



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

**Estudio del Mecanismo de Acción y Toxicidad del
Derivado de Ciprofloxacino FQB-9 como Agente
Antibacteriano**

Tesis que para obtener el grado de:

Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:

Veyna Hurtado Luis Angel

Director de Tesis:

Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera

Codirector de Tesis:

Dr. Alberto Cervantes Villagrana

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

FECHA: Diciembre 2025



REPOSITORIO INSTITUCIONAL



UASLP-Sistema de Bibliotecas

Repositorio Institucional Tesis digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

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 se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Estudio del Mecanismo de Acción y Toxicidad del Derivado de Ciprofloxacino FQB-9 como Agente Antibacteriano © 2025 por Luis Angel Veyna Hurtado está licenciado bajo Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Este proyecto se realizó en Laboratorio de Investigación en Terapéutica Experimental adscrito a Universidad Autónoma de Zacatecas, y en Laboratorio de fotoquímica y síntesis adscrito a Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en el periodo comprendido entre enero de 2022 y diciembre de 2025, bajo la dirección de Dra. en C. Denisse Atenea Loera Carrera y D. en C. Alberto Cervantes Villagrana.

El programa de Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del SECIHTI, registro 003383. Número de la beca otorgada por CONAHCYT: 815870. Número de CVU 970845.

Los datos del trabajo titulado Estudio del Mecanismo de Acción y Toxicidad del Derivado de Ciprofloxacino FQB-9 como Agente Antibacteriano se encuentran bajo el resguardo del Nombre de la entidad académica a la que está adscrito dicha instalación y pertenecen a la Universidad Autónoma de SanLuis Potosí.



Solicitud de Registro de Tesis Doctorado

San Luis Potosí SLP a Marzo/ 07 /2025

Comité Académico

En atención a: Coordinador/a del Posgrado

Por este conducto solicito a Usted se lleve a cabo el registro de título de tesis de Doctorado, el cual quedo definido de la siguiente manera: Estudio del Mecanismo de Acción y Toxicidad del Derivado de Ciprofloxacino FQB-9 como Agente Antibacteriano

que desarrollará el/la estudiante: Luis Angel Veyna Hurtado

bajo la dirección y/o Co-dirección de: Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera

Asimismo, le comunico que el proyecto en el cual trabajará el alumno involucrará el manejo de animales de experimentación, estudios con seres humanos o muestras derivadas de los mismos, el manejo y/o generación de organismos genéticamente modificados y requiere de aval de Comité de Ética e investigación de la FCQ.

(Complete la opción que aplique en su caso):

() Sí debido a que: _____

() No

(x) No Aplica

Sin otro particular, quedo de Usted.

ATENTAMENTE

Luis Angel Veyna Hurtado

Nombre y firma del estudiante

Denisse Atenea de Loera Carrera

Nombre y firma del/la Director/a de Trabajo terminal



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Estudio del Mecanismo de Acción y Toxicidad del Derivado de Ciprofloxacino FQB-9 como Agente Antibacteriano

Tesis que para obtener el grado de:

Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:

Veyna Hurtado Luis Angel

SINODALES:

Presidente:

Dr. Sergio Zarazúa Guzmán

Secretario:

Dra. Denisse Atenea de Loera Carrera

Vocal:

Dr. Alberto Cervantes Villagrana

Vocal:

Dr. Hiram Hernández López

Vocal:

Dr. Rodolfo González Chávez

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

FECHA: Diciembre 2025

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO

Dra. Denisse de Loera Carrera: Directora de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Alberto Cervantes Villagrana: Codirector de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencia y Tecnología Química de la Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, Zac.

Dr. Hiram Hernández López: Sinodal de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencia y Tecnología Química de la Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, Zac.

Dra. Gabriela Navarro Tovar: Sinodal de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Sergio Zarazúa Guzmán: Sinodal de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.



Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a 11/ 25 /2025

En la ciudad de San Luis Potosí el día 25 del mes de noviembre del año 2025. El que suscribe Luis Angel Veyna Hurtado Alumno del programa de posgrado Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas adscrito a Facultad de Ciencias Químicas manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de: Dra. en C. Denisse Atenea Loera Carrera y D. en C. Alberto Cervantes Villagrana y cede los derechos del trabajo titulado Estudio del Mecanismo de Acción y Toxicidad del Derivado de Ciprofloxacino FQB-9 como Agente Antibacteriano a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a la siguiente dirección angelveyna@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Luis Angel Veyna Hurtado

Nombre y firma del alumno

Reporte de porcentaje de similitud



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas
Programa de Doctorado

Formato D28

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a enero/ 06 /2026

L.B. Reyna Nayeli Ortiz Quintero
Biblioteca de Posgrado FCQ

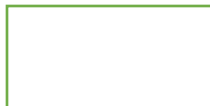
Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada Estudio del Mecanismo de Acción y Toxicidad del Derivado de Ciprofloxacino FQB-9 como Agente Antibacteriano presentada por el autor Luis Ángel Veyna Hurtado. La tesis es requisito para obtener el grado de Doctorado en el Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas. El análisis reveló un porcentaje de similitud de 50% excluyendo referencias y metodología. Dicho porcentaje corresponde a ese valor debido a que ya se cuenta con un artículo publicado, y la tesis se presenta tipo artículo.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE



Dra. Claudia Escudero Lourdes

Coordinadora Académica del Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Dedicatoria

Para Coco, Nene, y mi madre.
Siempre son el impulso de todos mis proyectos.

Agradecimientos

El presente proyecto de investigación se realizó de forma conjunta en el Laboratorio de Fotoquímica y Síntesis, Laboratorio de Análisis Clínicos, de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí; el Laboratorio de Terapéutica Experimental y en el Bioterio Claude Bernard de la Universidad Autónoma de Zacatecas; y en el Laboratorio de Patología Molecular de la Universidad Autónoma de Aguascalientes; por lo que se agradece el constante apoyo recibido por parte de los distintos centros educativos que amablemente han brindado el espacio y los medios para generar los productos científicos aquí presentados.

Se agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el otorgamiento de la beca de maestría con registro No. 970845, así como al grupo de investigación, y directora de tesis D. en C. Denisse de Loera Carrera; y el codirector de tesis D. en C. Alberto Cervantes Villagrana; por el constante asesoramiento en el transcurso de este proyecto; así como a los miembros del comité: Dr. Hiram Hernández López, Dra. Gabriela Navarro Tovar, y Dr. Sergio Zarazúa Guzmán; quienes siempre han sido fuente confiable de guía y consejos de forma atenta y profesional.

Muy especialmente, agradezco a mi familia, principalmente a mis padres: Coco, Nene, Chuya; por el incontable apoyo que he tenido en absolutamente todos mis proyectos emprendidos, y que sin duda la culminación de un proceso educativo tan extenso es principalmente mérito suyo, así como por guiarme correctamente durante todo mi proceso formativo y en mi camino de vida, sus lecciones serán invaluable y las llevaré conmigo en cada paso, y cada día, espero que recuerden siempre que ustedes son los impulsores de todo lo bueno que yo pueda llegar a hacer. A Timo, que sin duda ha sabido acompañarme y desvelarse a mi lado, siendo un apoyo emocional irremplazable. Agradezco enormemente a mi novia, Marlene, que me ha apoyado en todo aspecto, incluso dándome ideas relevantes para esta investigación, me ha facilitado poder avanzar y culminar este proceso, y en mis momentos de desánimo me ha refugiado, brindado apoyo emocional, seguridad y motivación.

Por último, reitero mi sincero agradecimiento a todas las personas antes mencionadas, su labor y apoyo siempre serán recordados y resaltados en toda instancia futura.

