gracias por el tiempo dedicado a cada detalle de este trabajo.

Al Dr. Ricardo Luna, gracias de corazón por compartir conmigo los frutos de su trabajo y conocimiento, por el apoyo y asesoría.

Al comité Sinodal:

Q. Laura Gómez, gracias por el material facilitado y las sugerencias que enriquecieron este trabajo.

Dr. Fernando Ortega, M. en C. Paola Briseño y Q.F.B. Verónica Ruiz, agradezco infinitamente la revisión tan cuidadosa que realizaron de este texto y sus valiosas sugerencias y sobre todo por compartir conmigo su conocimiento.

A mis amigas:

Itzel Venegas por ser más una que amiga, una hermana, por el gran apoyo moral, por los consejos, las risas, las aventuras y por siempre acompañarme no solo en buenos momentos, si no en momentos difíciles de la vida, por hacer esta etapa de la universidad algo que siempre recordare.

Cin, gracias por tú amistad incondicional, por acompañarme a lo largo de este camino desde la preparatoria, porque a pesar de los rumbos diferentes que tomamos, siempre tengo tú apoyo y siempre estás ahí cuando la necesito.

A todos, muchas gracias.

Por mí raza hablará el espíritu.

José Vasconcelos.

Este trabajo fue realizado bajo el apoyo de:

- Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM IN218515 **“Síntesis de derivados de triaza ciclos de 9-13 miembros, empleando principios de química verde y evaluación de su actividad antimicrobiana”**.
- Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM IT200915 **“Desarrollo de productos con propóleo para su uso en la pasteurelosis del conejo, el distemper canino y la otitis canina”**
- Programa Interno de Apoyo para Proyectos de Investigación PIAPI 1618 **“Química Heterocíclica”** de la FES Cuautitlán.
- Programa Interno de Apoyo para Proyectos de Investigación PIAPI 1632 **“Desarrollo de productos sintéticos y prototipos farmacéuticos a base de propóleo para su aplicación en la salud animal”** de la FES Cuautitlán.

Área de trabajo para el desarrollo del presente trabajo:

- **Laboratorio 6 de Bioprospección Microbiológica** de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, UNAM, a cargo del Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
1. ÍNDICE DE TABLAS	5
2. ÍNDICE DE FIGURAS	6
3. ÍNDICE DE GRÁFICAS	8
4. ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y ACRONIMOS	9
5. RESUMEN	11
6. INTRODUCCIÓN	13
7. AZOLES, BENZIMIDAZOLES, DIAZINAS E HIDRAZIDAS	14
7.1 Azoles	14
7.2 Benzimidazoles	16
7.3 Diazinas	18
7.4 Hidrazidas	19
8. ANTIMICROBIANOS	20
9. RESISTENCIA ANTIBACTERIANA	23
10. <i>Staphylococcus aureus</i>	23
10.1 MORFOLIGÍA E IDENTIFICACIÓN	25
10.2 COMPONENTES CELULARES	27
10.3 PATOGENICIDAD	28
10.4 EPIDEMIOLOGÍA	31
11. JUSTIFICACIÓN	32
12. HIPÓTESIS	33
13. OBJETIVOS	34
13.1 OBJETIVO GENERAL	34

13.2 OBJETIVOS PARTICULARES	34
14. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	35
14.2 MATERIALES Y REACTIVOS	36
14.3 COMPUESTOS ORGÁNICOS A EVALUAR	36
14.3.1 PREPARACIÓN DE COMPUESTOS	44
14.4 ACONDICIONAMIENTO DE LA CEPA Y TÉCNICA DE DIFUSIÓN RADIAL EN DISCO	45
15. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
16. CONCLUSIONES	63
17. REFERENCIAS	64

1. ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO	PÁGINA
Tabla 1. Mecanismo de acción de principales antimicrobianos	21
Tabla 2. Enfermedades causadas por <i>S. aureus</i>	24
Tabla 3. Pruebas bioquímicas para identificación de <i>S. aureus</i>	26
Tabla 4. Determinantes de patogenicidad en <i>S. aureus</i>	30
Tabla 5. Estructura e identificación de los compuestos orgánicos	37
Tabla 6. Identificación de compuestos por grupos	44
Tabla 7. Resultados de halos de inhibición producidos frente a <i>S. aureus</i> con antibióticos comerciales (control positivo)	46
Tabla 8. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos grupo A	49
Tabla 9. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos grupo B	51
Tabla 10. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos grupo C	54
Tabla 11. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos grupo D	56
Tabla 12. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos grupo E	57
Tabla 13. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos grupo G	59
Tabla 14. Resultados de compuestos más representativos en el estudio.	61

2. ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PÁGINA
Figura 1. Estructura de 1,3-Azoles, Z indica los posibles heteroátomos.	14
Figura 2. Estructuras de (A) histamina, (B) histidina.	14
Figura 3. Estructuras de 1,2-Azoles, Z indica los posibles heteroátomos	14
Figura 4. Estructura de sulfafenazol	15
Figura 5. Estructuras de Benzo-1,3-azoles, Benzo-1,2-azoles y Benzo-2,1-azoles	15
Figura 6. Anillo de Benzimidazol	16
Figura 7. Estructura de la vitamina B12. En esta molecula el anillo de Benzimidazol se encuentra en forma de Dimetilbenzimidazol	16
Figura 8. Estructura del núcleo de las purinas	17
Figura 9. Estructura de las diferentes diazinas, (A) Pirazina, (B) Pirimidina y (C) Piridazina	18
Figura 10. Estructuras de (A) Tiamina, (B) Citosina y (C) Uracilo	18
Figura 11. Estructura de antibiótico trimetoprim	18
Figura 12. Estructura general de (A) Hidrazidas y (B) isoniazida	19
Figura 13. Estructura de la isoniazida.	19
Figura 14. <i>S. aureus</i> , se muestran cocos Gram positivos dispuestos en pares, tétradas y racimos 100 X.	25
Figura 15. Identificación de <i>S. aureus</i> .	26
Figura 16. Diagrama del diseño experimental	35

Figura 17	Zonas de inhibición antibiótica de discos comerciales de Meropenem (MEM) y Penicilina G (PE-G) en una placa con <i>S. aureus</i> , ATCC 6538 en agar Mueller-Hinton	47
Figura 18	Comparación de las estructuras entre compuestos (A) Molécula de Sulfamida, (B) compuesto A5 y (C) compuesto A7	50
Figura 19	Comparación de las estructuras: (A) compuesto A5 y (B) compuesto B8, se observa en los dos compuestos, la sustitución en la posición <i>orto</i> por un grupo amino.	53
Figura 20	Comparación de las estructuras: (A) compuesto B2 y (B) compuesto C2	55
Figura 21	Estructura de: (A) compuesto G2, (B) antibiótico trimetoprim	59

3. ÍNDICE DE GRÁFICAS

CONTENIDO	PÁGINA	
Gráfica 1	Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo A, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).	50
Gráfica 2	Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo B, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).	52
Gráfica 3	Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo C, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).	55
Gráfica 4.	Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo D, con respecto a los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).	56
Gráfica 5.	Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo E, con respecto a los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).	58
Gráfica 6	Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo G, con respecto a los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).	60
Gráfica 7	Compuestos representativos en comparación como antibióticos comerciales PE-G y MEM.	61

4. ABREVIATURAS Y ACRONIMOS

ATCC:	American Type Culture Collection (Colección Americana de Cultivos Tipo)
°C:	Grados centígrados
CLSI:	Clinical Laboratory and Standards Institute (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio)
CRF:	Clotting Reaction Factor (Factor de Reacción de la Coagulasa)
DMSO:	Dimetil Sulfoxido
DSA:	Discos de sensibilidad antibiótica
EDTA:	Ethylenediaminetetraacetic acid (Ácido Etilendiaminotetraacético)
ETA:	Exfoliative Toxin A (Toxina exfoliativa A)
ETB:	Exfoliative Toxin B (Toxina exfoliativa B)
g:	Gramos
h:	Hora
IAAS:	Infecciones asociadas a la atención de la salud
IS:	Insertion Sequences (Secuencias de Inserción)
MDR:	Multiple Drug Resistance
MEM:	Meropenem
µg	Microgramo
mg:	Miligramo
µL:	Microlitro
mL:	Mililitro
µm:	Micrómetro
mm:	Milímetro
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PABA:	<i>Para</i> -aminobenzoic acid (Ácido <i>para</i> -aminobenzoico)
PAS:	<i>Para</i> -aminosalicylic acid (Ácido <i>para</i> -aminosalicílico)
PBP's:	Penicillin Binding Proteins (Proteínas Fijadoras de Penicilinas)
PE-G:	Penicilina G
R:	Resistente
RHOVE:	Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica
S:	Sensible
<i>S. aureus:</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

SE: Staphylococcal Enterotoxin (Enterotoxinas Estafilocócicas)
SINAVE: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica
Tn: Transposones
TSST-1: Toxina del síndrome de shock tóxico
U: Unidades
UFC: Unidades Formadoras de Colonia
VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

5. RESUMEN

El presente trabajo muestra la evaluación de la actividad antimicrobiana de 67 nuevos compuestos orgánicos heterocíclicos sintetizados en su mayoría a partir de derivados de benzimidazoles, y otros de hidrazidas, pirazol y piridazina, los cuales, para fines experimentales, fueron separados con base en su estructura química en los grupos A, B, C, D, E, F y G.

Estos compuestos fueron obtenidos por síntesis orgánica y proporcionados por el laboratorio L-121 de la sección de Química Orgánica de la FES-Cuautitlán. Se determinó su posible actividad antimicrobiana utilizando la técnica de difusión radial en disco, con una cepa de referencia de *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538, la cual se cultivó en placas de agar Mueller-Hinton adicionada con 2% de glucosa.

Se utilizó como testigo negativo discos impregnados con DMSO y como testigos positivos antibióticos comerciales los cuales fueron Penicilina G (10 U) y Meropenem (10 µg) marca Bio-Rad. Para la evaluación de los compuestos fue necesario disolverlos en DMSO y se impregnaron en discos estériles de papel filtro, asegurando una concentración de 4 mg/ disco.

Algunos compuestos (A2, A6, A8, B3, C6, C7, C10, E2, E3) resultaron insolubles por lo que fueron descartados de la experimentación, mientras otros compuestos del grupo D, E y F no fueron representativos en este trabajo, debido a su baja o nula actividad antimicrobiana.

Los resultados obtenidos fueron comparados con los testigos positivos y se encontró que todos los compuestos derivados de benzimidazoles de los grupos A, B, C y G mostraron halos de inhibición superior que el antibiótico comercial Penicilina G (12 mm), con excepción del compuesto B10 y G1, los cuales no mostraron actividad.

Algunos compuestos mostraron halos de inhibición superiores respecto al testigo positivo Meropenem (halo de 26 mm), como lo fueron A4 (28 mm) A5 (32mm) A7 (31mm) A10 (31mm) B2 (28mm) y C2 (50mm), los cuales se pueden determinar como los más efectivos y podrían ser de interés por su potencial efecto antimicrobiano frente a *S. aureus*.

Con base en los resultados, se analizaron las estructuras químicas de los compuestos demostrando que los grupos con estructura similar al benzimidazol presentaron un mayor efecto, lo que puede radicar en la competencia con las purinas resultante en la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas de las bacterias.

Otro factor importante que aumentó la actividad antimicrobiana fue la adición de sustituyentes fenilo, ya que al comparar el efecto del compuesto C2 con el B2, los dos compuestos se encuentran sustituidos por este grupo fenilo y fueron los de mayor actividad antimicrobiano en cada uno de sus respectivos grupos.

Adicionalmente, se pudo observar que puede existir una relación entre la actividad antimicrobiana y la presencia de sustituyentes electrodonadores (amino) y electroattractores (nitro), y que, a su vez, aumenta visiblemente el efecto, dependiendo de la posición del anillo que se encuentre sustituida, ya que se pudo observar que la sustitución en la posición *para* del anillo fenilico, favorece el efecto antimicrobiano tanto para los compuestos A7 y A10.

Como el presente estudio fue experimental y los resultados de los compuestos que se muestran son una primera aproximación y factor predictivo para su eficacia clínica, es necesario realizar estudios y pruebas más específicas para poder determinar su mecanismo de acción, concentración mínima inhibitoria y esclarecimiento de toxicidad.

6. INTRODUCCIÓN

S. aureus es la principal especie patógena de su género, causa común de infecciones diversas, tanto de origen comunitario como hospitalario, es una de las principales causas de bacteriemia y endocarditis infecciosa, así como osteoarticular, de la piel, las membranas mucosas y de tejidos blandos. (Murray, Roshental y Pfaller, 2005).

Se transmite fácilmente a las áreas no infectadas del cuerpo, lo que se debe principalmente a su habilidad para colonizar al hospedero humano, a la presencia y expresión de importantes factores de virulencia y a su capacidad para desarrollar resistencia a varios antibióticos. (Cervantes, Garcia y Salazar, 2014).

S. aureus constituye un magnífico ejemplo de patógeno en constante evolución. Desde que se conoce su papel como agente causal de patología infecciosa, se ha demostrado su eficaz adaptación a las condiciones cambiantes del medio circundante y su evolución de la resistencia a los antimicrobianos. (Murray et al., 2005).

Esta resistencia se ve favorecida principalmente por el uso indiscriminado de antibióticos, generando microorganismos multirresistentes, provocando así la diseminación de cepas de *S. aureus* en los hospitales, lo que se ha considerado como uno de los mayores retos terapéuticos, tanto en el plano de la epidemiología como del tratamiento farmacológico de las enfermedades infecciosas. (Rincon et al., 2014).

Actualmente se encuentran fármacos disponibles en el mercado que destacan por la presencia de agentes con actividad contra bacterias Gram positivas multirresistentes, pero la alta capacidad de adaptación de las bacterias las lleva a desarrollar mecanismos de resistencia con una velocidad preocupante y, aunque la resistencia a estos nuevos agentes es poco común, la aparición de aislamientos resistentes revela la potencial amenaza de la emergencia de resistencia en el futuro. Es por lo que se ha llevado a cabo la síntesis de una nueva clase de agentes antimicrobianos derivados de moléculas, de las cuales ya se conoce su efecto, con el fin de encontrar nuevos agentes con mayor actividad antimicrobiana. Estos han sido evaluados *in vitro*, en donde, según lo reportado, se ha exhibido una actividad buena o moderada, lo que podría dar lugar a nuevos agentes. (Göker et al., 2005).

Estos derivados juegan un papel muy importante como agentes terapéuticos, ya que exhiben actividad como antimicrobianos. El fuerte carácter lipofílico de estas moléculas juega un papel esencial en la producción de efectos antimicrobianos. (Ansari y Lal, 2009)

7. AZOLES, BENZIMIDAZOLES, DIAZINAS E HIDRAZIDAS

7.1 Azoles

La base de los compuestos en estudio está ampliamente relacionada con los azoles, los cuales son compuestos heterocíclicos aromáticos de cinco miembros, con dos heteroátomos, de los cuales uno es un nitrógeno de tipo imina y se conocen con el nombre de 1,3-azoles y 1,2-azoles; también, pueden contener otro heteroátomo que puede ser azufre, oxígeno o nitrógeno como se muestra en la figura 1. (Héctor, 2014)

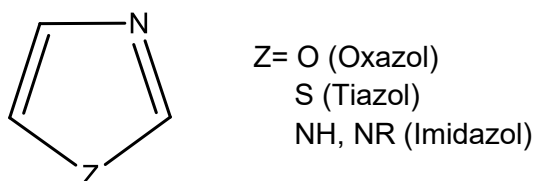


Figura 1. Estructura de 1,3-Azoles, Z indica los posibles heteroátomos.

Los tres compuestos 1,3-azoles, Imidazol, tiazol y oxazol son muy estables; oxazol y tiazol son solubles en agua, imidazol es sólido a temperatura ambiente con puntos de fusión y de ebullición muy superiores a los otros azoles. De los tres, el imidazol es el que tiene una mayor relevancia biológica, se encuentra en el aminoácido histidina y la hormona histamina, como se muestra en la figura 2, involucradas en las respuestas locales del sistema inmune (Joule y Mills, 2010).