Resumen

El incremento sostenido de la resistencia bacteriana en las últimas décadas ha impulsado la necesidad de desarrollar nuevas moléculas con actividad antimicrobiana, tal como ha señalado la OMS, que advierte la posible llegada de una era post-antibiótica hacia 2050. En este contexto, las fluoroquinolonas experimentales han mostrado utilidad al presentar espectros ampliados y mejoras farmacocinéticas. El compuesto FQB-9, sintetizado por nuestro grupo, ha demostrado actividad frente a cepas sensibles, por lo que se consideró esencial evaluar su efecto sobre aislados resistentes a otras fluoroquinolonas.

La resistencia en *Staphylococcus aureus* se indujo mediante resiembras seriadas en concentraciones subinhibitorias durante 14 días. Se confirmó posteriormente que dicho aislado no era inhibido por ciprofloxacino mediante microdiluciones; sin embargo, FQB-9 mostró una CMI de 32 µg/mL. El análisis *in silico* de acoplamiento molecular indicó una afinidad más favorable para FQB-9 (-10.0) en comparación con ciprofloxacino (-8.9), lo que sugiere una interacción más eficiente con la ADN girasa bacteriana. El resto de las determinaciones *in silico* también revelaron propiedades ADME favorables y baja toxicidad.

Los modelos *in vivo* demostraron un perfil hepatotóxico mínimo, permitiendo avanzar hacia un modelo de neumonía aguda, en el cual FQB-9 limitó la progresión del daño neumónico a 1.99% en ratones infectados. Además, los ensayos electroforéticos confirmaron la acción del compuesto sobre la ADN girasa, concordante con el mecanismo de otras fluoroquinolonas.

En conjunto, FQB-9 mostró eficacia frente a infecciones resistentes y un perfil de seguridad adecuado, posicionándose como una molécula prometedora para el desarrollo de nuevos antibióticos.

Palabras clave: Fluoroquinolonas; farmacorresistencia, neumonía, mecanismo de acción, hepatotoxicidad.

Abstract

The sustained increase in bacterial resistance over recent decades has driven the need to develop new molecules with antimicrobial activity, as highlighted by the WHO, which warns of the possible emergence of a post-antibiotic era by 2050. In this context, experimental fluoroquinolones have proven useful due to their broad spectrum and improved pharmacokinetics. The compound FQB-9, synthesized by our group, has demonstrated activity against sensitive strains, so it was considered essential to evaluate its effect on isolates resistant to other fluoroquinolones.

Resistance in *Staphylococcus aureus* was induced by serial subinhibitory re-seeding for 14 days. It was subsequently confirmed that this isolate was not inhibited by ciprofloxacin using microdilutions; however, FQB-9 showed a MIC of 32 µg/mL. *In silico* molecular docking analysis indicated a more favorable affinity for FQB-9 (-10.0) compared to ciprofloxacin (-8.9), suggesting more efficient interaction with bacterial DNA gyrase. The rest of the *in silico* determinations also revealed favorable ADME properties and low toxicity.

In vivo models demonstrated a minimal hepatotoxic profile, allowing progression to an acute pneumonia model, in which FQB-9 limited the progression of lung damage to 1.99% in infected mice. In addition, electrophoretic assays confirmed the compound's action on DNA gyrase, consistent with the mechanism of other fluoroquinolones.

Altogether, FQB-9 showed efficacy against resistant infections and an adequate safety profile, positioning itself as a promising molecule for the development of new antibiotics.

Keywords: Fluoroquinolones; drug resistance; pneumonia; mechanism of action; hepatotoxicity.

ÍNDICE

1) Introducción	1
2) Antecedentes.....	3
3) Justificación	9
4) Hipótesis.....	10
5) Objetivo General.....	10
6) Objetivos Específicos	10
7) Metodología.....	11
7.1 Generación de resistencia bacteriana.....	11
7.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria(CMI) por microdiluciones	11
7.3 Análisis de docking molecular.....	12
7.4 Modelo <i>in vivo</i> de hepatotoxicidad.....	12
7.5 Modelo <i>in vivo</i> de neumonía aguda	13
7.6 Evaluación molecular del mecanismo de acción.....	13
8) Artículos de Investigación Publicados	15
8.1 The derivative difluoroboranyl-fluoroquinolone “7a” generates effective inhibition against the <i>S. aureus</i> strain in a murine model of acute pneumonia ..	15
8.2 The difluoroboranyl-norfloxacin derivative “7a” inhibits bacterial DNA gyrase and exhibits potent activity against ciprofloxacin-resistant <i>S. aureus in vitro</i> and <i>in vivo</i> using an acute pneumonia model.....	33
9) Conclusiones.....	34
10) Perspectivas.....	35
Anexos	46

1) Introducción

Los microorganismos y los seres humanos interactúan en una gran variedad de escenarios, pudiendo resultar en relaciones simbióticas o en procesos infecciosos, dependiendo de las condiciones fisiológicas del hospedero. Entre estos microorganismos, las bacterias son las más abundantes en nuestro ambiente y constituyen agentes causales de patologías infecciosas capaces de presentar alta mortalidad. Como respuesta a esto, el descubrimiento, desarrollo e implementación de los antibióticos, moléculas efectivas en la eliminación bacteriana, permitió controlar eficazmente estas infecciones, representando uno de los avances más importantes de la medicina en el siglo XX (Mohr, 2016).

A pesar de esto, la administración empírica inadecuada, el uso desmedido y poco regulado de estos fármacos favorecieron que las bacterias desarrollaran en poco tiempo distintos mecanismos de resistencia antibiótica, inutilizando gran cantidad de moléculas previamente efectivas (Rather *et al.*, 2017). Estos mecanismos incluyen la limitación de la concentración intracelular del antibiótico, la degradación enzimática del compuesto activo, el aumento en actividad y cantidad de bombas de eflujo, la modificación del blanco farmacológico, la formación de biopelículas y la liberación de vesículas derivadas de la membrana externa (Sakalauskiénė & Radzevičienė, 2024). Como respuesta, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha exhortado a la comunidad científica a que se realice una mayor investigación dirigida al desarrollo de nuevos antibióticos efectivos (Sakalauskiénė & Radzevičienė, 2024; WHO, 2017).

No obstante, la investigación de nuevos antibióticos continúa siendo ineficiente, lo cual se evidencia en la escasa cantidad de compuestos que avanzan en las fases de investigación y desarrollo, en contraste con el acelerado aumento en la resistencia bacteriana. Este panorama ha llevado a vislumbrar una posible era post-antibiótica, acompañada por un gran aumento en la mortalidad por infecciones. De hecho, la OMS ha estimado un aproximado de 10 millones de muertes por año asociadas a infecciones farmacorresistentes para el año 2050 (Akram *et al.*, 2023; OMS, 2019; Stephens *et al.*, 2020; WHO, 2017).

Ante esto, se destaca la relevancia de *Staphylococcus aureus*, una de las principales causas de intoxicación alimentaria (Ondusko & Nolt, 2018), y un agente etiológico de neumonía adquirida en la comunidad, cuya complicación puede alcanzar tasas de mortalidad de hasta 40% en pacientes que requieren ventilación mecánica (Aryee & Edgeworth, 2017; Niederman & Torres, 2022; Pahal & Sharma, 2020). Además, *S. aureus* ha sido reportada como la principal causa bacteriana de muerte en 135 países (incluyendo México y Estados Unidos); y cuyos mecanismos de resistencia, principalmente caracterizados por mutación del sitio activo y presencia del gen *mecA*, le han permitido ser una preocupación constante en infecciones de piel, tejidos blandos, neumonía y sepsis (Collaborators, 2022).

Frente a este escenario, es imprescindible intensificar la búsqueda y el desarrollo de compuestos con prometedores resultados como antibióticos, así como avanzar hacia su posible implementación clínica. Esto impulsa una mayor exploración de nuevas estrategias y estructuras químicas relevantes para la investigación (Stephens *et al.*, 2020). Adicionalmente, es fundamental esclarecer los distintos mecanismos de acción por los cuales un compuesto ejerce actividad antibacteriana, ya que esto permite diseñar nuevas estrategias más eficientes para la eliminación de microorganismos clínicamente relevantes, y posibilita identificar rutas alternas para evadir distintos mecanismos específicos de farmacorresistencia desarrollada previamente (Niu *et al.*, 2022) (Khazaal *et al.*, 2022).

En la investigación de nuevas moléculas con potencial farmacológico, diversas estrategias permiten orientar el desarrollo hacia compuestos con mayor probabilidad de éxito. Entre ellas destacan las simulaciones *in silico*, las cuales facilitan una aproximación preliminar a las propiedades farmacodinámicas, así como la predicción de rutas metabólicas y de la posible toxicidad asociada a sus metabolitos. Asimismo, estas herramientas permiten estimar la afinidad de un compuesto por su sitio de acción mediante análisis de *docking* molecular, lo que contribuye a identificar candidatos con capacidad potencial para inhibir una diana terapéutica específica, optimizando así el uso de recursos biológicos y materiales.

Sin embargo, es fundamental corroborar las evidencias generadas por estas aproximaciones computacionales mediante estudios *in vitro* y, en última instancia, mediante modelos *in vivo* que confirmen la actividad biológica de los compuestos en un entorno fisiológico. Esta integración metodológica resulta esencial para validar la viabilidad de nuevas entidades químicas como futuros agentes terapéuticos.

En nuestro grupo de investigación se han sintetizado diversos compuestos derivados de quinolonas (Hernández-López *et al.*, 2019; Socorro Leyva-Ramos & Hernández-López, 2017), los cuales han demostrado actividad frente a cepas sensibles. Entre estas estructuras, se seleccionó una molécula activa denominada **FQB-9**, una fluoroquinolona con un complejo de boro bifluorado debido a su potencia y elevada efectividad antimicrobiana, evidenciada ante *S. aureus* y *K. pneumoniae* (Medellín-Luna *et al.*, 2023; Veyna-Hurtado *et al.*, 2023). En este trabajo se evaluó su actividad frente a cepas resistentes y se determinó su posible toxicidad mediante estudios *in vitro*, *in silico* e *in vivo*. Se espera que esta estrategia contribuya al avance en el desarrollo de nuevas moléculas con efectividad antibiótica.

2) Antecedentes

Las fluoroquinolonas constituyen una familia de antibióticos caracterizada por la presencia de un núcleo bicíclico derivado de la estructura de la 4-quinolona. A partir de la década de 1970, su desarrollo permitió la obtención de compuestos con un espectro antimicrobiano más amplio y con propiedades farmacocinéticas significativamente mejoradas, lo que favoreció su incorporación extensiva en la práctica clínica para el tratamiento de infecciones en diversos niveles orgánicos (Dine *et al.*, 2023; Geremia *et al.*, 2024). Su mecanismo de acción se fundamenta en la inhibición de dos enzimas esenciales para la replicación del ADN bacteriano: la ADN girasa y la topoisomerasa IV. La interferencia con estas topoisomerasas genera complejos ternarios con el ADN, comprometiendo la progresión de la horquilla de replicación y conduciendo finalmente a un efecto bactericida característico de este grupo de compuestos. (Dine *et al.*, 2023; Geremia *et al.*, 2024; Pham *et al.*, 2019).

En el grupo de investigación se han sintetizado diversos derivados quinolónicos, , entre ellos el difluoroboranilo 1-etil-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-il-1,4-dihidro-quinolina-3-carboxilato, identificado como FQB-9, cuya estructura se ilustra en la **Figura 1** (Hernández-López *et al.*, 2019; Leyva & Hernández, 2010). La predicción *in silico* de la posible interacción del FQB-9 con la estructura de la topoisomerasa IV mediante docking ciego, resultó en una puntuación de -7.36 Kcal/mol.

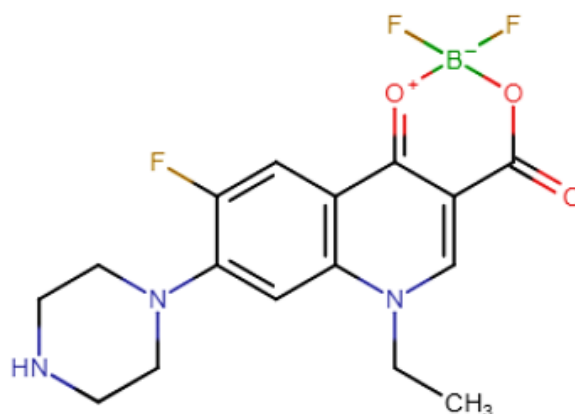


Figura 1. Estructura química del compuesto FQB-9.

Otras moléculas derivadas de quinolonas sintetizadas por nuestro grupo de investigación presentaron también puntuaciones adecuadas al evaluarse su interacción con topoisomerasas IIA de las bacterias *S. aureus* y *K. pneumoniae* (Medellín-Luna *et al.*, 2023; Veyna-Hurtado *et al.*, 2023; Veyna-Hurtado *et al.*, 2025). No obstante, el FQB-9 se mostró orientada hacia las regiones superiores de la subunidad ParC de *K. pneumoniae* y de la subunidad gyrA en *S. aureus*, como se puede observar en la **figura 2**, evidenciando la posible interacción directa con la diana farmacológica característica de las fluoroquinolonas. Asimismo, el FQB-9 presentó el mejor puntaje de afinidad entre las moléculas evaluadas, lo que permite inferir una mayor probabilidad de inhibición efectiva de la enzima blanco.

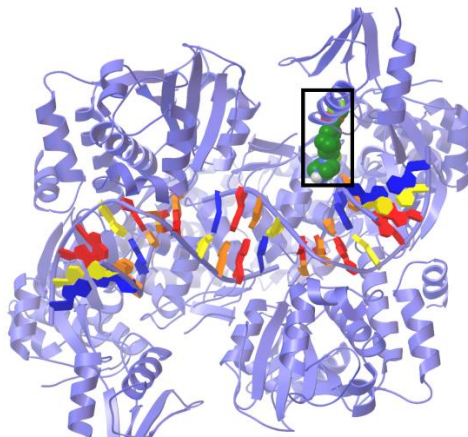


Figura 2. Análisis *in silico* del acoplamiento de FQB-9 con topoisomerasa IV bacteriana. El compuesto experimental se sitúa en la parte superior de la enzima, en la subunidad parC (Veyna-Hurtado *et al.*, 2023).

Las simulaciones *in silico* de un compuesto nos permiten establecer predicciones respecto a su capacidad para interactuar con un determinado blanco farmacológico. Es por esto, que el uso de herramientas digitales como el docking molecular suministra una visualización sobre el posible mecanismo de acción esperado para nuevas moléculas, así como discriminar entre aquellos que tendrían mayor posibilidad de interacción.

El análisis de acoplamiento molecular *in silico* del compuesto FQB-9 evidenció su interacción con la topoisomerasa IV de *K. pneumoniae*, obteniendo una puntuación de -7.36 kcal/mol y mostrando afinidad por la subunidad A. Este comportamiento resulta consistente con lo observado en otras moléculas de la misma subfamilia previamente caracterizadas por nuestro grupo de investigación, las cuales exhibieron valores de docking entre -9.1 y -7.0 kcal/mol y demostraron adicionalmente actividad efectiva en ensayos *in vitro* (Medellín-Luna *et al.*, 2023). El FQB-9 por su parte mostró una amplia superficie de interacción, siendo la mayoría de las interacciones hidrofóbicas y electrostáticas con diferentes aminoácidos alrededor de la molécula como la Alanina, Glutamato, Lisina, y el principal enlace formado por puente de hidrógeno con el nitrógeno del anillo de piperazina y los oxígenos del Aspartato; podemos observar tales interacciones en su conformación tridimensional en la **figura**

3. Además, en la posición C3 se presentan interacciones electrostáticas entre los oxígenos de la cadena con la Leucina, y con los átomos finales de flúor de la Fenilalanina (Veyna-Hurtado *et al.*, 2023). Finalmente, los resultados de acoplamiento permiten inferir que la molécula FQB-9 genera una estrecha interacción con la cadena de ADN.