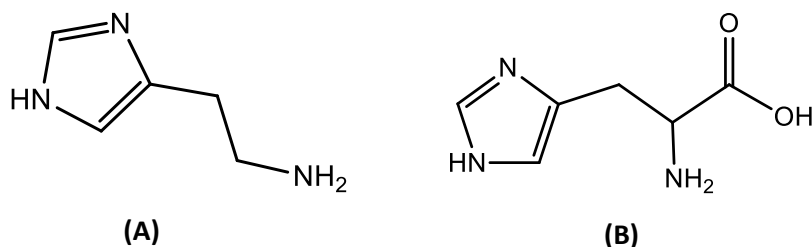


Figura 2. Estructuras de (A) histamina, (B) histidina.

Por otra parte, los tres 1,2-azoles, pirazol, isotiazol e isoxazol, como se muestran en la figura 3, se pueden entender comparándolos con los 1,3- diazoles. (Héctor, 2014).

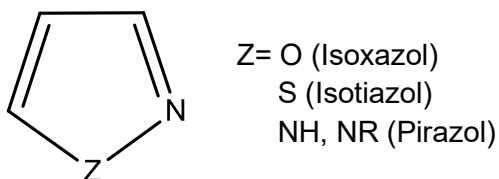


Figura 3. Estructura de 1,2-Azoles, Z indica los posibles heteroátomos.

El pirazol, es un heterocíclico aromático de cinco miembros que tienen dos átomos de nitrógeno en posiciones contiguas; al igual que el imidazol, es el que tiene una temperatura de fusión y ebullición más alta de los tres 1,2-diazoles. (Joule y Mills, 2010)

Se observa un rápido tautomerismo en el pirazol, lo que facilita la conversión de isómeros de sustituyentes en posiciones 3 y 5. (Héctor, 2014)

La relevancia de los compuestos derivados del pirazol es muy importante en la industria de los fármacos ya que se sabe que tanto el pirazol como varios de sus derivados *N*-sustituidos son utilizados como agentes terapéuticos en caso de envenenamiento por metanol, también se han encontrado acciones analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. (Joule y Mills, 2010)

También existen derivados pirazólicos pertenecientes al grupo de las sulfonamidas, como el sulfafenazol, figura 4, cuya actividad antibacteriana ha sido probada. (Medina, 2000).

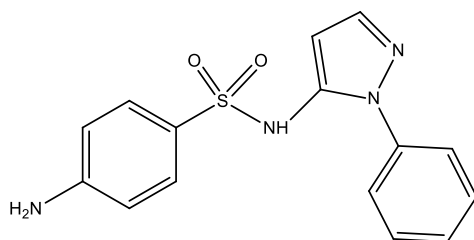


Figura 4. Estructura de sulfafenazol.

Existen también los benzoazoles aromáticos, como se muestra en la figura 5, son azoles fusionados a un benceno, los cuales en diversos estudios han demostrado, que sus derivados sustituidos tienen actividades como antifúngicas y antibacterianas altamente potentes. (Göker et al., 2005)

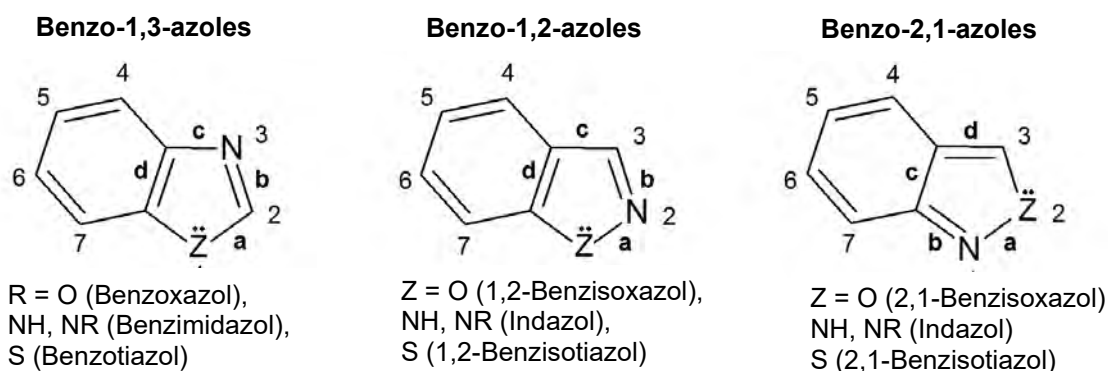


Figura 5. Estructuras de Benzo-1,3-azoles, Benzo-1,2-azoles y Benzo-2,1-azoles. (Héctor, 2014)

7.2 Benzimidazoles

Cuando en el benzoazol los dos heteroátomos son nitrógeno, se trata de un benzimidazol, su sistema de anillos como núcleo se encuentra en investigación ya que se podrían desarrollar a partir de él, nuevos agentes quimioterapéuticos. (Göker et al., 2005)

El benzimidazol, como se muestra en la figura 6, es un compuesto orgánico aromático heterocíclico, es un importante compuesto que posee muchas propiedades farmacológicas, es de naturaleza bicíclica que consiste en la fusión de benceno e imidazol. (Héctor, 2014)

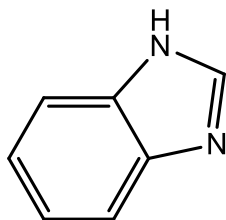


Figura 6. Anillo de Benzimidazol.

Químicamente, es un compuesto estable que puede tener reacciones electrofílicas, nucleofílicas y ciclocondensaciones, la facilidad y versatilidad de su manipulación química y su potencialidad para producir compuestos con un amplio espectro de actividad, ha permitido su investigación en donde se ha encontrado que varios derivados de benzimidazol actúan como agentes quimioterapéuticos y se han encontrado amplias aplicaciones clínicas. (Bansal y Silakari, 2013)

De manera natural existen moléculas que poseen este sistema de anillos como las coenzimas de la vitamina B12, en la cual el benzimidazol es una parte integral de la molécula como se observa en la figura 7. (Ansari y Lal, 2009).

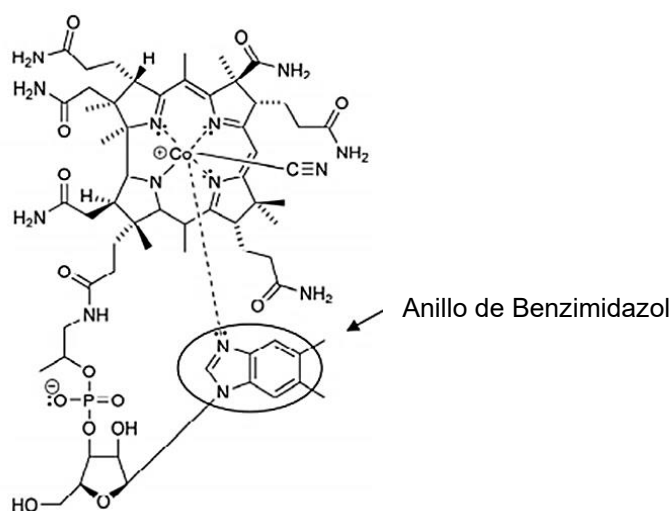


Figura 7. Estructura de la vitamina B12. En esta molécula el anillo de benzimidazol se encuentra en forma de dimetilbenzimidazol. (Héctor, 2014)

Se ha observado que el fragmento de benzimidazol y algunos de sus derivados suprimen el crecimiento bacteriano; este descubrimiento fue seguido por tentativas de crear nuevas preparaciones antibacterianas basadas en sus derivados. (Ansari y Lal, 2009).

Existen otras sustancias biológicas naturales como las bases de purina, como se muestra en la figura 8, que también incluyen un resto de benzimidazol en su estructura.

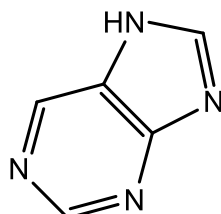


Figura 8. Estructura del núcleo de las purinas.

Se ha reportado que varios derivados del benzimidazol poseen diferentes actividades farmacológicas como antimicrobiano, antimicótico, neuroléptico, para tratamiento contra el VIH/SIDA, antihelmíntico, antihistamínico, antiulceroso, cardiotónico y antihipertensivo. (Göker et al., 2005)

A partir de estos descubrimientos, se ha realizado la síntesis y evaluación biológica de una variedad de nuevos derivados de benzimidazol, los cuales dieron como resultado compuestos con mayor estabilidad, biodisponibilidad y actividad biológica, esto con el fin de obtener agentes terapéuticos más efectivos. (Ansari y Lal, 2009)

Según la literatura, se ha demostrado la importancia que tiene las sustituciones en las posiciones 1, 2 y 5 del anillo de benzimidazol para sus actividades farmacológicas. Se han reportado benzimidazoles 2-fenil sustituidos con diferentes actividades biológicas, como antimicrobianos, antibacterianos, antitumorales, antivirales y antiinflamatorios. (Göker et al., 2005)

Hasta el momento, el mecanismo por el que los benzimidazoles tienen un efecto antimicrobiano parece radicar en la competencia por las purinas, que resulta en la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas de las bacterias. (Bansal y Silakari, 2013)

7.3 Diazinas

Las diazinas son heterociclos aromáticos de seis miembros que contienen dos átomos de nitrógeno de tipo imina; las diferentes diazinas, de acuerdo con la posición en la que se encuentren los átomos de nitrógeno, son nombradas como pirazina, pirimidina y piridazina. Como se observa en la figura 9, la molécula de pirazina contiene los átomos de nitrógeno en las posiciones 1 y 4, en segundo lugar, la pirimidina con los átomos de nitrógeno en la posición 1 y 3, por último, la piridazina con sustitución en la posición 1 y 2. (Ansari y Lal, 2009)

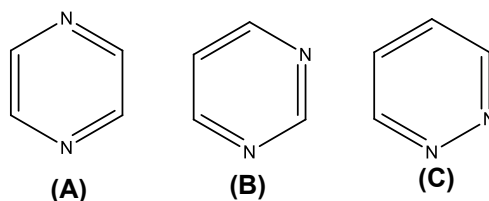


Figura 9. Estructura de las diferentes diazinas, (A) Pirazina, (B) Pirimidina y (C) Piridazina.

Los derivados de diazinas más estudiadas son los oxo y aminopirimidinas: tiamina, citosina y uracilo, que se encuentran como bases en el ADN y ARN; son las diazinas más importantes las cuales se muestran en la figura 10. En estos ciclos la presencia de los sustituyentes oxo o amino favorece la sustitución electrofílica. (Héctor, 2014)

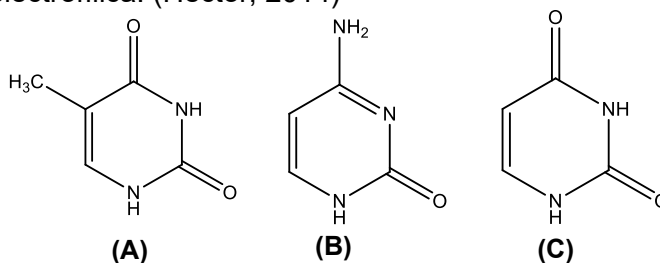


Figura 10. Estructuras de (A) Tiamina, (B)Citosina y (C) Uracilo.

Las estructuras de diazinas se pueden localizar en muchos fármacos, como en el antibacteriano trimetoprim como se muestra en la figura 11. (Medina, 2000)

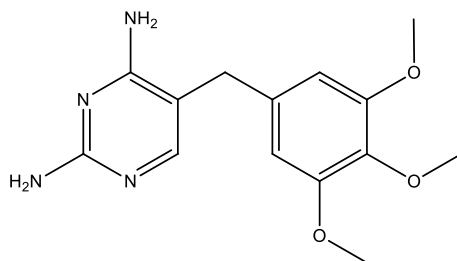


Figura 11. Estructura de antibiótico trimetoprim.

7.4 Hidrazidas

En química orgánica, las hidrazidas son compuestos que se caracterizan por tener un enlace covalente nitrógeno-nitrógeno y se caracteriza por tener cuatro sustituyentes en el que al menos uno es un grupo acilo, la estructura general para una hidrazida se observa en la figura 12 (Héctor, 2014).

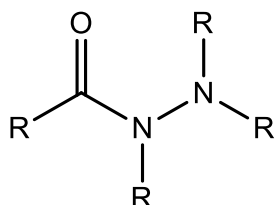


Figura 12. Estructura general de hidrazidas.

Se sabe que algunos derivados de hidrazidas poseen actividades antibacterianas como el caso del ácido isonicotínico, también conocida como isoniazida, figura 13, es un fármaco antituberculoso activo frente a *Mycobacterium tuberculosis*, es una sustancia con una elevada actividad ya que ejerce un efecto sobre la proliferación de bacilos tuberculosos, por lo que es utilizado para tratar todos los tipos de tuberculosis, se sugiere que produce bacteriostásis por impedir la formación de un metabolito esencial para el desarrollo del bacilo (Medina, 2000).

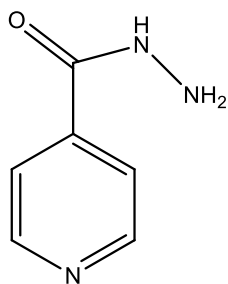


Figura 13. Estructura de la isoniazida.

8. ANTIMICROBIANOS

Un antimicrobiano se define como cualquier molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos. Los antimicrobianos ideales ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tienen elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones y la toxicidad es selectiva, con una mínima toxicidad para las células de nuestro organismo. (Pérez y Mota 2006).

Su acción y efecto sobre las células microbianas pueden ser:

1. Microbicida: El sufijo **-cida** indica muerte, incapacidad de reproducción
2. Microbiostáticos: este término deriva de la palabra griega **stasis** que significa detención, estos inhiben el desarrollo y la reproducción

Los mecanismos primarios de acción de los antimicrobianos son cinco:

- ❖ Inhibición de la síntesis de la pared celular
- ❖ Alteración de la membrana celular
- ❖ Inhibición de la síntesis de proteínas
- ❖ Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos
- ❖ Competitividad metabólica

Según el espectro de acción, los antibacterianos pueden clasificarse en: a) amplio: aquellos antibióticos que son activos sobre un gran número de especies y géneros diferentes y b) reducido: antibióticos activos sobre un grupo mínimo de especies. (Medina, 2000).

En la tabla 1 se muestran los principales antimicrobianos y su mecanismo de acción.

Tabla 1. Mecanismo de acción de principales antimicrobianos (Medina, 2000).

Principales mecanismos de acción de los antimicrobianos	Ejemplos	Mecanismo de Acción	
Inhibición de la síntesis de la pared celular	<ul style="list-style-type: none"> • Penicilina 	Son bactericidas y se fijan a los receptores celulares que son PBP (proteínas fijadoras de penicilina) localizadas en la membrana citoplasmática, encargadas de producir la transpeptidación dando lugar a lisis de la pared bacteriana.	
	β-Lactámicos	<ul style="list-style-type: none"> • Cefalosporinas • Aztreonam • Carbapanemes 	Actúan atravesando las membranas y la pared celular inhibiendo la acción de las PBP, debido a sus características estructurales tienen un mayor espectro y atraviesan fácilmente las paredes bacterianas de los microorganismos y presentan un alto grado de resistencia a las β-lactamasas
	<ul style="list-style-type: none"> • Fosfomicina 	Afecta la formación de enlaces glucosídicos, N-acetilglucosamina, N-acetilmurámico, que se realiza en el interior del citoplasma	
	<ul style="list-style-type: none"> • Vancomicina • Bacitracina • Cicloserina • Teicoplanina 	Ejercen su acción en la etapa intramembranosa de la síntesis de la pared, inhiben la elongación de la cadena de peptidoglicanos.	

Tabla 1. Mecanismo de acción de principales antimicrobianos (Medina, 2000). (Continuación)

Principales mecanismos de acción de los antimicrobianos	Ejemplos	Mecanismo de Acción
Alteración de la membrana celular	<ul style="list-style-type: none"> • Polimixina B • Colistin 	<p>Obtenida de <i>Bacillus polimixa</i>, es un polipéptido que ataca los fosfolípidos. Es bactericida, afecta a los microorganismos Gram negativos, pero solo puede usarse en forma tópica.</p> <p>El colistin es muy similar</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Anfotericina B • Nistatina 	<p>Son antimicóticos, se unen al grupo esteroles de la membrana y, por lo tanto, solo son activos contra los microorganismos que contienen estos compuestos en su membrana</p>
Inhibición de la síntesis proteica.	<ul style="list-style-type: none"> • Cloranfenicol 	<p>De amplio espectro, inhibe la síntesis de proteínas, penetra a la célula por un mecanismo de difusión facilitada y se une de manera reversible a la subunidad 50 S de los ribosomas, a este nivel interfiere a la incorporación de aminoácidos, mediante el bloqueo de la acción de la peptidil transferasa.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Tetraciclina 	<p>Ejercen un efecto bacteriostático, inhiben reversiblemente la síntesis proteica, se fijan a la subunidad 30 S, lo que impide el agregado de nuevos aminoácidos en la cadena peptídica.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Aminoglucósidos 	<p>Tienen la propiedad de unirse a los ribosomas en las subunidades 30S y 50S y bloquean la lectura del ARN mensajero en la fase inicial de la síntesis proteica. Son útiles en el tratamiento de infecciones debidas a Gram negativos, algunos además actúan alterando el DNA.</p>
Competitividad metabólica	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfamidas 	<p>En general compiten con un precursor de aminoácidos como el PABA, y así evitan la síntesis del ácido fólico que requieren muchos microorganismos.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Trimetoprim 	
	<ul style="list-style-type: none"> • PAS (ácido <i>para</i>-aminosalicílico) 	

9. RESISTENCIA ANTIBACTERIANA

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema de salud mundial que se encuentra en constante evolución; de manera frecuente se presentan nuevos mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos. (Canton y Morosini, 2011).

Es utilizada como mecanismo de defensa y es un fenómeno que existía antes del descubrimiento de los antibióticos y de su uso, pero que con su introducción en el tratamiento de enfermedades infecciosas, se ha intensificado debido al fenómeno denominado “presión selectiva” contra las bacterias, considerado como uno de los factores más importantes para la aparición y diseminación de la resistencia a los antibióticos. (Woodford, Turton y Livermore, 2011)

La resistencia se evita mediante el control rápido de las infecciones; las dosis inapropiadas favorecen el desarrollo de resistencia, incluso dosis mucho mayores pueden no conseguir el control de la infección, al igual que la elección de un antibiótico que no tenga actividad frente a ese microorganismo.

La denominada resistencia adquirida ocurre en una bacteria inicialmente sensible a los antibióticos por cambios, por mutaciones o por la adquisición de genes de resistencia durante el fenómeno conocido como transferencia genética lateral, que es un proceso por medio del cual un organismo transfiere material genético a otra célula que no es descendiente. (Woodford et al., 2011).

En la actualidad las cepas de *S. aureus* tienen un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes; este surgimiento representa una respuesta secuencial a la presión selectiva de una población impuesta por la terapia antimicrobiana y por el abuso de éste. (Canton y Morosini, 2011)

10. *Staphylococcus aureus*

S. aureus es un microorganismo de gran importancia médica y desde hace muchos años se le ha reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano. Forma parte de la familia *Micrococcaceae*, género *Staphylococcus*, el cual contiene más de 30 especies diferentes y muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del ser humano. Es el principal de su género, ya que se destaca como un importante patógeno humano; se encuentra ampliamente diseminado en el ambiente y posee características particulares de virulencia y resistencia. (Bannerman y Peacock, 2007)

Son bacterias muy resistentes al calor y la desecación, pueden crecer en medios con elevada salinidad, estas cualidades son una de las causas que explican algunos aspectos de la epidemiología de esta bacteria. (Boucher y Corey 2008).

En los humanos causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas como se muestra en la tabla 2; su principal impacto es ocasionado por las cepas de *S. aureus*. (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2005)

Tabla 2. Enfermedades causadas por *S. aureus* (Cervantes et al., 2014).

Invasión directa	• Superficial	<ul style="list-style-type: none"> • Piodermas, incluyendo impétigo y paroniquia • Infecciones de piel y tejidos blandos, forúnculos, celulitis, linfangitis, linfadenitis, etc.
	• Profundas	<ul style="list-style-type: none"> • Piomiositis • Artritis séptica • Osteomielitis
Diseminación por vía sanguínea		<ul style="list-style-type: none"> • Bacteriemia con o sin shock o falla multiorgánica • Formación de abscesos metastásicos (cerebro, pulmón, hígado, bazo, retroperitoneo, riñón, tracto genital, etc.)
Enfermedades mediadas por toxinas		<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de piel escaldada • Intoxicación alimentaria • Síndrome del shock tóxico

10.1 Morfología e identificación

Las bacterias de *S. aureus* son inmóviles, no forman esporas y la mayoría son anaerobias facultativas, son bacterias esféricas de casi 1 µm de diámetro, son cocos Gram positivos, pueden encontrarse solos, en pares, en cadenas cortas o en racimos, como se muestra en la figura 14 (Murray et al., 2005).

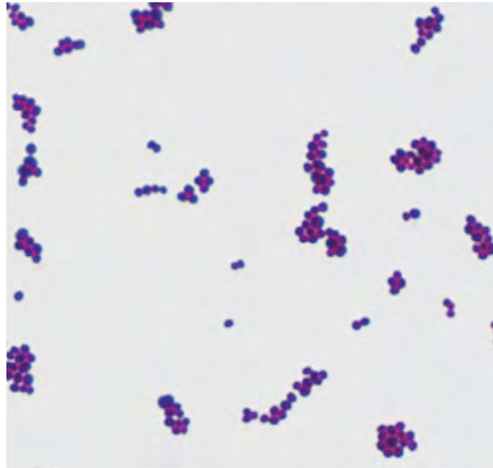


Figura 14. *S. aureus*, se muestran cocos Gram positivos dispuestos en pares tétradas y racimos 100 X. (López, 2014)

Inicialmente la detección de catalasa permite diferenciar el género *Staphylococcus* (catalasa positiva), de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* (catalasa negativos). (Cervantes et al., 2014).

Una de las características para diferenciar a *S. aureus* de las demás especies, es que produce la enzima coagulasa, que le permite coagular el plasma, por lo tanto *S. aureus* es la única coagulasa positivo a diferencia de las demás especies denominadas coagulasa negativa. (Mac Faddin, 2003).

Un resultado positivo de la prueba de coagulasa constituye, por lo común, el criterio de diagnóstico definitivo para la identificación de *S. aureus* y con frecuencia se utiliza para indicar la virulencia o patogenicidad. (Cervantes et al., 2014).

Tienen un crecimiento de entre 18 y 24 horas y crece formando colonias lisas, cremosas que miden de 1 a 3 mm, produciendo un típico pigmento amarillento debido a la presencia de carotenoides; también se caracteriza por resistir condiciones ambientales adversas y la desecación, así como cambios de temperatura, lo que explica su patogenicidad. (Murray et al., 2005)

Además de las pruebas anteriores, *S. aureus*, a diferencia de *S. epidermidis* y otras especies coagulasa negativas, puede fermentar el manitol, el medio utilizado de agar manitol-sal contiene 1% de manitol, NaCl al 7.5%, rojo de fenol y peptonas, por lo que la elevada concentración salina inhibe el crecimiento de otras bacterias.

S. aureus puede ser detectado por la presencia de una zona amarilla alrededor de las colonias, lo que indica la producción de ácido a partir del manitol (Mac Faddin, 2003). En la figura 15 se describen las pruebas generales para la identificación de *S. aureus*.

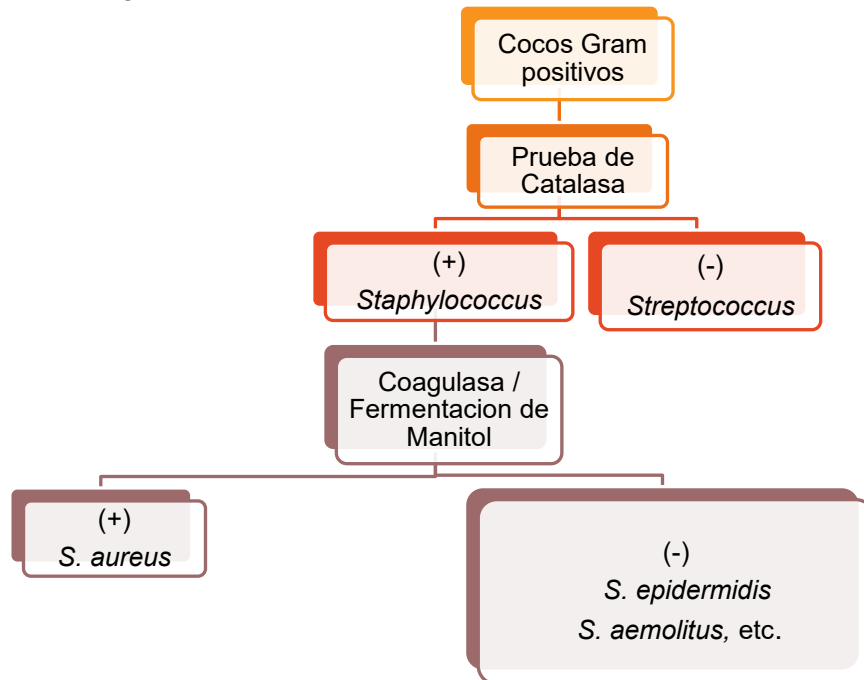


Figura 15. Identificación de *S. aureus* (Cervantes et al.,2014).

La tabla 3 muestra algunas de las pruebas bioquímicas para la identificación de *S. aureus*, como las pruebas de fermentación de azúcares. La fermentación de glucosa permite diferenciar el género *Staphylococcus* del género *Micrococcus*, que es también catalasa positiva, pero no fermenta la glucosa en anaerobiosis. (Bannerman y Peacock, 2007).

Tabla 3. Pruebas bioquímicas para identificación de *S. aureus* (Mac Faddin, 2003).

Gram	Catalasa	de Hidrolisis caseína	Voges- Proskauer	Fermentación de Azúcares								
				Fructosa	Galactos a	Glucosa	Lactosa	Maltosa	Manitol	Sucralos a	Xilosa	
+	+	+	+	A	A	AG	A	A	A	A	A	A

+: positivo, A: Producción de ácido, AG: Producción de ácido y gas.

10.2 Componentes celulares

Uno de los principales componentes de la pared celular, es el peptidoglicano; así como los ácidos teicóicos, el peptidoglicano proporciona forma y estabilidad a la bacteria y ésta tiene actividad de endotoxina, una de las causas de su patogenia; por otra parte, los ácidos teicóicos median la unión de *S. aureus* a las superficies mucosas mediante uniones específicas de fibronectina. (Cervantes et al., 2014).

La mayoría de las cepas de *S. aureus* están recubiertas uniformemente por una proteína denominada proteína A, que tiene una importante función antifagocitaria, ésta sirve como prueba específica de aglutinación con anticuerpos monoclonales, por lo que se utiliza para su identificación. (Bannerman y Peacock, 2007)

Otra proteína en la pared celular es la coagulasa, la cual se encuentra de dos formas, coagulasa libre o ligada. La coagulasa ligada convierte directamente, sin intervención de factores plasmáticos, el fibrinógeno en fibrina, produciendo la coagulación del plasma; por otra parte, la coagulasa libre requiere unirse a un factor específico, la protrombina, para activarse y catalizar la conversión de fibrinógeno en fibrina. (Calderón, Espinoza, y Avila, 2002). Otra de los componentes celulares es la membrana citoplasmática, la cual está formada por un complejo de proteínas, lípidos e hidratos de carbono. (Kaplan y Tenebaum, 1982)

S. aureus está recubierto por una capa de polisacáridos externos, denominado Slime o cápsula mucoide, que le confiere a la bacteria una mayor capacidad de adherencia, así como un aumento del efecto antifagocítico. (Kaplan y Tenebaum, 1982)

10.3 Patogenicidad

S. aureus, es la especie más virulenta del género, se caracteriza por poseer componentes estructurales singulares y de producir numerosas enzimas consideradas factores de virulencia, esto le confiere éxito de colonización y producción de enfermedades al ser humano. (Kaplan y Tenebaum, 1982)

Sus factores de virulencia participan en adhesión, adquisición de nutrientes y evasión de la respuesta inmune del hospedero. La presencia de cápsula es importante a nivel patogénico, ya que tiene propiedades antifagocíticas, además, posee diferentes proteínas de superficie que median la adherencia al tejido del hospedero, estas proteínas reconocen como receptores a moléculas tales como el fibrinógeno, fibronectina y colágeno. (Pahissa, 2009)

Casi todas las cepas de *S. aureus* producen un grupo de enzimas y citotoxinas que facilitan la evasión y destrucción tisular, entre ellas, hay cuatro hemolisinas (α , β , γ y δ), nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y colagenasa, fosfolipasa C y elastasa. La función de estas proteínas es la ayudar a degradar los tejidos locales del hospedero, para convertirlos en nutrientes para las bacterias. (Dinges, Orwin y Schlievert, 2000)

Las hemolisinas son importantes toxinas citolíticas sobre una variedad de células:

- α hemolisina: tiene efecto letal sobre una variedad de membranas celulares eucariotas, incluyendo la de PMN humanos, así como también la de eritrocitos de diferentes especies animales. Es responsable de la zona de hemólisis observada alrededor de las colonias de *S. aureus*.
- β hemolisina: es una esfingomielinasa activa sobre diferentes células: leucocitos, eritrocitos, fibroblastos.
- γ y δ hemolisinas: se encuentran en algunas cepas de *S. aureus* y lisan una variedad de células diferentes.

Algunas bacterias producen proteínas adicionales como la toxina 1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1), las enterotoxinas estafilocócicas (SE), las toxinas exfoliativas (ETA y ETB) y la leucocidina. (Dinges et al., 2000)

Las toxinas exfoliativas son responsables del síndrome de piel escaldada, actúa alterando la capacidad de adherencia de las células al estrato granuloso y provocando la separación de las capas más superficiales de la epidermis. La descamación epitelial generalizada que se produce se ha denominado síndrome de la piel escaldada o síndrome de Ritter, el cual es mucho más frecuente en niños recién nacidos, aunque también se han descrito casos en adultos. (Velazquez, 2005).

La producción de toxinas tiene lugar principalmente en bacterias en fase de latencia, lo que favorece su diseminación. (Dinges et al., 2000)

Otro de los factores de patogenicidad de *S. aureus* es la coagulasa. Ésta existe en dos formas, una forma unida (llamada también factor de aglomeración) y una forma libre. La coagulasa unida a la pared celular del estafilococo se une a la protrombina, este complejo trasforma el fibrinógeno en fibrina insoluble y esto provoca la aglomeración de los estafilococos. (Velazquez, 2005)

La importancia de la coagulasa en la patogenia de la enfermedad radica en que esta enzima causa la formación de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico, localizando la infección y protegiendo a la bacteria de la fagocitosis. (Forbes et al., 2009).

Una vez colonizada la superficie tisular, la bacteria construye una biocapa mediada principalmente por la producción de una sustancia denominada polisacárido de adhesión intracelular; ésta protege a *S. aureus* de los mecanismos de defensa del hospedero y de los antimicrobianos y explica la dificultad de erradicar las infecciones causadas. Además, esta bacteria puede sobrevivir intracelularmente en las células endoteliales, lo que contribuye a la evasión de los sistemas defensivos. (Togneri et. al 2016)

Otra enzima importante es la hialuronidasa o factor de difusión, capaz de romper el ácido hialurónico del tejido conectivo y colaborar así, al menos en teoría, en la difusión del microorganismo. (Pahissa, 2009).

En la tabla 4, se explican algunas determinantes de patogenicidad y sus propiedades.

Tabla 4. Determinantes de Patogenicidad en *S. aureus* (Pahissa, 2009).