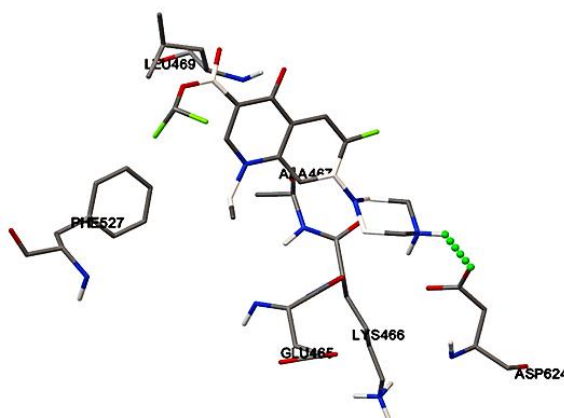


Figura 3. Interacciones *in silico* del compuesto FQB-9 con los aminoácidos del sitio de interacción en topoisomerasa IV (Veyna-Hurtado *et al.*, 2023).

Se ha demostrado previamente que el compuesto FQB-9 posee actividad antibiótica contra aislados clínicos sensibles de *S. aureus* y *K. pneumoniae*, observándose resultados equivalentes entre el compuesto FQB-9 y el ciprofloxacino, (halos de inhibición de $>8\text{cm}^2$ para ambas cepas) (W. L. CLSI, 2018). Además, este compuesto obtuvo la misma CMI que el ciprofloxacino contra cepas de *S. aureus* y *K. pneumoniae* ($0.25\mu\text{g/mL}$ y $1\mu\text{g/mL}$ respectivamente), evidenciando su potencia antibiótica (CLSI, 2020). Correspondiente a la CMB, el FQB-9 es capaz de inhibir el desarrollo posterior bacteriano con la misma dilución que su CMI, a diferencia del ciprofloxacino, que requiere el doble de concentración para tal efecto (Veyna-Hurtado *et al.*, 2023).

Adicionalmente, y con el objetivo de determinar la posible toxicidad del compuesto FQB-9, ya se ha realizado también un estudio de citotoxicidad en Células de Carcinoma de Lewis (LLC), las cuales, tras ser tratadas e incubadas con el estímulo

del compuesto, se obtuvo un porcentaje de células inviables equivalente al control negativo sin tratamiento, mostrando la baja actividad citotóxica que presenta el FQB-9. Esto permitió proceder a la evaluación del FQB-9 en un modelo *in vivo* de infección intratraqueal, donde se observó la sobrevivencia de los ratones hasta los 6 días, y tras el análisis del tejido pulmonar, se evidenció la capacidad de las suspensiones bacterianas para inducir neumonía en el modelo. Los grupos experimentales tratados con FQB-9 mostraron un bajo porcentaje de tejido neumónico (5.83% infectados con *S. aureus* y 5.96% con *K. pneumoniae*), significativamente menor que el grupo infectado sin tratamiento, que generó un 60.51% de tejido neumónico con *S. aureus* y un 71.70% con *K. pneumoniae* (Veyna-Hurtado *et al.*, 2023). Se realizaron capturas de imágenes representativas del parénquima pulmonar de los ratones en los grupos experimentales, como se muestra en la **figura 4**.

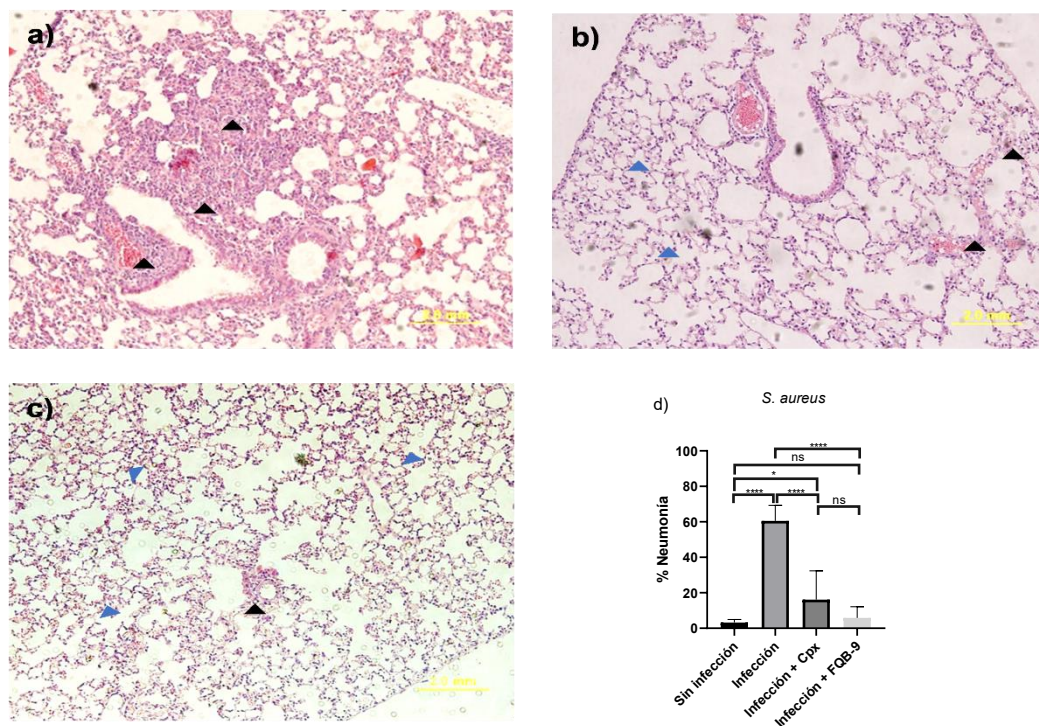


Figura 4. Áreas neumónicas en cortes histológicos de pulmón con infección de *S. aureus*. a) Sin tratamiento; b) Con tratamiento de ciprofloxacino; c) Con administración de FQB-9; d) Media y desviación estándar del porcentaje de área de neumonía. Las flechas azules señalan áreas típicas sanas del tejido; las flechas negras señalan porciones con inflamación

aguda. ANOVA de una vía, post-test de Tukey, ns= no significativo, ****p<0.0001 (Veyna-Hurtado *et al.*, 2025).

La experimentación con modelos *in vivo* permite obtener datos relevantes en la investigación farmacológica que de otra manera solo podríamos predecir, o bien, evaluar en modelos celulares, pero que podrían no ser correspondientes a la actividad posteriormente observada al administrarse en animales o humanos (Waack *et al.*, 2020).

Se ha reportado previamente que las células *E. coli* DH5 α permiten su transformación mediante plásmidos aislados, lo cual posibilita que se inserte material genético específico para su posterior evaluación en estudios moleculares que determinen o aumenten la información relacionada a su mecanismo de acción (Niu *et al.*, 2022). En el caso específico de las fluoroquinolonas, se ha demostrado la posibilidad de desarrollar materiales de referencia de ADN plasmídico homogéneos y estables para detectar los mecanismos de resistencia mediante células recombinantes de *Escherichia coli* DH5 α (Niu *et al.*, 2022), la cual posee muchos genotipos de utilidad para la investigación (*recA*, *deoR*, *gyrA* y *endA1*) los cuales han sido utilizados en distintos protocolos como clonación de genes y la producción de proteínas (Jung *et al.*, 2010). Se han descrito ensayos para determinar la inhibición de la ADN girasa por ciprofloxacino en cepas de *E. coli* (V. Alexandre *et al.*, 1991) donde se determinó que los niveles bajos de ciprofloxacina condujeron a un aumento de la superhelicidad negativa del ADN plasmídico, mientras que a concentraciones más altas de ciprofloxacina, el ADN se relajó, debido a la interacción de la quinolona con la girasa, evidenciado mediante el superenrollamiento de un plásmido. Para tal evaluación, se emplearon células *E. coli* K-12, siendo las células DH5 α derivadas de tal cepa (Jung *et al.*, 2010).