Determinantes de Patogenicidad	Propiedades
<p style="text-align: center;">Componentes de la pared celular</p> <ul style="list-style-type: none"> • Peptidoglicano • Ácidos teicóicos • Proteína A • Cápsula 	<p>Activación del complemento, proporciona estabilidad osmótica y estimula la producción de piógenos endógenos y es quimioatrayente leucocitario.</p> <p>Regula la concentración catiónica de la membrana celular, se une a la fibronectina, tiene función antifagocitaria.</p> <p>Altera función ciliar, estimula respuesta inflamatoria, media el daño tisular con producción de radicales tóxicos de oxígeno.</p> <p>Es una adhesina, impide la quimiotaxis y la fagocitosis, inhibe la proliferación de células mononucleares.</p>
<p style="text-align: center;">Enzimas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Coagulasa • Estafiloquinasas • Hialuronidasa • Lipasas • Catalasa • Nucleasas • Proteasas • Colagenasa 	<p>Formación de absceso, convierte el fibrinógeno en fibrina</p> <p>Degradan la fibrina y contribuyen a la invasión de tejidos vecinos</p> <p>Invasión hística, hidroliza los ácidos hialurónicos en el tejido conectivo, facilitando la diseminación de los estafilococos en los tejidos</p> <p>Invasión, hidroliza los lípidos</p> <p>Supervivencia en fagocitos</p> <p>Hidrolisis del ADN</p> <p>Hidrolisis de proteínas</p> <p>Hidrolisis de colágeno</p>
<p style="text-align: center;">Toxinas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hemolisinas (α, β, γ y δ) • Leucocidina • Toxina exfoliativa • Toxina del shock Tóxico • Enterotoxinas 	<p>Rotura de la membrana celular</p> <p>Alteración de la permeabilidad celular de fagocitos</p> <p>Epidermólisis</p> <p>Shock</p> <p>Intoxicación alimentaria</p>

10.4 Epidemiología

S. aureus es uno de los principales patógenos más importantes a nivel mundial. Bacteria oportunista que forma parte del microbiota, la colonización más frecuente es en la mucosa nasal, el principal reservorio lo constituye el ser humano enfermo y también existen infecciones pediátricas nosocomiales debido a su poca madurez inmunológica, es más frecuente la colonización en el hospital, especialmente en pacientes con hemodiálisis, diabéticos tipo 1, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados con VIH/Sida y adictos a las drogas. (Kaplan y Tenebaum, 1982)

Según lo reportado por la red hospitalaria de vigilancia epidemiológica (RHOVE), a través de la plataforma única del SINAVE, las infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) son un problema de salud pública de gran trascendencia económica y social, se asocian con altas tasas de morbilidad y mortalidad. Se han notificado 61,969 IAAS, de los cuales 34,884 se logró identificar el agente etiológico, mostrando que *S. aureus* es una de las principales causas con 2,459 casos confirmados. (RHOVE, 2019)

Este tipo de infecciones por *S. aureus* han reemergido debido a que la bacteria se ha tornado resistente a diversos antibióticos con los que normalmente se les trata. Actualmente, estos brotes se dividen como infecciones nosocomiales e infecciones adquiridas en la comunidad. (Creench et al., 2005)

Los diversos estudios con los que se dispone en México, se limitan prácticamente a la infección por *S. aureus* en el medio hospitalario y al uso de ventiladores mecánicos e intubación endotraqueal como causa de infección nosocomial. (Velazquez. 2005)

En México, diversos estudios de vigilancia de las infecciones nosocomiales indicaron que de 8.3 a 36% de esas infecciones fueron atribuibles a *S. aureus*. (Rodríguez, 2005)

11. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día, las enfermedades microbianas infecciosas siguen siendo un problema mundial, debido a la resistencia a un gran número de agentes antimicrobianos, razón por la cual una variedad de especies clínicamente significativas de microorganismos se ha convertido en un importante problema de salud pública a nivel mundial.

Una forma de luchar contra este desafío es el uso adecuado de los antibióticos comercializados disponibles, el otro es el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, por lo tanto, siempre habrá una necesidad vital de descubrir nuevos agentes quimioterapéuticos para superar la aparición de resistencia e idealmente acortar la duración de la terapia.

Entre los problemas de resistencia emergentes más importantes está *S. aureus*, que ha ganado mucha atención en las últimas décadas, porque se ha convertido en un importante patógeno adquirido en el hospital. Las infecciones por *S. aureus* son muy difíciles de curar, porque esta cepa es resistente contra casi todos los antibióticos clínicamente disponibles. Esta razón y otros factores como el alto costo de producción y la toxicidad de los compuestos sintéticos han llevado a buscar nuevos antimicrobianos efectivos que sean de gran importancia en la clínica.

En el presente trabajo se evalúan derivados de benzimidazoles, hidrazidas, un pirazol y una piridazina, frente a *S. aureus*, de los cuales se sabe que algunas de sus actividades tienen efectos antimicrobianos, por lo que se pretende identificar de 67 compuestos sintetizados, cuales tiene efecto antimicrobiano mediante la prueba de difusión radial en disco.

12. HIPÓTESIS

En diversos estudios farmacológicos, se ha comprobado la actividad antimicrobiana de compuestos azólicos, por lo tanto, si los compuestos evaluados en el presente trabajo, derivados de benzimidazoles, hidrazidas, pirazol y piridazina, muestran actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, podrá ser observado por medio de la prueba de difusión radial en disco.

13. OBJETIVOS

13.1 Objetivo general:

Evaluar la actividad antimicrobiana de 67 nuevos compuestos derivados de benzimidazoles, hidrazidas, un pirazol y una piridazina, frente a la cepa de referencia de *S. aureus*, ATCC 6538, utilizando el método de difusión radial en disco (antibiograma), para determinar su posible efecto bactericida o bacteriostático en comparación con antibióticos comerciales.

13.2 Objetivos particulares:

- Identificación de la cepa bacteriana mediante la realización de pruebas bioquímicas
- Realizar la prueba de sensibilidad en placa de los compuestos orgánicos y compararlo con un control negativo (disco con DMSO) y control positivo (antibióticos comerciales).
- Realizar un análisis estadístico de los resultados obtenidos con los compuestos orgánicos analizados y compararlos con los resultados del testigo positivo.
- Realizar una comparación entre las estructuras químicas de los compuestos que generaron mayor actividad antimicrobiana, describiendo un posible mecanismo de acción.

14. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

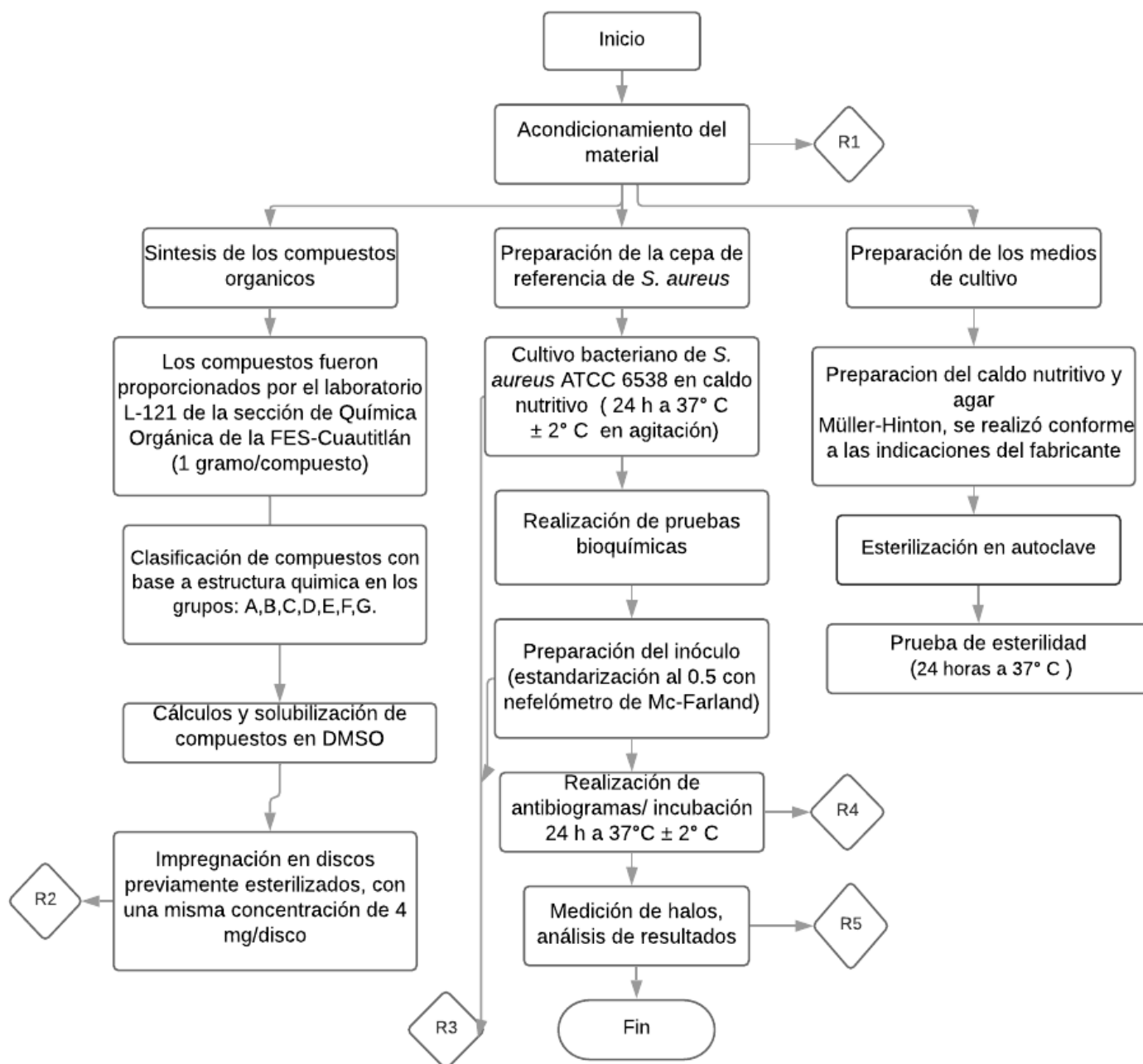


Figura 16. Diagrama del diseño experimental

R1: Residuos de papel, envolturas de material estéril, cubrebocas, guantes, cofia, Basura municipal.

R2: Puntas para micropipeta con residuos de DMSO y/o compuestos orgánicos, colocar en recipientes para su posterior tratamiento.

R3, R5: Material desechable contaminado con *S. aureus*, colocar en recipientes para su posterior esterilización y desecho.

R4: Material reutilizable contaminado con *S. aureus*, colocar en recipiente para su esterilización, lavado, secado y almacenamiento

14.2 Materiales y reactivos

Medios de cultivo utilizados

- ❖ Caldo y Agar Nutritivo, marca BD® Dioxon.
- ❖ Agar Mueller-Hinton marca BD® Dioxon

Reactivos

- ❖ Tinción de Gram: Cristal violeta al 3%, Lugol al 3%, Alcohol-Acetona 1:1, Safranina al 4%, Aceite de inmersión.
- ❖ Disolución de compuestos orgánicos puros y control negativo: DMSO marca Fermont al 99.9%

Cepa utilizada

- ❖ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Antibióticos comerciales

- ❖ Discos de Penicilina G, 10 U marca *BIORAD*
- ❖ Discos de Meropenem 10 µg, marca *BIORAD*

14.3 Compuestos orgánicos a evaluar

La síntesis de los 67 compuestos orgánicos fue realizada por el laboratorio L-121 de la sección de Química Orgánica de la FES Cuautitlán campo 1 y suministrada por el Dr. Guillermo Penieres y el Dr. Ricardo A. Luna Mora, proporcionaron 1 g de cada uno de los compuestos puros para la realización del presente trabajo. Estos compuestos fueron clasificados, con fines experimentales con base a su estructura química en un total de siete grupos, los cuales fueron A, B, C, D, E, F y G como se muestra en la tabla 5, en donde se observa su estructura química, así como denominación (IUPAC).

Tabla 5. Estructuras e identificación de los compuestos orgánicos (Grupo A).

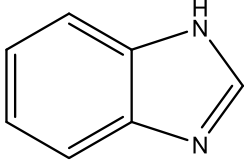
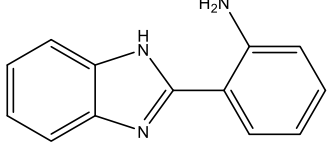
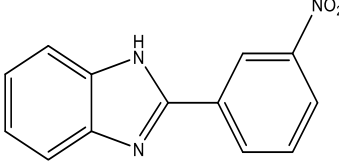
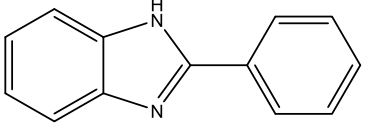
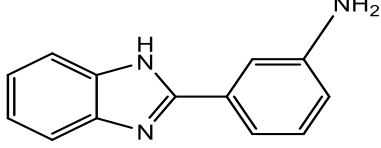
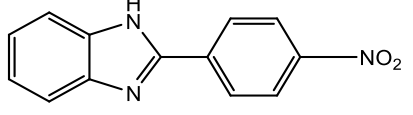
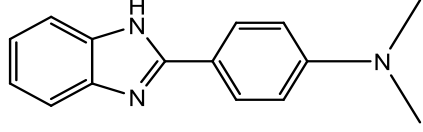
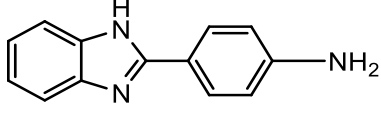
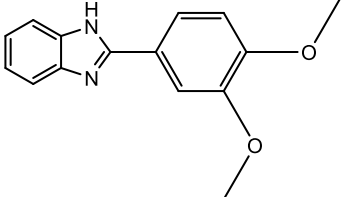
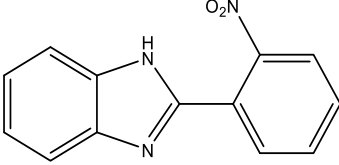
COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN
	A1		A5		A9
1H-Benzimidazol		2-(2-Aminofenil)-1H-benzimidazol		2-(3-Nitrofenil)-1H-benzimidazol	
	A2		A6		A10
2-Fenil-1H-benzimidazol		2-(3-Aminofenil)-1H-benzimidazol		2-(4-Nitrofenil)-1H-benzimidazol	
	A3		A7		
2-(4-Dimetilaminofenil)-1H-benzimidazol		2-(4-Aminofenil)-1H-benzimidazol			
	A4		A8		
2-(3,4-Dimetoxifenil)-1H-benzimidazol		2-(2-Nitrofenil)-1H-benzimidazol			

Tabla 5. Estructuras e identificación de los compuestos orgánicos Grupo B. (Continuación)

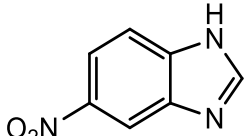
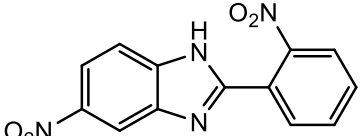
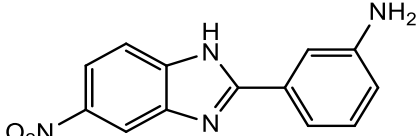
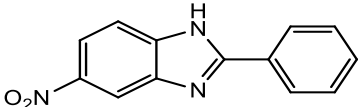
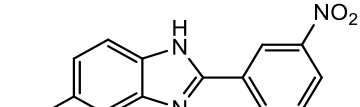
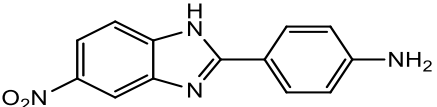
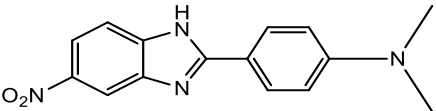
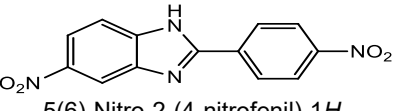
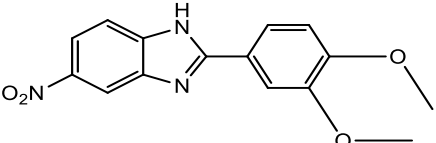
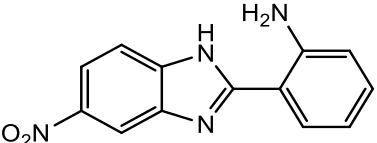
COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN
	B1		B5		B9
5(6)-Nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Nitro-2-(2-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(3-Aminofenil)-5(6)-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	B2		B6		B10
2-Fenil-5(6)-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Nitro-2-(3-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(4-Aminofenil)-5(6)-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	B3		B7		
2-(4-Dimetilaminofenil)-5(6)-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Nitro-2-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol			
	B4		B8		
2-(3,4-Dimetoxifenil)-5(6)-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(2-Aminofenil)-5(6)-nitro-1 <i>H</i> -benzimidazol			

Tabla 5. Estructuras e identificación de los compuestos orgánicos Grupo C. (Continuación)