De esta manera, el conjunto de las mencionadas evaluaciones previas del FQB-9 resaltan la actividad del compuesto ante cepas sensibles, lo cual permite que se tengan altas expectativas para proceder a la realización de la experimentación

posterior que se ha planteado, objetivando evidenciar propiedades adicionales y efectividad sobre cepas que ya presenten resistencia a otros antibióticos, así como dilucidar detalles importantes respecto a su mecanismo de inhibición bacteriana.

3) Justificación

Durante décadas, ha sido ampliamente reportada la acelerada aparición de resistencia antibiótica en gran cantidad de cepas bacterianas, principalmente como resultado del suministro y uso inadecuado de tratamientos farmacológicos. Este constante fenómeno, ha conllevado que las infecciones actualmente involucren especies bacterianas resistentes a distintos antibióticos.

Se estima que 500 000 personas de 22 países presentan infecciones bacterianas resistentes, relacionadas a patógenos comunes como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* de acuerdo al Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos de la OMS (OMS, 2018). Las enfermedades farmacorresistentes causan más de 700 000 muertes al año, y la cifra podría aumentar a 10 millones de muertes para el año 2050 de no generarse un aumento importante de nuevos tratamientos antibióticos efectivos, además de tomarse medidas adicionales como una regulación más estricta en la venta y prescripción de los mismos (OMS, 2019).

La tendencia a perder tratamientos efectivos en la clínica para infecciones bacterianas conlleva un aumento exponencial en la morbilidad y mortalidad correspondiente a patologías que solían ser tratadas sin complicación en décadas anteriores. Debido a esto, la OMS ha exhortado a la comunidad científica la necesidad de aumentar la investigación y desarrollo de nuevos compuestos activos ante las cepas de mayor capacidad farmacorresistente (OMS, 2018, 2019, 2021). Por lo tanto, es prioritario obtener nuevas moléculas como potenciales antibióticos, campo en el cual se ha evidenciado la efectividad de las nuevas fluoroquinolonas, ya que presentan amplio espectro antibacteriano, alta potencia, y se han disminuido las reacciones adversas reportadas en anteriores generaciones.

En México, las enfermedades respiratorias agudas son de alta prioridad en la clínica, representando la principal causa de morbilidad en la población y de mortalidad en niños menores de 5 años (Diego-Rodríguez *et al.*, 2020). Ante esto, el compuesto FQB-9 podría ser de utilidad en el tratamiento de infecciones causadas por cepas bacterianas resistentes, para lo cual es necesario evaluar su efectividad antibacteriana en un modelo *in vivo* y verificar la baja toxicidad, ampliando así el conocimiento respecto a las nuevas fluoroquinolonas con complejo de boro como potenciales nuevos tratamientos.

4) Hipótesis

El compuesto FQB-9 inhibe el desarrollo de un aislado clínico de *S. aureus* resistente al ciprofloxacino *in vitro* e *in vivo*, presenta afinidad a la ADN-girasa bacteriana, y posee una baja hepatotoxicidad en modelo murino.

5) Objetivo General

Evaluar las interacciones del compuesto FQB-9 con ADN-girasa y determinar su efectividad sobre un aislado clínico de *S. aureus* resistente al ciprofloxacino.

6) Objetivos Específicos

- 1) Inducir farmacorresistencia a ciprofloxacino en un aislado de *S. aureus*.
- 2) Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del FQB-9 contra un aislado clínico de *S. aureus* resistente a ciprofloxacino.
- 3) Analizar las interacciones *in silico* del FQB-9 con ADN-girasa mediante docking molecular.
- 4) Determinar la hepatotoxicidad *in vivo* del compuesto FQB-9 mediante análisis histopatológico y cuantificación sérica de DHL, AST, ALT por colorimetría enzimática.
- 5) Establecer la efectividad del FQB-9 en un modelo *in vivo* de infección intratraqueal de *S. aureus* resistente a ciprofloxacino.
- 6) Evidenciar la posible inhibición de la ADN-girasa con el compuesto FQB-9 mediante ensayo electroforético de superenrollamiento.

7) Metodología

7.1 Generación de resistencia bacteriana

La inducción de resistencia a ciprofloxacino en *Staphylococcus aureus* se llevó a cabo mediante un esquema de exposición adaptativa seriada. Una alícuota de un cultivo nocturno de *S. aureus* se inoculó en una microplaca de 96 pozos que contenía caldo Müller-Hinton suplementado con concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacino (por debajo de la CMI previamente determinada), por triplicado. Tras 24 horas de incubación a 37 °C bajo condiciones aeróbicas, el sedimento bacteriano visible se transfirió a medio fresco con la misma concentración subinhibitoria del antibiótico (0,5X CMI). Este proceso de resiembra se repitió diariamente durante 14 pasajes consecutivos. Posteriormente, se reevaluó la CMI de ciprofloxacino para confirmar el desarrollo de resistencia en la población bacteriana adaptada. Esta metodología, basada en una exposición progresiva al antibiótico, ha sido descrita como una estrategia eficaz para generar cepas resistentes. (Yasir *et al.*, 2021).

7.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria(CMI) por microdiluciones

Se realizaron una serie de microdiluciones en placas de 96 pocillos, utilizando concentraciones entre 64 µg/mL y 0.125 µg/mL del compuesto FQB-9 en caldo nutritivo. A cada dilución se le agregó un inóculo estándar correspondiente a 5×10^5 UFC/mL de *S. aureus*. Se incubaron durante 24 horas, a 37°C en un ambiente aerobio, y posteriormente se observó el desarrollo bacteriano mediante la generación de turbidez, seleccionando la menor concentración sin desarrollo bacteriano como la mínima inhibitoria. Adicionalmente, se realizaron resiembras de 10 µL a partir de las 3 menores diluciones sin desarrollo bacteriano en placas con agar Müller-Hinton; tras su incubación durante 24 horas a 37°C, se establece que aquella concentración que no presente UFC representa la Concentración Mínima Bactericida (CMB).

7.3 Análisis de docking molecular

Seleccionamos y descargamos la proteína cristalizada del RSCB Protein Data Bank (PDB) con el ID 2xct, una estructura de 3,35 Å de la girasa de *S. aureus* co-cristalizada con ciprofloxacino. Las estructuras adyacentes a la proteína se eliminaron con UCSF Chimera (1.16), excepto la doble cadena de ADN y el ion Mg²⁺. En este software se realizó una minimización energética de la proteína con el conjunto de parámetros PDB2PQR. Mediante el software AutoDock Tools (1.5.7) se da el estado de protonación al receptor.

Se llevó a cabo la optimización geométrica de la estructura de FQB-9 en el software Avogadro (1.2.0) utilizando el campo de fuerza UFF mediante el algoritmo de descenso más pronunciado. AutoDock Tools (1.5.7) permitió establecer el árbol de torsión del ligando y diseñar la caja de interacción a utilizar en el receptor. Se utilizó AutoDock Vina (1.1.2) para realizar el docking de FQB-9 frente a la proteína girasa. Los resultados post-docking se analizaron y visualizaron utilizando las funcionalidades Receptor-Ligando en Discovery Studio Visualizer (21.1.0).