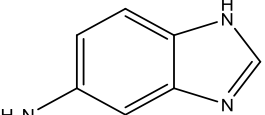
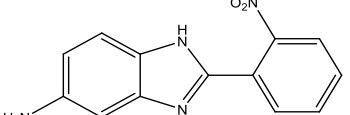
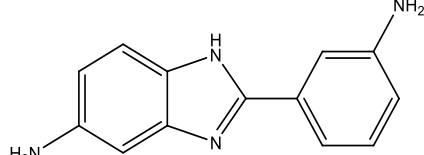
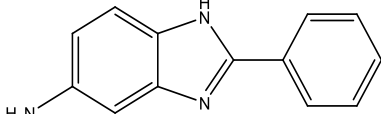
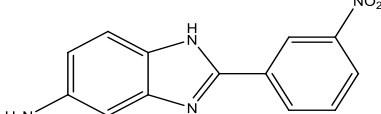
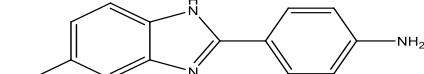
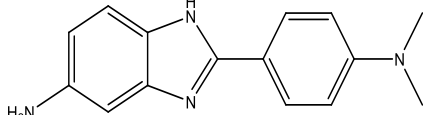
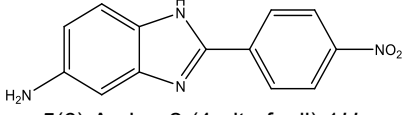
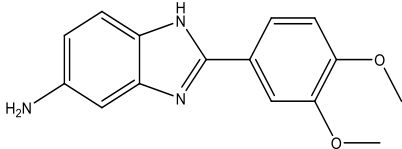
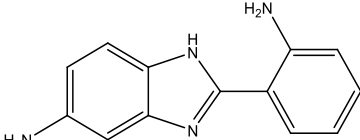
COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN
	C1		C5		C9
5(6)-Amino-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Amino-2-(2-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Amino-2-(3-aminofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	C2		C6		C10
5(6)-Amino-2-fenil-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Amino-2-(3-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Amino-2-(4-aminofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	C3		C7		
5(6)-Amino-2-(4-dimetil-aminofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Amino-2-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol			
	C4		C8		
5(6)-Amino-2-(3,4-dimetoxifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Amino-2-(2-aminofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol			

Tabla 5. Estructuras e identificación de los compuestos orgánicos Grupo D. (Continuación)

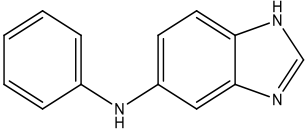
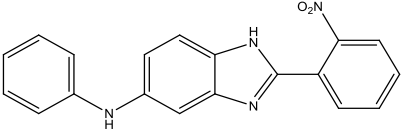
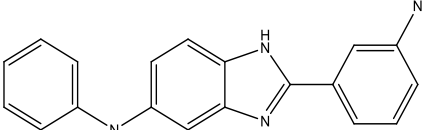
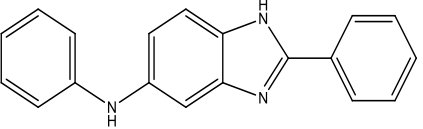
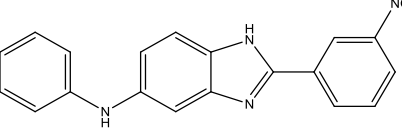
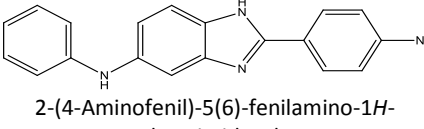
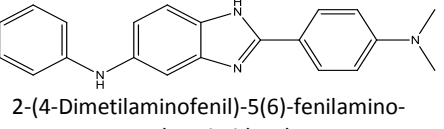
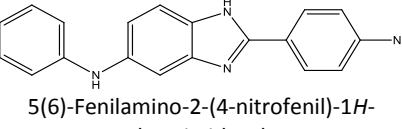
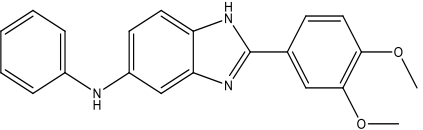
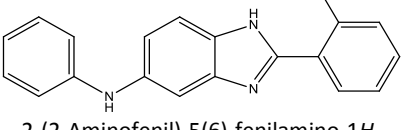
COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN
	D1		D5		D9
5(6)-Fenilamino-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Fenilamino-2-(2-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(3-Aminofenil)-5(6)-fenilamino-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	D2		D6		D10
2-Fenil-5(6)-fenilamino-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Fenilamino-2-(3-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(4-Aminofenil)-5(6)-fenilamino-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	D3		D7		
2-(4-Dimetilaminofenil)-5(6)-fenilamino-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Fenilamino-2-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol			
	D4		D8		
2-(3,4-Dimetoxifenil)-5(6)-fenilamino-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(2-Aminofenil)-5(6)-fenilamino-1 <i>H</i> -benzimidazol			

Tabla 5. Estructuras e identificación de los compuestos orgánicos Grupo E. (Continuación)

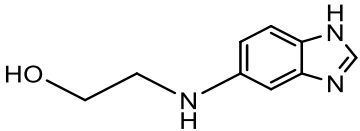
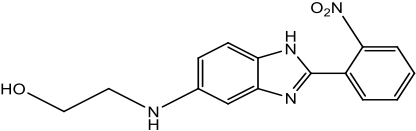
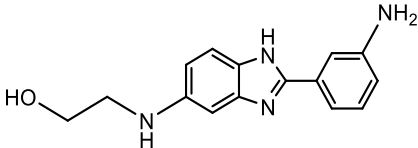
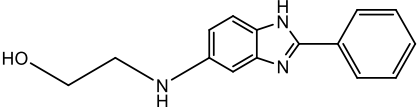
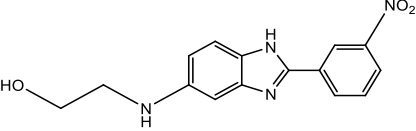
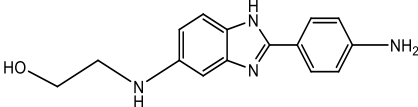
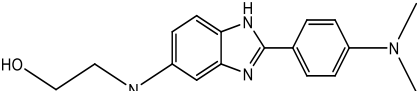
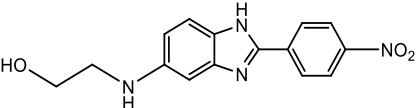
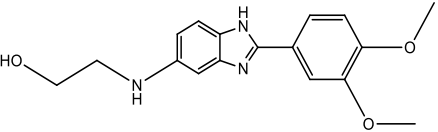
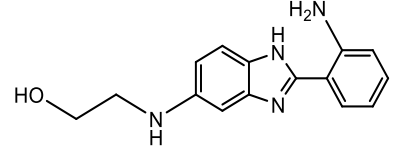
COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN
	E1		E5		E9
5(6)-Etanolamino-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Etanolamino-2-(2-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(3-Aminofenil)-5(6)-etanolamino-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	E2		E6		E10
5(6)-Etanolamino-2-fenil-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Etanolamino-2-(3-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(4-Aminofenil)-5(6)-etanolamino-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	E3		E7		
2-(4-Dimetilaminofenil)-5(6)-etanolamino-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Etanolamino-2-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol			
	E4		E8		
2-(3,4-Dimetoxifenil)-5(6)-etanolamino-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(2-Aminofenil)-5(6)-etanolamino-1 <i>H</i> -benzimidazol			

Tabla 5. Estructuras e identificación de los compuestos orgánicos Grupo F. (Continuación)

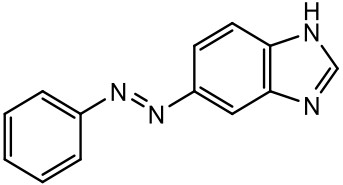
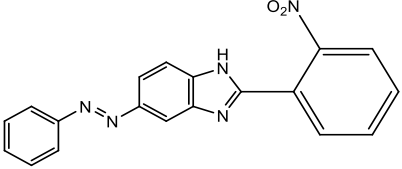
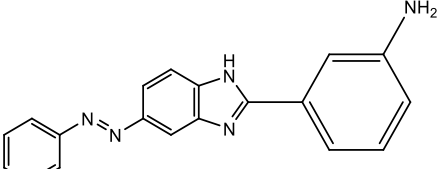
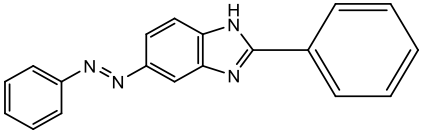
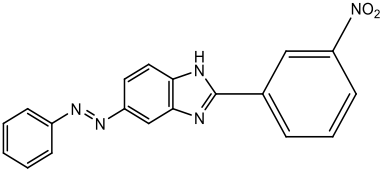
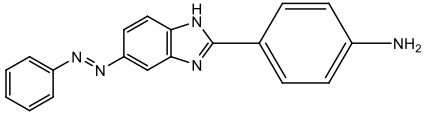
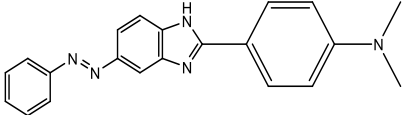
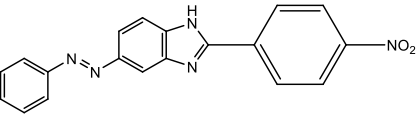
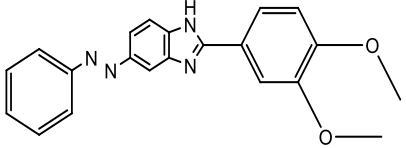
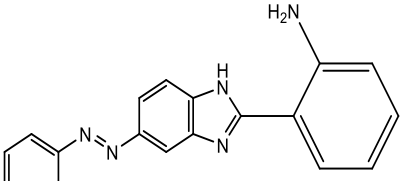
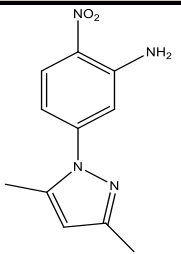
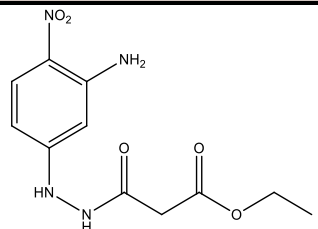
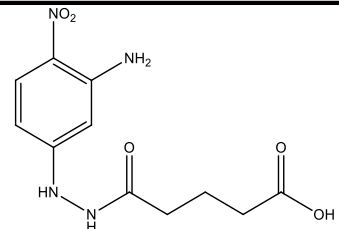
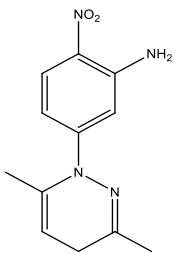
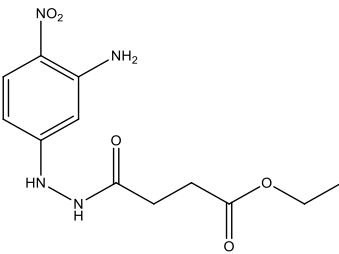
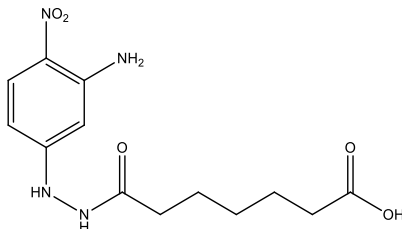
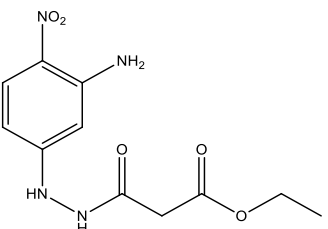
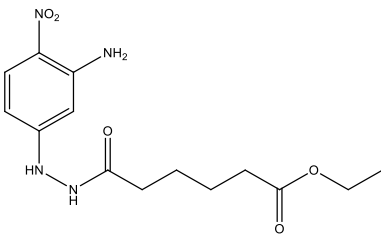
COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN
	F1		F5		F9
5(6)-Fenilazo-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Fenilazo-2-(2-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(3-Aminofenil)-5(6)-fenilazo-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	F2		F6		F10
2-Fenil 5(6)-fenilazo-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Fenilazo-2-(3-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(4-Aminofenil)-5(6)-fenilazo-1 <i>H</i> -benzimidazol	
	F3		F7		
2-(4-Dimetilaminofenil)-5(6)-fenilazo-1 <i>H</i> -benzimidazol		5(6)-Fenilazo-2-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol			
	F4		F8		
2-(3,4-Dimetoxifenil)-5(6)-fenilazo-1 <i>H</i> -benzimidazol		2-(2-Aminofenil)-5(6)-fenilazo-1 <i>H</i> -benzimidazol			

Tabla 5. Estructuras e identificación de los compuestos orgánicos Grupo G. (Continuación)

COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN	COMPUESTO	IDENTIFICACIÓN
 <p>5-(3,5-Dimetil-1<i>H</i>-pirazol-1-il)-2-nitroanilina</p>	G1	 <p>Acetato de (2-(<i>N'</i>-(3-Amino-4-nitrofenil) hidrazinocarbonil) etilo</p>	G3	 <p>Ácido 4-(<i>N'</i>-(3-Amino-4-nitro fenil) hidrazinocarbonil)butanoico</p>	G6
 <p>5-(3,6-Dimetil-1,4-dihidro piridazin-1-il)2-nitroanilina</p>	G2	 <p>Propanoato de (3-(<i>N'</i>-(3-Amino-4-nitrofenil) hidrazinocarbonil) etilo</p>	G4	 <p>Ácido 6-(<i>N'</i>-(3-Amino-4-nitro fenil) hidrazinocarbonil)heptanoico</p>	G7
 <p>Acetato de (2-(<i>N'</i>-(3-Amino-4-nitrofenil) hidrazinocarbonil) etilo</p>	G3	 <p>Pentanoato de (5-(<i>N'</i>-(3-Amino-4-nitrofenil) hidrazinocarbonil) etilo</p>	G5		

14.3.1 Preparación de compuestos

Se realizó el pesaje de 80 mg de cada uno de los compuestos orgánicos en tubos Eppendorf estériles, empleando una balanza analítica y se disolvieron en 200 μL de DMSO marca Fermont al 99.9%. Se colocaron los tubos Eppendorf, en un agitador eléctrico marca Vortex-Genie 2 hasta que se solubilizaron.

En una campana de flujo laminar, con ayuda de una pinza y puntas para micropipetas previamente esterilizadas, se realizó la impregnación de los discos estériles con cada compuesto por triplicado, tomando 10 μL de cada compuesto orgánico disuelto, obteniendo de esta manera una cantidad de 4 mg/ disco, como se muestra en los siguientes cálculos:

$$\frac{80 \text{ mg compuesto}}{200 \mu\text{L DMSO}} = \frac{0.4 \text{ mg de compuesto}}{1 \mu\text{L DMSO}} \times 10 \mu\text{L compuesto/ disco} = 4 \text{ mg compuesto/ disco}$$

Se dejaron secar, por 24 horas en cajas Petri de vidrio debidamente identificados, en un sitio seco y a 25° C (temperatura ambiente). Con la finalidad de tener un control negativo, se prepararon de la misma manera discos con 10 μL de DMSO.

De los 67 compuestos orgánicos, los compuestos A2, A6, A8, B3, C6, C7, C 10, D9, E2, E3 resultaron insolubles, por lo que fueron descartados de la experimentación. En la tabla 6 se muestra la identificación, para fines experimentales, de los compuestos utilizados.

Tabla 6. Identificación de compuestos por grupos

Grupos	Compuestos									
A	A1	A3	A4	A5	A7	A9	A10			
B	B1	B2	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	
C	C1	C2	C3	C4	C5	C8	C9			
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8		
E	E1	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10		
F	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
G	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7			

14.4 Acondicionamiento de la cepa y técnica de difusión radial en disco.

Se realizó el acondicionamiento de la cepa de *S. aureus*, ATCC 6538, previamente activada, a partir del cultivo inicial, el cual fue proporcionado por el laboratorio 6 de Bioprospección Microbiológica de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM) de la FES- Cuautitlán campo 4.

Se realizó tinción Gram, la cual se observó con un microscopio óptico a 40x y 100x, para observar morfología de la bacteria y descartar posibles contaminantes; también se realizaron otras pruebas bioquímicas como catalasa, coagulasa, fermentación de manitol, con la finalidad de asegurar la identificación de la bacteria.

Una vez confirmada la cepa de trabajo, a partir del cultivo de la resiembra en caldo nutritivo de *S. aureus*, se realizó una suspensión bacteriana en solución salina fisiológica estéril con 5 mL de NaCl al 0.9%, lo cual es equivalente a inocular 1.5×10^8 unidades formadoras de colonia (UFC/mL). Para estandarizar la densidad del inóculo, se utilizó el tubo del 0.5 de la escala de MacFarland.

En la campana de flujo laminar y en condiciones estériles, se procedió a la siembra de la suspensión bacteriana en placas de Agar Mueller–Hinton marca BD BIOXON-Becton Dickinson, adicionado con glucosa al 2% y 0.5 µg/mL de azul de metileno, para esto, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, eliminando el exceso de líquido en las paredes del tubo y se sembró por sembrado masivo sobre toda la superficie de la placa, asegurando una distribución uniforme del inóculo.

Antes de colocar los discos, se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3-5 minutos, manteniendo la caja con la tapa cerrada; con ayuda de pinzas y puntas de aguja estériles, se colocaron los discos sobre la superficie del agar y se presionaron suavemente los discos sobre el agar para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

Se colocaron tres discos del compuesto orgánico en estudio y uno más de DMSO como control negativo, manteniendo un espacio uniforme de 25 mm uno del otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud debe ser de 6 mm), para evitar que las zonas de inhibición quedaran interrumpidas y fueran debidamente apreciadas.

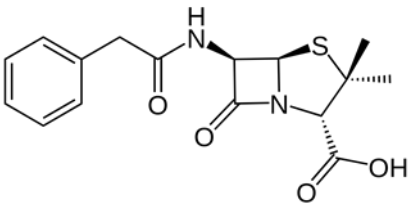
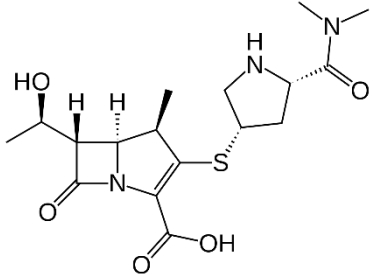
Se utilizó una placa de medio sólido Agar Mueller-Hinton por compuesto orgánico y se incubaron las cajas a 37°C durante 24 horas; después del tiempo de incubación, se realizó la lectura de los halos de inhibición contra una superficie oscura bajo luz reflejada, esto midiendo el diámetro de los halos formados alrededor de cada disco (incluyendo el diámetro del disco) con ayuda de un Vernier, anotando los resultados en mm.

A partir de los resultados obtenidos, se determinó el promedio de las medidas obtenidas para cada uno de los compuestos orgánicos. Los diámetros alrededor de cada disco son medidos y su interpretación se basa en guías publicadas por la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) y el organismo es reportado como sensible, intermedio o resistente al antibiótico evaluado, además se compararon con resultados obtenidos de los antibióticos utilizados como controles positivos Penicilina G (10 U) marca *BIORAD* y Meropenem 10 µg, marca *BIORAD*. Para el análisis de los resultados se utilizó el programa estadístico GraphPad, donde se obtuvieron medidas de tendencia central como frecuencia y promedio representados en gráficas.

15. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo fueron evaluados una serie de 67 nuevos compuestos derivados de benzimidazoles, hidrazidas, un pirazol y una piridazina, para evaluar su posible actividad antimicrobiana frente a *S.aureus*. Para tener un punto de referencia, se decidió utilizar como controles positivos antibióticos comerciales, los cuales fueron Penicilina G (PE-G) y Meropenem (MEM), éstos fueron probados frente a *S. aureus*, mediante la técnica de difusión radial en disco, dando los resultados que se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de los halos de inhibición producidos frente a *S. aureus* con antibióticos comerciales (control positivo).

Identificación	Estructura	Halo (mm)
Penicilina G (10 U)		12 mm
Meropenem (10 µg)		26 mm

Para el caso del antibiótico MEM, se utilizaron sensidiscos marca *BIORAD* de 10 µg, como se puede observar en la figura 17, se obtuvo un halo de 26 mm de diámetro, lo cual muestra que la cepa utilizada fue sensible a este antimicrobiano, esto de acuerdo con los criterios basados en los manuales del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), donde se ha reevaluado los puntos de corte de los carbapenems y se considera halos superiores a ≥ 20 mm como sensibles.

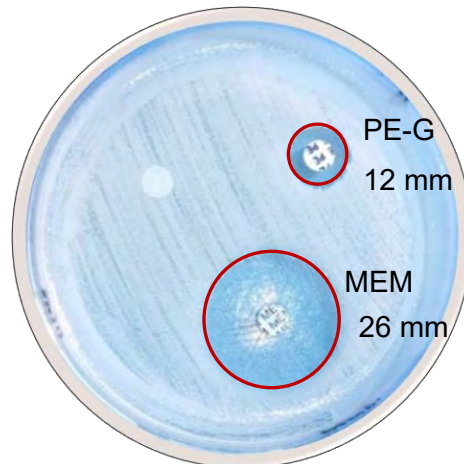


Figura 17. Zonas de inhibición antibiótica de discos comerciales de Meropenem (MEM) y Penicilina G (PE-G) en una placa con *S. aureus* ATCC 6538 en agar Mueller-Hinton.

El MEM es un antibiótico semisintético de la familia de los carbapenems, pertenece al grupo de los β -lactámicos y presenta el mayor espectro de actividad conocido dentro de este grupo de antibióticos. Actúa inhibiendo la formación de la pared celular, teniendo un efecto bactericida, interfiere en la síntesis de la pared celular en las fases tercera y última de la misma (transpeptidación), al unirse de forma preferencial a determinadas proteínas bacterianas denominadas "proteínas ligandos específicos de las penicilinas" (PBPs, Penicillin-Binding-Proteins). (Murray, 2005).

Frente a *S. aureus* el MEM ha mostrado una alta afinidad para la mayoría de PBPs, excepto por la PBP-3, y se ha demostrado que es un antibiótico muy resistente contra β -lactamasas de cocos Gram positivos, a diferencia de la penicilina.

El anillo de carbapenem, es un azabicyclo formado por la condensación de un anillo β -lactámico y otro pirrolidínico de 5 miembros e insaturado. Todos tienen en la posición 6 un grupo hidroxietilo en configuración *trans* que protege el anillo beta-lactámico de enzimas betalactamasas, mientras que en la posición 3, posee un sustituyente carboxilo, importante para que el anillo pirrolidínico active al beta-lactámico. Su actividad bactericida se extiende a cocos Gram positivos (Medina, 2000).

Para el caso de la PE-G se utilizaron sensidiscos marca *BIORAD* de 10 U, se obtuvo un halo de 12 mm, resultando resistente según las tablas de CLSI, ($R \leq 28$). Su poca actividad antimicrobiana puede deberse a que no es activa frente a microorganismos productores de β -lactamasa, éstas son una familia de enzimas producidas por bacterias Gram positivas, como el caso de *S. aureus*, que inactivan a los antibióticos beta-lactámicos como la penicilina, al degradar el anillo beta-lactámico. Como se mencionó anteriormente, los compuestos heterocíclicos tuvieron que disolverse en DMSO, el cual es un líquido orgánico soluble en agua. En el oxígeno de la molécula de DMSO se encuentran dos pares de electrones que le permiten disolver sustancias polares.

Este compuesto ha sido utilizado para el transporte de algunos fármacos de bajo peso molecular, como el caso de algunos antibióticos como la penicilina, actúa como un sistema de distribución de fármacos, sin embargo, esto va a depender del peso molecular, la forma y la carga de la molécula a transportar, lo que impide que ciertas moléculas sean solubles en él, como ocurrió con algunos compuestos en la experimentación, por lo cual no se pudieron trabajar.

El DMSO también se empleó como control negativo en este trabajo, en donde se comprobó que no interfiere con la actividad antibacteriana. Para estandarizar el método, se procedió a emplear una misma concentración para todos los compuestos heterocíclicos, la cual fue de 0.4 mg/ μ l, una concentración alta en comparación de los antibióticos comerciales, sin embargo, se decidió utilizarla para visualizar un posible efecto antimicrobiano sobre *S. aureus* y, de ser así, en un futuro realizar estudios para conocer la concentración de sensibilidad de cada compuesto.

Para la determinación de la actividad antimicrobiana, se decidió utilizar el método modificado de Kirby- Bauer para discos de sensibilidad antibiótica (DSA), esto debido a que la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda su utilización con fines clínicos, debido a su sencillez y reproducibilidad.

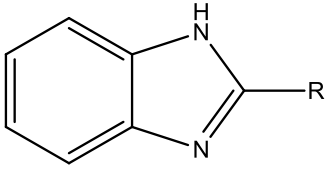
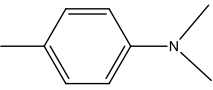
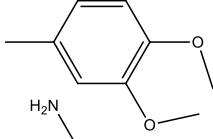
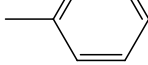
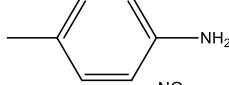
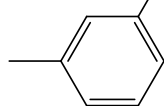
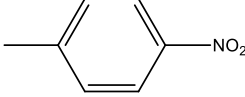
Para este tipo de método, se considera el agar Müller-Hinton como el mejor para pruebas de susceptibilidad de rutina de bacterias, ya que se ha demostrado la reproducibilidad en ensayos de susceptibilidad y, por otra parte, al crecimiento satisfactorio para la mayoría de los patógenos exigentes y la no interferencia con la difusión del antibiótico, además de ser inerte frente a ellos.

Partiendo de las características de las estructuras de los compuestos heterocíclicos utilizados, se puede observar que la mayoría presenta anillos bencénicos, sistema de baja polaridad y de tamaño pequeño que facilita la entrada a las bacterias.

Como primer grupo de compuestos heterocíclicos analizados, el cual fue el grupo A, se puede observar que éstos contienen una molécula de benzimidazol (*1H*-benzimidazol), en donde se

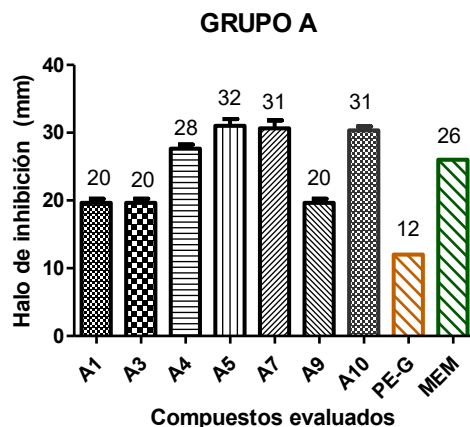
encuentran modificaciones en la posición 2, adicionando un sustituyente fenilo al cual se le adicionaron otros sustituyentes en las posiciones *orto*, *meta* o *para* del anillo fenilico, como se puede observar en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos Grupo A.

Estructura base A	Identificación	Sustituyente (R)	Halo (mm)
	A1	-H	20 mm
	A3		20 mm
	A4		28 mm
	A5		32 mm
	A7		31 mm
	A9		20 mm
	A10		31 mm

Se muestran los promedios de los halos obtenidos en los antibiogramas realizados, los compuestos identificados como **A2**, **A6** y **A8** fueron insolubles en DMSO, por lo que no fueron probados.

Todos los compuestos del grupo tuvieron efecto antimicrobiano frente a *S. aureus*, mostrando halos de inhibición superior al antibiótico PE-G (12 mm), como el caso de los compuestos A1, A3 y A9, los cuales tuvieron halos de 20 mm cada uno; algunos otros tuvieron un efecto superior al antibiótico MEM (26 mm), como lo son A4 (28 mm), A5 (32 mm), A7 (31 mm) y A10 (31 mm), como se muestra en la gráfica 1, lo que podría ser de interés por su potencial efecto antimicrobiano frente a *S. aureus*.



Gráfica 1. Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo A, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).

Analizando su estructura, se puede observar que los compuestos A5 y A7, tiene como sustituyente en la posición 2, un anillo fenilico que, a su vez, contienen un sustituyente amino en la posición *orto* o *para*, respectivamente, lo cual aumentó visiblemente su actividad.

Estas moléculas tienen características similares a las sulfamidas, como se puede observar en la figura 18, caracterizados por un núcleo de benceno con un grupo amino, como los compuestos en estudio.

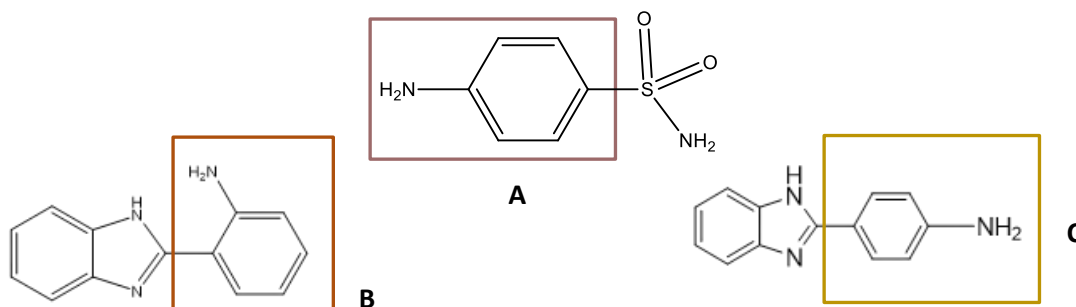


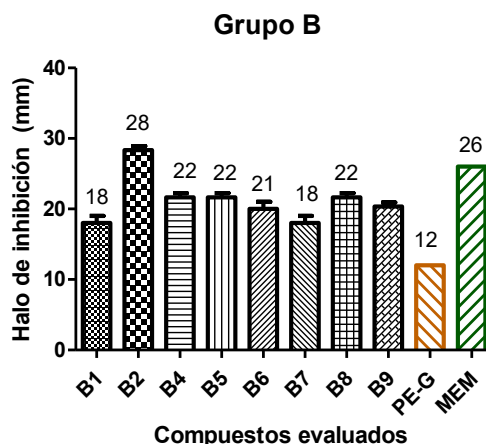
Figura 18. Comparación de las estructuras entre compuestos (A) Molécula de Sulfamida, (B) compuesto A5 y (C) compuesto A7.

Las sulfamidas son inhibidores competitivos de una enzima clave en la ruta de la síntesis del ácido fólico. Un inhibidor competitivo es una molécula tan semejante al sustrato normal de una enzima que se une a su centro activo, pero que no puede ser transformada en el siguiente intermediario, por lo que se bloquea la ruta; las sulfamidas a su vez tienen una estructura similar al ácido *p*-aminobenzoico (PABA), uno de los intermediarios de la ruta del ácido fólico. Así al bloquearse la conversión de PABA al siguiente intermediario, las sulfamidas, detienen la producción de ácido fólico y por lo tanto detienen el crecimiento bacteriano.

Las semejanzas entre las moléculas en estudio y los antibióticos comerciales, pueden predecir un posible mecanismo de acción, pero para confirmarlo se deben realizar más estudios, sin embargo, analizando su estructura, podría relacionarse un posible efecto sinérgico entre la molécula de benzimidazol, la cual se conoce su efecto por la competencia por las purinas, y el potencial efecto que tiene los anillos de benceno con sustituyentes amino, los cuales se sabe que tienen actividad antimicrobiana. De igual manera, los compuestos A9 y A10 tuvieron halos de inhibición representativos, los cuales fueron de 20 mm y 31 mm respectivamente, estos compuestos de igual manera fueron sustituidos en la posición 2 con un grupo fenilo que, a su vez, fue sustituido en las posiciones *meta* o *para*, respectivamente, por un grupo nitro. Se puede observar que la sustitución en la posición *para* del grupo fenilo, favorece el efecto antimicrobiano tanto para los compuestos A7 y A 10.

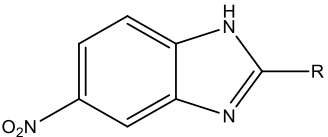
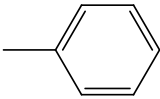
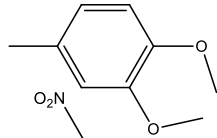
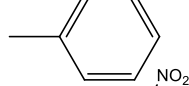
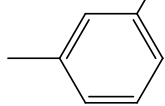
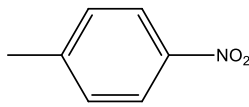
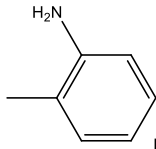
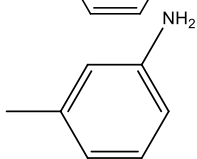
Para el caso del grupo B, su estructura surge a partir del 5-nitro-1*H*-benzimidazol, como se muestra en la tabla 9, contiene también como sustituyente, el fenilo en la posición 2, en donde se incluyen otros sustituyentes en las posiciones *orto*, *meta* o *para*; estas modificaciones a las estructuras iniciales de cada grupo se repiten para los grupos C, D, E y F.