7.4 Modelo *in vivo* de hepatotoxicidad

Se emplearon 20 ratones Balb/C, distribuidos en cuatro grupos experimentales de cinco individuos cada uno: control sin tratamiento, control con vehículo (solución inyectable), tratamiento con paracetamol (300 mg/kg) y tratamiento con FQB-9. Los animales fueron sometidos a ayuno durante 3 horas, posteriormente se registró su peso y se administró el tratamiento correspondiente. Tras 24 horas, los ratones fueron anestesiados con sevoflurano por vía inhalada, sacrificados y se procedió a la disección de hígado y riñones, además de la recolección de sangre por punción cardiaca. La dosis de paracetamol utilizada se seleccionó conforme a modelos experimentales previamente descritos (Cayuela *et al.*, 2020; Mossanen & Tacke, 2015).

La sangre obtenida fue centrifugada durante 15 minutos a 956×g para la separación del suero, el cual se empleó para la determinación mediante química seca de los marcadores enzimáticos: ALT, AST, LDH, proteínas totales, bilirrubinas totales

y fosfatasa alcalina (Shen *et al.*, 2023). Los órganos disecados fueron incluidos en parafina y, posteriormente, se realizaron cortes histológicos que fueron teñidos con hematoxilina y eosina para su evaluación histopatológica.

7.5 Modelo *in vivo* de neumonía aguda

Se estableció un modelo *in vivo* utilizando ratones Balb/c infectados por vía intratraqueal con una suspensión de *Staphylococcus aureus* resistente a ciprofloxacino (9×10^7 UFC). Los animales infectados se distribuyeron en cuatro grupos experimentales (n = 5 por grupo): control sin infección ni tratamiento; control infectado sin tratamiento; tratamiento con ciprofloxacino (80 mg/kg/día); y tratamiento con FQB-9 (80 mg/kg/día). Durante los cinco días posteriores a la infección, los ratones fueron monitoreados y pesados diariamente, y recibieron las administraciones correspondientes cada 24 horas. En el sexto día, los animales fueron sacrificados y se procedió a la disección de los pulmones. El tejido pulmonar se procesó mediante tinción con hematoxilina y eosina y se obtuvieron imágenes digitales con un microscopio invertido. A partir de dichas imágenes, se determinó el porcentaje de área neumónica empleando el software ImageJ, el cual permite cuantificar regiones afectadas mediante la correlación de píxeles con una escala métrica previamente calibrada.

7.6 Evaluación molecular del mecanismo de acción

El mecanismo de acción del compuesto FQB-9 podría ser similar al presentado por otras fluoroquinolonas previamente reportadas (Lapointe *et al.*, 2021; Pham *et al.*, 2019). Con el fin de corroborar si la actividad antibacteriana presentada por el FQB-9 tiene su origen en la inhibición de la girasa, se busca la sobreexpresión de esta enzima en la cepa competente DH5- α de *E. coli*, la cual permite a su vez ser transformadas con alta eficiencia tras la inserción de plásmidos (Khazaal *et al.*, 2022; Niu *et al.*, 2022).

Se llevó a cabo la inserción del plásmido **pGLO**, iniciando con una única colonia bacteriana portadora del plásmido de interés, la cual se inoculó en un volumen adecuado de caldo LB. El cultivo se incubó durante la noche a 37 °C con agitación constante. Posteriormente, las células bacterianas se sedimentaron mediante

centrifugación a $5000 \times g$ durante 10 min a 4°C . Se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en un volumen equivalente de solución buffer TE.

Para lisar las células, se añadió lisozima hasta una concentración final de 1 mg/mL y se incubó a 37°C durante 30 min. Posteriormente, se agregó SDS a una concentración final de 0.2% y ARNasa A a 10 $\mu\text{g/ml}$, incubándose nuevamente a 37°C por 30 min. La digestión de proteínas se realizó añadiendo proteinasa K (20 $\mu\text{g/ml}$) y manteniendo la mezcla a 55°C durante 2 h, o hasta que la solución adquirió una apariencia transparente.

La extracción del ADN plasmídico se efectuó mediante la adición de un volumen igual de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico, seguido de agitación y centrifugación a $10\,000 \times g$ durante 10 min. La fase acuosa se transfirió a un tubo limpio y se realizó una segunda extracción con cloroformo:alcohol isoamílico. El ADN se precipitó añadiendo 0.6 volúmenes de isopropanol y centrifugándolo a $10\,000 \times g$ durante 15 min. El pellet obtenido se lavó con etanol al 70%, se dejó secar al aire y se resuspendió en un volumen apropiado de agua libre de ARNasa. El ADN purificado se almacenó a -20°C para conservación a corto plazo o a -80°C para almacenamiento prolongado.

Posteriormente, el material genético purificado se incubó con el compuesto FQB-9 a 37°C durante 30 min, con el propósito de evitar la eliminación bacteriana (Morgan-Linnell *et al.*, 2007), y evaluar si la presencia del derivatizado inhibía la actividad de la ADN girasa. Se realizaron ensayos electroforéticos para detectar posibles deleciones o fragmentación del ADN (Khazaaal *et al.*, 2022). Para ello, se preparó un gel de agarosa al 1%, en el cual se cargó un volumen equivalente de ADN en cada pozo, ejecutando la electroforesis a 80 V durante 60 min. El gel se tiñó con bromuro de etidio y finalmente se visualizó bajo luz UV mediante el sistema DNR MiniBIS Pro, lo que permitió comparar los patrones de migración del plásmido pGLO en función de su grado de relajación o linealización.

8) Artículos de Investigación Publicados

8.1 The derivative difluoroboranyl-fluoroquinolone “7a” generates effective inhibition against the *S. aureus* strain in a murine model of acute pneumonia

L. Angel Veyna-Hurtado ¹, Hiram Hernández-López ², Fuensanta del Rocío Reyes-Escobedo ³, Denisse de Loera ⁴, Salvador García-Cruz ⁵, Lorena Troncoso-Vázquez ⁶, Marisol Galván-Valencia ⁷, Julio E. Castañeda-Delgado ⁸ and Alberto Rafael Cervantes-Villagrana ^{9,*}

¹ Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; México, angelveyna@gmail.com

² Laboratorio de Investigación en Síntesis Orgánica y Modificación Química, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, México

³ Laboratorio de Microbiología Sanitaria de Investigación y Servicio al Público, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, México

⁴ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; México

⁵ Laboratorio de Cirugía, Unidad Académica de Medicina Humana, Universidad Autónoma de Zacatecas, México

⁶ Departamento de Patología, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Zacatecas, Zacatecas, México

⁷ Laboratorio de Investigación en Patología y Productos Naturales, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, México

⁸ Investigador por México / Cátedras CONAHCYT, Unidad de Investigación Biomédica de Zacatecas, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Zacatecas, México.

⁹ Laboratorio de Investigación en Terapéutica Experimental, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, México.

* Correspondence: dr.albertocervantes@uaz.edu.mx; Tel.: +52 492 103 9593

During the last decades, most bacterial strains have become increasingly resistant to antibiotics. This has led the WHO to declare a global emergency in 2017 to develop new active compounds. Some families of antibiotics still show high antibacterial efficacy, as is the case of fluoroquinolones, which have a broad spectrum of action. For this reason, our research group derived several compounds from fluoroquinolones, selecting a compound with good antibacterial activity for further evaluations, a difluoroboranyl-fluoroquinolone complex labeled **7a**. Antibacterial activity was evaluated by the Kirby-Bauer method against *S. aureus* (clinical isolate HGZ2201#ID); the MIC and MBC were obtained by macrodilutions and reseeded; *In vivo* antimicrobial activity was evaluated in a Balb/c mice model infected intratracheally with *S. aureus* and subsequently treated with ciprofloxacin or **7a** (80 mg/kg/day) during five days. A mean of 8.55±0.395 cm² inhibition area was observed using **7a** while ciprofloxacin generated a mean inhibition of 7.86±0.231 cm²; **7a** showed a MIC and MBC of 0.25 µg/mL; and reduced to 5.83% the generation of pneumonic lung tissue, while the untreated infected group generated 60.51 % of pneumonic tissue. Compound **7a** proved to be an antimicrobial agent capable of inhibiting *in vitro* development of *S. aureus*. Furthermore, **7a** showed effectiveness decreasing the progression of acute pneumonia induced by *S. aureus* in a murine model.