Como se puede observar en la gráfica 2, se obtuvo un efecto antimicrobiano muy similar para todo el grupo de compuestos, en comparación a los antibióticos comerciales y se puede observar que tuvieron un mayor efecto al de la PE-G (12mm) , pero menor que con el MEM (26mm) con excepción del compuesto B2, en el cual se obtuvo un halo de inhibición de 28 mm, el que puede resultar de interés. Este compuesto se encuentra sustituido en la posición 2 por un grupo fenilo y su actividad puede deberse a que estos anillos, debido a su baja polaridad, se introducen fácilmente a las células, por lo que se facilita su ingreso a las bacterias y genera un efecto antimicrobiano.



Gráfica 2. Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo B, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).

Tabla 9. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos Grupo B

Estructura base A	Identificación	Sustituyente (R)	Halo (mm)
	B1	-H	18 mm
	B2		28 mm
	B4		22 mm
	B5		22 mm
	B6		21 mm
	B7		18 mm
	B8		22 mm
	B9		21 mm

Se muestran los promedios de los halos obtenidos en los antibiogramas realizados del grupo B, el compuesto identificado como **B3** fue insoluble en DMSO, por lo que no fue evaluado, el compuesto identificado como **B10** no tuvo actividad antimicrobiana.

La estructura inicial de este grupo de compuestos, el cual es el B1, obtuvo un efecto antimicrobiano con un halo de 18 mm, pero ligeramente menor que el compuesto A1 (20 mm), por lo que se puede decir que el sustituyente nitro en la posición 5, no favorece la actividad bactericida, esto puede observarse en los resultados en donde se obtuvo un mayor efecto con algunos compuestos del grupo A.

Como se observó en los compuestos del grupo A, los que produjeron un mayor halo de inhibición fueron aquellos que presentaron un anillo fenilico que a su vez contienen un sustituyente amino

en la posición *orto* o *para* y el mismo efecto sucedió en los compuestos B8 y B9, los cuales se encuentran sustituidos en el anillo fenilico por un grupo amino en las posiciones *orto* o *meta*, respectivamente, presentando una inhibición de 22 mm y 21 mm. Se puede observar, de igual forma, que la sustitución en la posición *orto* del anillo con un grupo amino, favorece la actividad antimicrobiana, como sucedió con los compuestos B8 y A5. Como se mencionó con anterioridad, al analizar la estructura del compuesto A5, el efecto puede deberse a su parecido como las sulfamidas, lo cual también se presenta para el compuesto B8, como se observa en la figura 19, lo que podría intuir su posible mecanismo de acción.

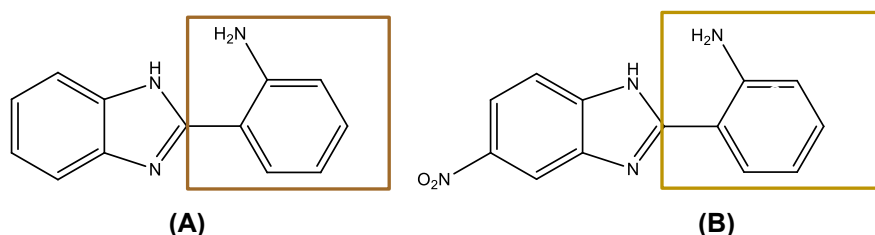


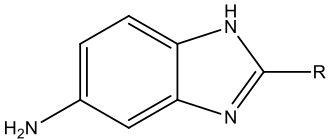
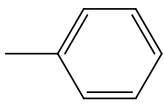
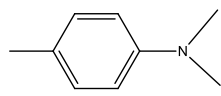
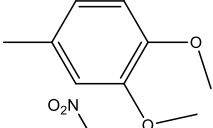
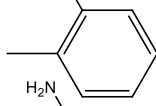
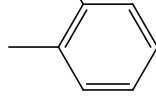
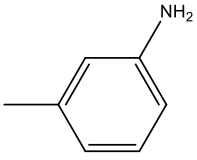
Figura 19. Comparación de las estructuras entre (A) compuesto A5 y (B) compuesto B8. Se observa en los dos compuestos, la sustitución en la posición *orto* por un grupo amino.

Con respecto a los compuestos B5, B6 y B7, se puede observar la sustitución en el anillo fenilico en las posiciones *orto*, *meta*, *para*, por un grupo nitro, estos tuvieron halos de inhibición de 22 mm, 21 mm y 18 mm, respectivamente, como se muestra en la tabla 6. La posición *orto* tuvo una actividad antimicrobiana ligeramente superior.

La actividad biológica derivada de la posición en la cual se encuentra la sustitución en el anillo fenilico, puede deberse a que, un sustituyente o grupo presente en el benceno modifica la reactividad de éste; si se toma al benceno como referencia, se observa que algunos sustituyentes (OH, CH₃, NH₂) son electrodonadores y las posiciones *orto* y *para*, aumentan su actividad.

Para el caso del grupo C, que deriva del 5-amino-1*H*-benzimidazol, como se muestra en la tabla 10, se diferencia por la adición de un sustituyente amino en el heterociclo en la posición 5.

Tabla 10. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos Grupo C

Estructura base C	Identificación	Sustituyente (R)	Halo (mm)
	C1	-H	19 mm
	C2		50 mm
	C3		25 mm
	C4		26 mm
	C5		23 mm
	C8		27 mm
	C9		23 mm

Se muestran los promedios de los halos obtenidos en los antibiogramas realizados, el compuesto identificado como **C10**, fue insoluble en DMSO, por lo que no fue evaluado.

Es evidente que la adición del grupo amino en la posición 5 del heterociclo fue más efectiva para conseguir un efecto antimicrobiano, obteniéndose mejores resultados en comparación con la PE-G y, en algunos casos, mucho mayor que el antibiótico de amplio espectro MEM.

Esto mejora notablemente al adicionar un sustituyente fenilo en la posición 2 de la estructura, generando el compuesto C2, el cual produjo un halo de inhibición de 50 mm, el de mayor efecto de todos los grupos, lo que significa que su efecto antimicrobiano podría ser potencialmente alto.

Se puede confirmar que la sustitución en la posición 2 por un grupo fenilo, favorece la actividad de los compuestos, ya que al comparar el efecto del compuesto C2 con el B2, como se observa en la

figura 20, los dos compuestos se encuentran sustituidos por este grupo y los dos compuestos fueron los de mayor actividad antimicrobiano en cada uno de sus respectivos grupos.

Como se comentó anteriormente, puede deberse a que, al adicionar otro fenilo a la estructura, disminuye la polaridad de la molécula y ésta se introduce aún más fácilmente a las células; el incremento en la actividad del compuesto C2 se ve favorecido por la sustitución del grupo amino en la posición 5.

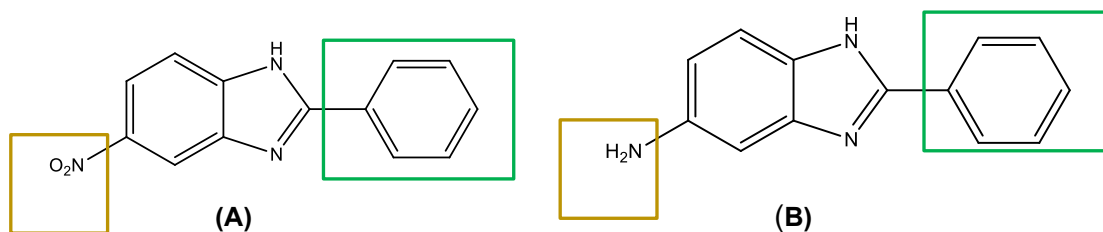
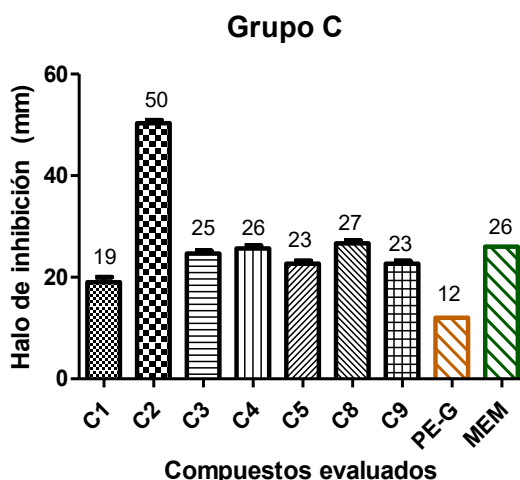


Figura 20. Comparación de las estructuras: (A) compuesto B2 y (B) compuesto C2. Se observa la presencia de un sustituyente fenilo en la posición 2, y en la posición 5 la sustitución de un grupo nitro y un grupo amino, respectivamente. Los dos compuestos obtuvieron un halo de 28 mm y 50 mm, respectivamente.

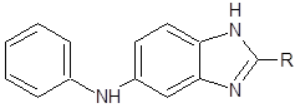
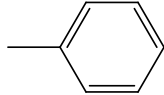
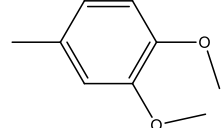
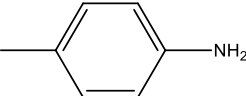
Para el caso del compuesto C1, éste dio una inhibición de 19 mm, ligeramente superior al B1 (18mm), los resultados de los demás compuestos, C3, C4, C5, C8, C9, como se observa en la gráfica 3, confirman que la sustitución con el grupo amino se ve favorecida en comparación con la sustitución del grupo nitro en la misma posición, ya que al compararlos con los resultados obtenidos del grupo B, mostraron una mayor actividad antimicrobiana.



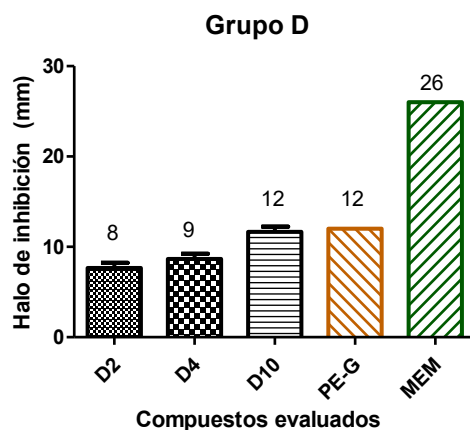
Gráfica 3. Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo C, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).

Para el caso del grupo D, que parte del 5-fenilamino-1*H*-benzimidazol, como se muestra en la tabla 11, obtuvo muy poco efecto contra *S. aureus*, ya que los halos que produjeron los compuestos que lo conforman fueron iguales o menores a los producidos por el antibiótico comercial Penicilina.

Tabla 11. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos Grupo D.

Estructura base A	Identificación	Sustituyente (R)	Halo (mm)
	D2		8 mm
	D4		9 mm
	D10		12 mm

Se muestran los promedios de los halos obtenidos en los antibiogramas realizados del grupo D. El compuesto identificado como **D9** fue insoluble en DMSO, por lo que no fue evaluado. Los compuestos identificados como **D1, D3, D5, D6, D7 y D8** no mostraron halo de inhibición.



Gráfica 4. Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo D, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).

Debido al tamaño de los halos producidos por los compuestos D2 y D4, puede considerarse que éstos no tuvieron buena actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, lo que puede deberse a que

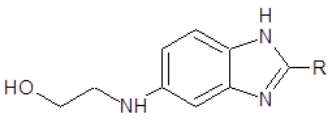
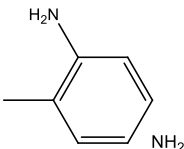
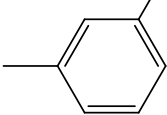
la adición del grupo fenilamino en la posición 5 del heterocíclico no favorece a las moléculas contra *S. aureus*.

El compuesto D10, sin embargo, produjo un halo similar a la Penicilina, por lo que podría ser de interés como antimicrobiano para bacterias poco resistentes. Como se puede observar, este compuesto se encuentra sustituido en la posición 2 por un grupo fenilo que a su vez se encuentra sustituido la posición *para* por un grupo amino y se ha demostrado en los anteriores compuestos que estas sustituciones tienen un efecto mayor, por lo que se estaría comprobando también en esta serie.

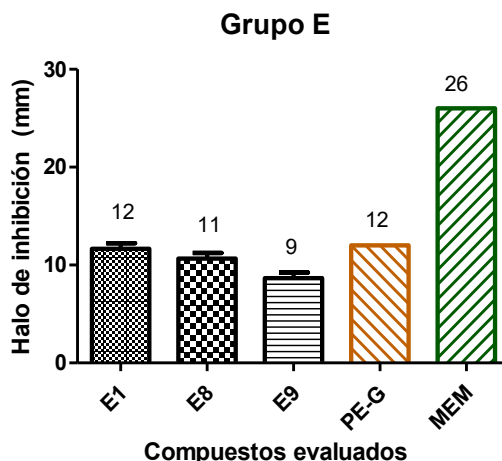
Los compuestos del grupo E, derivados del 5-etanolamino-1*H*-benzimidazol, como se muestra en la tabla 12, mostraron resultados variables, ya que la mayoría de los compuestos no mostraron halo de inhibición en los antibiogramas, con excepción de los compuestos, E1, E8 y E9.

El compuesto E1 mostró un halo de inhibición como el de la Penicilina, y algunos otros fueron escasamente efectivos como los compuestos E8 y E9, los cuales mostraron inhibiciones de 11 mm y 9 mm, respectivamente, como se muestra en la gráfica 5. Se puede observar que la sustitución en la posición 5 por un grupo etanolamina no favorece la acción antimicrobiana en este grupo de compuestos, y que ésta disminuye con la adición de sustituyentes en la posición 2 con grupo fenilo, que a su vez se encuentra sustituido por un grupo amino en las posiciones *orto* o *meta*. Debido al tamaño de su halo, y a su escasa actividad, no representan interés como antimicrobianos.

Tabla 12. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos Grupo E.

Estructura base A	Identificación	Sustituyente (R)	Halo (mm)
	E1	-H	12 mm
	E8		11 mm
	E9		9 mm

Se muestran los promedios de los halos obtenidos en los antibiogramas realizados del grupo E. Los compuestos identificados como **E2 y E3** fueron insolubles en DMSO, por lo que no fueron evaluados. Los compuestos identificados como **E4, E5, E6, E7 y E10** no mostraron halo de inhibición en el antibiograma.

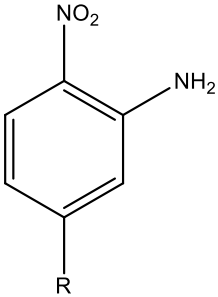
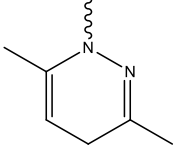
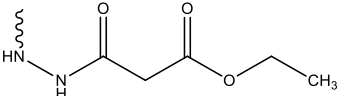
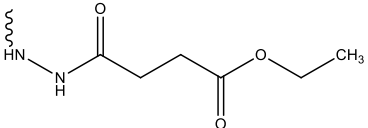
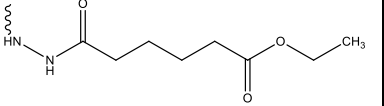
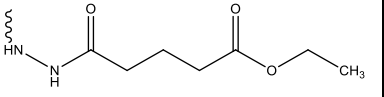
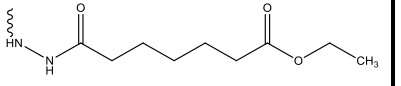


Gráfica 5. Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo E, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).

Los compuestos del grupo F, los cuales se generaron a partir del 5-fenilazo-1*H*-benzimidazol, fueron completamente solubles en DMSO, sin embargo, ninguno presentó halo de inhibición, lo que los hace irrelevantes como antimicrobianos, por lo cual fueron descartados. Esto puede deberse principalmente a que el grupo fenilazo como sustituyente en el 1*H*-benzimidazol, no genera o impide que la molécula reaccione contra el microorganismo en estudio.