Keywords: Fluoroquinolone, *S. aureus*, antimicrobial, molecular docking, pneumonia, histopathology.

1. Introduction

The WHO has published reports stating that the large increase in drug resistance could lead to a post-antibiotic era by 2050, while it has also been established that by that year there will be 10 million deaths per year from antibiotic-resistant infections (Akram *et al.*, 2023; O'Neill, 2015; OMS, 2019; Stephens *et al.*, 2020). One of the most problematic bacteria-related diseases, acute respiratory infections (ARI) cause millions of deaths worldwide, representing the first leading cause of death in children and the sixth leading cause of death in adults (Ballarini *et al.*, 2022; Diego-Rodríguez *et al.*, 2020; Hakansson *et al.*, 2018; Kumar, 2020; Muñoz *et al.*, 2021). *Staphylococcus aureus* is one of the main causes of food poisoning in industrialized countries (Ondusko & Nolt, 2018), and a causal agent of pneumonia due to its infectious capacity. Regarding Community-Acquired Pneumonia (CAP), about 5-10 % of patients end up in the intensive care unit. Severe CAP represents the most complicated subgroup to treat in this pathology, whose mortality can reach 40 % in patients who had septic shock and require mechanical ventilation (Aryee & Edgeworth, 2017; Niederman & Torres, 2022; Pahal & Sharma, 2020).

In a global review about mortality from bacterial infections, it is reported that *S. aureus* was the leading bacterial cause of death in 135 countries (including Mexico and the USA) and was also associated with most deaths in individuals over 15 years of age, worldwide. In 2019, more than 6 million deaths resulted from three bacterial infectious syndromes, of which lower respiratory infections and bloodstream infections each caused more than 2 million deaths (Collaborators, 2022).

The fluoroquinolone family have an extended use in the clinics for complicated infections, and the recent derivatized structures show high activity and broad antibacterial spectrum, being effective against *S. aureus*, *K. pneumoniae* and *E. coli*, even presenting a high utility against difficult treatment bacteria, such as *Y. enterocolitica*, *Mycobacteria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* (Carrillo-Alduenda *et al.*, 2018; Socorro Leyva-Ramos & Hernández-López, 2017). These fluoroquinolones have evidenced a decreased bacterial resistance, phototoxicity has been eliminated, and they are effective in methicillin-resistant *S. aureus* strains (Cho *et al.*, 2018; Ocheretyaner & Park, 2018). Previously, our research group have synthesized and characterized several fluoroquinolone compounds in complex with boron atom (Leyva & Hernández, 2010) in order to increase the antibacterial activity and improve the physicochemical and pharmacokinetic properties (Hernández-López *et al.*, 2019).

In the organic synthesis of the compounds, the addition of functional groups that improve the overall potency were considered, such as the addition of cyclopropyl in position N-1, also achieved by the addition of an ethyl group (Pham *et al.*, 2019). In turn, a fluorine group was added at position 6, which has traditionally been reported to increase the activity against gram-negative bacteria, activity that is also enhanced by the piperazine at C-7 position of the quinolone ring, compared to other compounds lacking such a structure (Laws *et al.*, 2020; Norouzbahari *et al.*, 2020; Pham *et al.*, 2019).

Boron-fluoroquinolone derivatives are obtained by incorporating the boron atom at positions 3 and 4 through keto and carboxylic groups. Currently, there are few reports of boronated fluoroquinolones, with a small number of examples with inhibitory activity in cancer cell lines or bacterial (Hernández-López *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2016; Sayin & Karakaş, 2017), so it is required to expand the libraries of boron derivatives and their conjugates, and elucidate their mechanism of action. In addition, molecular docking studies have been described using norfloxacin-boron complexes as ligand, resulting in an increase in the interaction obtained when boron was bound to fluoride atoms (Sayin & Karakaş, 2018).

Boron has unique chemical properties, such as its ability to form stable complexes with biomolecules, which can enhance antibacterial activity and modulate target specificity and reduce the cytotoxicity of some organic structure moieties. It has also been reported to have antibacterial activity on its own, boosts the immune system, possesses activity in vaginal infections, and has even been described to be useful in cancer treatment (boron neutron capture therapy [BNCT]) by minimizing the number of healthy cells affected (Chatterjee *et al.*, 2021; Delgado, 2022; Khaliq & Ke-Mei, 2018; Leśnikowski, 2021), however, there are few reports of fluoroquinolone derivatives containing boron-based substituents reported.

An *in vitro* screening revealed the compound difluoroboranyl 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-yl-1,4-dihydro-quinoline-3-carboxylate, later labelled as "7a" (shown in **Figure 1. a**) as one of the best inhibitors against *S. aureus* and *K. pneumoniae*. Our research team has already exhaustively evaluated 7a in the gram-negative strain *Klebsiella pneumoniae*, demonstrating a notorious antibacterial activity (Veyna-Hurtado *et al.*, 2023), therefore our main objective in this research was to evaluate the antimicrobial effect *in vitro* of 7a against gram-positive bacteria strain *S. aureus* and determine its activity in an acute pneumonia model in mice (the experimental design is shown in **Figure 1. b**).

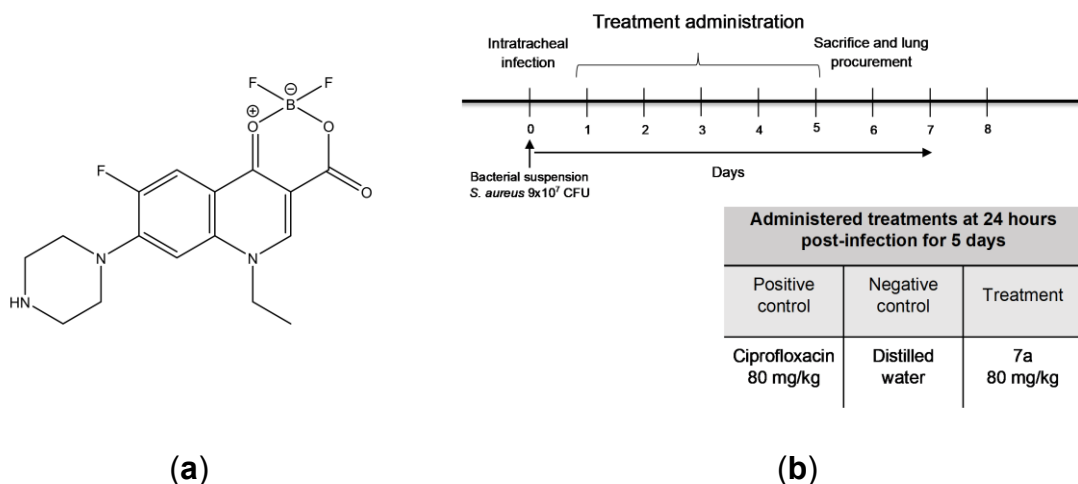


Figure 1. Structure of the 7a compound and experimental treatment design. **a)** Chemical structure of the 7a compound synthesized by our research group. **b)** Experimental treatment design. Infection was performed at day zero, with 9×10^7 CFU of *S. aureus*. Treatments were

administered 24 hours post-infection for 5 consecutive days, sacrificing the mice and removing the lungs on day 6.