El último grupo de compuestos evaluados fue el G, estos se diferencian de los grupos anteriores ya que su estructura no contienen al benzimidazol, sino a un residuo estructural de nitroanilina, como se observa en la tabla 13, los cuales mostraron una buena actividad antimicrobiana y, en la mayoría de los casos, superior al testigo positivo, a excepción del compuesto G1 que pertenece a la familia de los azoles, ya que contiene en su estructura un pirazol; este compuesto no mostró halo de inhibición en el antibiograma. Analizando las estructuras del grupo, se puede observar que el compuesto G2 se diferencia por contener en su estructura una 1,2-diazina, mientras que los demás compuestos del G3 al G7 contienen al grupo funcional de hidrazida.

Tabla 13. Resultados de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana compuestos Grupo G.

Estructura base A	Identificación	Sustituyente (R)	Halo (mm)
	G2		18 mm
	G3		22 mm
	G4		21 mm
	G5		20 mm
	G6		19 mm
	G7		21 mm

Se muestran los promedios de los halos obtenidos en los antibiogramas realizados del grupo G. Todos los compuestos del grupo fueron solubles en DMSO; el compuesto **G1** no mostró halo de inhibición.

Analizando las estructuras, como se mencionó, el compuesto G2 contiene una diazina de tipo piridazina, y presentó una actividad antimicrobiana considerable de 18 mm; se sabe que algunos antibióticos, como el caso de trimetoprim, contienen en su estructura una molécula de diazina, además de poseer sustituyentes amino, como se muestra en la figura 22 , por lo que podría intuirse que existe una probable sinergia entre estos sustituyentes en la molécula que podría dar lugar a un efecto antimicrobiano.

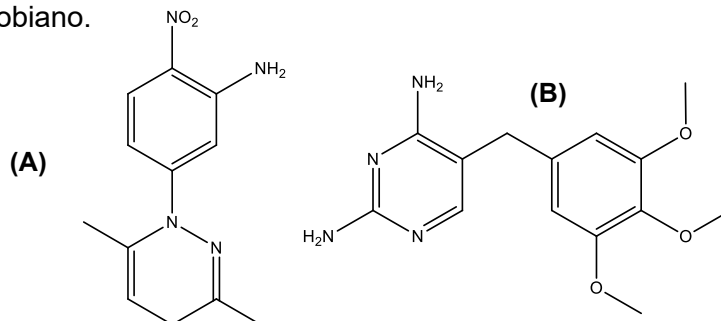
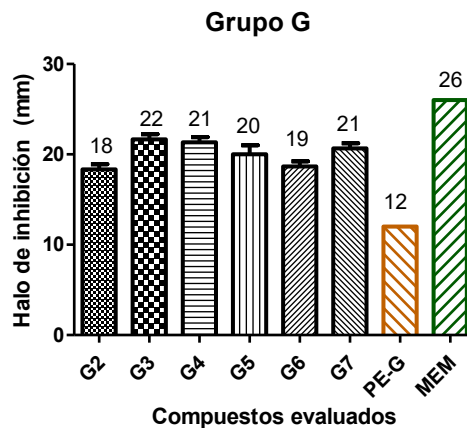


Figura 21. Estructura de: (A) compuesto G2, (B) antibiótico trimetoprim.

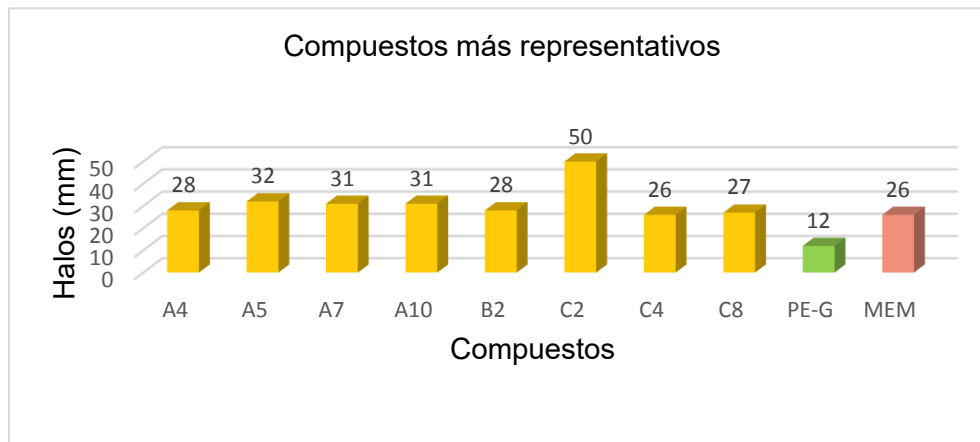
Como se comentó anteriormente, el antibiótico Trimetoprim (TMP) inhibe la dihidrofolato reductasa, enzima que cataliza el último paso de la síntesis de ácido fólico bacteriano, por lo que inhibe su crecimiento.

Las demás estructuras que contienen al grupo funcional hidrazida, generaron un efecto similar entre sí, como se muestra en la gráfica 6, lo que se esperaba debido a que sus estructuras solo se diferencian por el tamaño de sus cadenas y porque algunos son ésteres (G3, G4 y G5), mientras que otros son ácidos carboxílicos (G6 y G7). Fue G3 el compuesto que generó el halo de inhibición más grande de la serie, posiblemente debido al tamaño de su estructura. Se sabe que algunos antibióticos poseen en su estructura un grupo ácido carboxílico, como el caso de el antibiótico ácido fusídico, que actúa bloqueando la síntesis de proteínas bacterianas, es efectivo principalmente contra bacterias Gram negativas y es un antibiótico bacteriostático, sin embargo, es difícil asegurar un posible mecanismo de acción, ya que al ser compuestos nuevos, no han sido estudiados, por lo que es importante resaltar la necesidad de continuar con estudios que puedan esclarecer su mecanismo de acción, concentración mínima inhibitoria, así como dosis efectivas y rangos de toxicidad .



Gráfica 6. Diámetros de halos de inhibición (mm) de los compuestos del grupo G, con respecto los antibióticos Penicilina G y Meropenem (testigo positivo).

Resumiendo, para el caso de los grupos A, B y C todos los compuestos mostraron halos de inhibición superior que el del antibiótico comercial PE-G, y también para el caso de los compuestos del grupo G con excepción del compuesto G1. Los compuestos que mostraron un halo de inhibición igual o superior que el antibiótico MEM (26 mm), pueden ser considerados como potenciales antimicrobianos, los cuales fueron A4, A5, A7, A10, B2, C2, C4 y C8, en donde el compuesto C2 mostro una inhibición de 50 mm, el compuesto más representativo en este trabajo, como se muestra en la gráfica 7.



Grafica 7. Compuestos representativos en comparación como antibióticos comerciales PE-G y MEM.

Analizando la estructura de los compuestos, se puede observar que para el caso de los grupos A, B y C todos parten de una estructura de benzimidazol, y como se muestra en la tabla 14, su actividad antimicrobiana fue buena, mostrando resultados en la mayoría superiores al testigo positivo. Se sabe que los benzimidazoles tienen actividad antimicrobiana y que su efecto se debe a la estructura de anillos que los forman.

Este efecto se ve potencializado con la sustitución con un anillo fenilico en posición 2, que a su vez contienen un sustituyente amino en la posición *orto* o *para*, mostrado en los compuestos A5, A7, B8, B9 lo que aumentó visiblemente su actividad, puede deberse a su gran parecido con las sulfamidas, las que como se comentó, son inhibidores competitivos de una enzima clave para la síntesis de ácido fólico, por lo que detienen el crecimiento bacteriano.

Tabla 14. Resultados de compuestos más representativos en el estudio.

Grupos								
Compuestos	A	Halos (mm)	B	Halos (mm)	C	Halos (mm)	G	Halos (mm)
	A1	20mm	B1	18mm	C1	19 mm	G2	18 mm
	A3	20mm	B2	28 mm	C2	50 mm	G3	22 mm
	A4	28 mm	B4	22 mm	C3	25 mm	G4	21 mm
	A5	32 mm	B5	22 mm	C4	26 mm	G5	20 mm
	A7	31 mm	B6	21 mm	C5	23 mm	G6	19 mm
	A9	20 mm	B7	18 mm	C8	27 mm	G7	21 mm
	A10	31 mm	B8	22 mm	C9	23 mm		
			B9	21 mm				

En cuanto a los compuestos C2 y B2, se encuentran sustituidos en la posición 2 por un grupo fenilo, lo que favoreció notablemente la actividad de los compuestos, ya que estos dos compuestos fueron los que presentaron la mayor actividad antimicrobiana, lo que puede deberse a que al adicionar otro grupo fenilo a la estructura, disminuye la polaridad de la molécula y ésta se introduce aún más fácilmente a las células, generando efecto antimicrobiano, el cual se ve favorecido con la sustitución de un grupo amino en la molécula de benzimidazol.

Para los compuestos del grupo D, se pudo observar que la sustitución por un grupo fenilamino en la posición 5, no favorece la actividad en las moléculas de los derivados de benzimidazol, el mismo caso ocurrió para el grupo E sustituido en la posición 5 por un grupo etanolamino, y F, sustituido por un grupo fenilazo en la misma posición.

Para el grupo G, que mostró un efecto moderado en todos los compuestos, se puede decir que su posible mecanismo de acción sea el de la inhibición en la síntesis de proteínas bacterianas, debido a su parecido molecular con antibióticos que producen este efecto.

16. CONCLUSIÓN

Se logró realizar la evaluación de la actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, ATCC 6538, de los nuevos compuestos orgánicos mediante la técnica de difusión radial disco, en donde la mayoría de los compuestos fueron derivados de benzimidazoles, y es posible concluir que los grupos A, B, C y G tienen una buena actividad antimicrobiana, en la mayoría de los casos, dando halos de inhibición superiores a los antibióticos comerciales PE-G y MEM.

De los compuestos que produjeron halos de inhibición significativos, y se pudieron determinar como los más efectivos, fueron A4, A5, A7, A10, B2, C8 y C2, los cuales parten de una estructura de benzimidazol, y en donde el compuesto C2 fue el que produjo una mayor inhibición con un halo de 50 mm, lo cual puede ser interesante para su estudio más profundo.

Como el presente estudio fue experimental y los resultados mostrados fueron una primera aproximación y factor predictivo para su eficacia clínica, es necesario realizar estudios y pruebas más específicas como esclarecimiento de toxicidad citotoxicidad, mecanismo de acción y CMI.

Sin embargo, con base a su estructura química se puede intuir un posible mecanismo de acción de los compuestos más representativos, concluyendo que éste puede deberse a la inhibición en la síntesis de ácido fólico y la síntesis de proteínas bacterianas, principalmente. También se puede concluir, con base a la actividad que mostraron moléculas con similitudes estructurales, que las sustituciones con grupos electrodonadores (amino) y electroattractores (nitro), y la posición en la que se encuentre sustituida, favorecen notoriamente el efecto antimicrobiano, siendo la posición *para*, la más efectiva.

Partiendo de los resultados obtenidos se destaca la necesidad de realizar estudios más específicos y se espera en un futuro seguir investigando estas moléculas para desarrollar su posible uso e introducción al ámbito clínico.

17. REFERENCIAS

1. Ansari, K., y Lal, C. (2009). Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial activity of some new Benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44 (1), 4028–4033.
2. Bannerman, T., Peacock, S., Murray, P. (2006). Manual of clinical Microbiology. 9ª Ed. Washington DC: American Society for Microbiology.
3. Bansal, Y. y Silakari, O. (2012) The therapeutic journey of benzimidazoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20, 6209-6213.
4. Boucher, H., y Corey, R. (2008). Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Disease*, 46 (1), 344-349.
5. Calderón, J., Espinoza, D., y Ávila, B. (2002). Epidemiología de la farmacorresistencia: el caso de *Staphylococcus aureus* y las infecciones por *Staphylococcus coagulasa* negativos. *Salud Pública México*, 44(2), 108-12.
6. Canton, R., y Morosini, M. (2011). Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS Microbiol Reviews*, 35 (5), 977-991.
7. Cervantes, E., García, R., y Salazar, P. (2014). Características generales de *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 61 (1), 29-38.
8. Creench, C., Talbot, T., y Schaffner, W. (2005). Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* the way to wound is through the nose. *Journal of Infectious Diseases*, 193 (2), 169-71.
9. Dinges, M., Orwin, P., y Schlievert, P. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13 (1), 16-34.
10. Enright, M., Robinson, D., Randle, G., Feil, E., Grundmann, H., Spratt, B. (2002). The evolutionary history of methicillinresistant Sthapylococcus aureus (MRSA). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99 (11), 7687-92.
11. Forbes, B., Biley R., Sahm, D., Scott, E., y Trevino, E. (2009). *Diagnostico Microbiológico*. 12ª Ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana.
12. Göker, H., Alp, M., y Yıldız, S. (2005). Synthesis and potent antibacterial activity against MRSA of some novel 1,2-Disubstituted-1*H*-Benzimidazole-N-alkylated-5-carboxamidines. *Molecules*, 10 (11), 1377-1386.
13. Héctor, G. (2014). "Azoles" [PDF]. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado el 09 de Febrero de 2020 en: <http://depa.fquim.unam.mx>.
14. Joule, J. y Mills, K. (2010). *Heterocyclic Chemistry*. 5ª Ed. Manchester: Wiley-Blackwell.

15. Kaplan, M., y Tenebaum, M. (1982). Staphylococcus aureus: cellular biology and clinical application. *American Journal of Medicine*, 72 (2), 248-58.
16. Karolkovas, A. y Burckhalter, J. (1983). *Compendio esencial de Quimica Farmaceutica*. España: Reverte.
17. Kong, K., Vuong, C., y Otto, M. (2016). Staphylococcus quórum sensing in biofilm formation and infection. *International Journal of Medical Microbiology*, 296 (2-3), 133-9.
18. Kubo, K., Oda, K., Kaneko, T., Satoh, H., y Nohara, A. (1990). Synthesis of 2-(4-Fluoroalkoxy-2-pyridyl) methyl] sulfinyl]-1H-benzimidazoles as Antiulcer Agents. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 38(10), 2853-2858.
19. Leen, C. (1986). Benzimidazole fungicides: Mechanism of action and Biological impact. *Phytopathol*, 24 (1), 43-65.
20. López, L., Hernández, M., y Castro, A. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Consultado el 09 de febrero 2020 en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2014/ir141b.pdf>
21. Mac Faddin, J. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3ª Ed. Buenos Aires: Medica Panamericana.
22. Medina, J. (2000). *Guía de antimicrobianos y tratamiento de las infecciones*. 2ª Ed. Madrid: Diaz Santos.
23. Murray, P., Roshental, K., y Pfaller, M. (2005). *Staphylococcus y organismos relacionados*. Microbiología Medica. 8ª Ed. Madrid; Elsevier.
24. Pahissa, A. (2009). *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus*. 1ª Ed. Barcelona: Medica Books.
25. Pírez, M. y Mota, M. (2006). *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. 2ª Ed. Uruguay: Universidad de la República, Oficina del libro FEFMUR.
26. Rincón, S., Panesso, D., Diaz, L., y Carvajal, L. (2014). Resistencia a antibióticos de última línea en cocos Gram positivos: la era posterior a la vancomicina. *Revista Biomédica*, 34 (1), 191–208.
27. Schechner, V., Temkin, E., Harbarth, S., Carmeli, Y., y Schwaber, M. (2013). Epidemiological interpretation of studies examining the effect of antibiotic usage on resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 26 (1), 289-307.
28. Spasov, A., Yozhitsa, L., Bugaeva, I., y Anisimova, V. (1999). Benzimidazole derivatives: Spectrum of pharmacological activity and toxicological properties. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 33 (5), 232-243.

29. Tenover, F., Biddle, J., y Lancaster, M. (2001). Aumento de la resistencia a la vancomicina y otros glucopéptidos en *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, 7 (2), 327-332.
30. Togneri, M., Podestá, L., Pérez, M, y Santiso, G.(2017). Estudio de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en un hospital general de agudos 2002-2013. *Revista Argentina de Microbiología*, 49 (1), 24-31.
31. Velazquez, M. (2005). Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. *Salud Publica de Mexico*, 47 (5), 381-387.
32. Wertheim, H., Melles, D., y Vos, M. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infect*, 5 (1), 751-62.
33. Woodford, N., Turton, J., y Livermore, D. (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high- risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol*, 35 (1), 736-5.