2. Materials and Methods

2.1. Synthesis of difluoroboranyl 1-ethyl-7-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-yl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate, **7a**

The compound **7a** derived from fluoroquinolone, which, by forming a complex with boron, increases the biological activity (Veyna-Hurtado *et al.*, 2023) was synthesized according to Hernández-López *et al.* method (Hernández-López *et al.*, 2019), with some modifications. In a reflux system was added 1.5 mL of acetonitrile, 69.4 μ L (0.5 mmol) of triethylamine (TEA), 100 mg (332.85 μ mol) of difluoroboryl 1-ethyl-6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate, and 43 mg (0.5 mmol) of piperazine at 80 °C for 10 h with constant stirring. After that, 1 mL of ethanol was added to the mixture of reaction, resulting in a light-yellow solid that was separated by vacuum filtration and washed with ethanol until a yellow solid was obtained, with 79 % reaction yield and a melting point (obtained by using a Fisher-Johns melting point apparatus) of 230-231 °C. The spectroscopy characterization of **7a**, was in accordance with to reported (Leyva & Hernández, 2010): ¹H NMR (Varian Mercury plus 400 MHz spectrometer using TMS as the internal control, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9.25 (s, 1H), 8.05 (d, $J_{\text{HF ortho}} = 13.48$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J_{\text{HF meta}} = 7.31$ Hz, 2H), 4.82 (c, $J_{\text{HH}} = 7.11$ Hz, 2H), 3.38 (m, 4H), 2.89 (m, 4H), 1.46 (t, $J_{\text{HH}} = 7.11$ Hz, 3H).

2.2. Molecular Docking

First, a molecular docking evaluation was carried out (Eberhardt *et al.*, 2021), in order to determine whether the molecule **7a** would have interactions with DNA gyrase (the usual target of fluoroquinolones). We selected and downloaded the crystallized protein from RSCB Protein Data Bank (PDB) with the ID 2xct, a 3.35 Å structure of *S. aureus* gyrase co-crystallized with ciprofloxacin.

The active sites of the protein were predicted in the Protein Plus server (<https://proteins.plus/#dogsite>). Structures adjacent to a single protein, such as the solvent, were removed with UCSF Chimera (1.16), except for the DNA double strand and the Mg²⁺ ion, which were retained. The same software allowed us to carry the energy minimization of the protein, whose computations were performed with the PDB2PQR parameter set. We used the AutoDock Tools software (1.5.7) to give the receptor the protonation state.

The structure of **7a** was drafted in BIOBIA Draw software (19.1.0) and later opened in Avogadro (1.2.0) to conduct geometrical optimization using UFF force field by using steepest descent algorithm with 4 steps by update. AutoDock Tools (1.5.7) allowed us to set the torsion tree of the ligand (molecule **7a**), and to design the grid center to be used in the receptor. AutoDock Vina (1.1.2) was used to carry out the docking of **7a** against the gyrase protein. The post-dock results were analyzed and visualized using Receptor–Ligand interactions on Discovery Studio Visualizer (21.1.0).

2.3. Kirby Bauer Evaluation

The Kirby-Bauer technique was performed to evaluate the sensibility of the strain to the compound (W. L. CLSI, 2018). An isolate of *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) susceptible to fluoroquinolones, obtained from respiratory tract infection (HGZ2201#ID), was used for this experiment. Clinical isolates were obtained from the strain collection of the Universidad Autónoma de Zacatecas, where it was kept frozen at -80°C until use. A 0.5 McFarland bacterial suspension of *S. aureus* (from the clinical isolate HGZ2201#ID) was inoculated on Mueller-Hinton agar plates (MH) (Bioxon, no. cat. 211667). Discs impregnated with the **7a** (with 0.1, 1, 5 or 10 µg) diluted in DMSO were placed over the MH medium. Ciprofloxacin 5 µg (Ciproxin®, Bayer) was used as a positive control, dimethyl sulfoxide (DMSO) [10% concentration in aqueous dilution] (Sigma-Aldrich, cat. no. 472301) as a vehicle control. The inoculated growth medium plates were incubated for 24 h at 37 °C in an aerobic environment. Digital photographs of the petri dishes were taken and analyzed with ImageJ (1.52) software with a reference metric scale, obtaining a pixel/mm ratio, using then the “polygon” functionality to select the inhibition halo and finally select the Analyze-Measure options that allowed us to obtain results in mm² of inhibition.

2.4. Minimum Inhibitory Concentration

The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined by macrodilutions, using serial dilutions of **7a** compound, between 32 µg/mL and 0.0625 µg/mL in Müller-Hinton nutrient broth (Bioxon, cat. no. 210300), and a standard inoculum of 5x10⁴ CFU/mL of *S. aureus* was added. The tubes were then incubated for 24 hours at 37 °C in aerobic medium, and bacterial growth was evidenced by opacity development. Tubes without visible turbidity were reseeded in MH medium to determine the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) defined as the plate/concentration on which no CFU grew after incubation for 24 hours at 37°C.

2.5. Acute pneumonia *in vivo* model

The murine acute pneumonia model consisted of sixteen male and female BALB/c albino mice between 10 and 12 weeks of age (age range in accordance with values reported in other models (Dietert *et al.*, 2017; Draxler *et al.*, 2019)), divided into 4 experimental groups with 4 mice per group, denominated as: control group without infection; *S. aureus* infection without treatment; *S. aureus* infection and administration of ciprofloxacin; *S. aureus* infection and administration of **7a**. All of them were housed in a pathogen-free environment with 12-hour light/dark periods and received sterile food and water *ad libitum*. The animals were handled in accordance with the NOM-062-ZOO-1999 “technical specifications for the production, care, and use of laboratory animals” and the evaluations were accepted by the Institutional Ethics Committee of the Autonomous University of Zacatecas with acceptance code SACS/UAZ/308/2020. Mice were anesthetized using 1.5 mL / 5 kg of sodium pentobarbital intraperitoneally (Cheminova, cat. no. 30375-B) and then inoculated with 50 µl of *S. aureus* bacterial suspension with 9x10⁷ CFU resuspended in distilled water through a 22-gauge cannula intratracheally, according to reported methods (Morton *et al.*, 2001).

Compound **7a** was administered intraperitoneally 24 hours after infection (route suitable for administration in small rodents) (Morton *et al.*, 2001) with a dosage of 80

mg/kg/day during 5 consecutive days, The same treatment scheme was performed for ciprofloxacin, consistent with other models (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2008; Thadepalli *et al.*, 1988). The mice body weight were measured daily (Yamashita *et al.*, 2019). The experimental animals were euthanized on the sixth day using a CO₂ chamber. The lungs were perfused with 10% formalin by intratracheal inoculation, preserving their morphology (Aeffner *et al.*, 2015), and then the right lung of each mouse was dissected. The lungs were embedded in paraffin and cut into 2 µm thick sections, Hematoxylin and Eosin (H & E) staining was subsequently performed. Microscopic histopathological analysis was performed on the sections at 40x on Olympus® inverted microscope (Dietert *et al.*, 2017; Draxler *et al.*, 2019; Yamashita *et al.*, 2019). Digital photographs of lung morphology were taken and then analyzed using ImageJ software (1.52), which allowed us to establish a metric scale by obtaining a pixel/mm ratio using the “polygon” functionality, selecting the pneumonic areas/foci, identified as those in which the alveolar spaces were reduced and cellular infiltration in the lung tissue was evident; then the Analyze-Measure options allowed us to obtain results in cm² to calculate the percentage of tissue area with pneumonia (Hraiech *et al.*, 2015; Mizgerd & Skerrett, 2008).

2.6. Statistical analysis

The normality of the data was evaluated by the Shapiro-Wilk test. The data presented normal distribution, and was analyzed with one-way ANOVA and Tukey's post-test, values of $p \leq 0.05$ were considered significant. Mean and standard deviation are used as descriptive statistics and in the categorical concentration experiments, mode was used. Graphs were performed in GraphPad Prism (8.0.2) software.

3. Results

As already established by the WHO, research and discovery into new antibiotic drugs must be a priority (OMS, 2018, 2019, 2021). In this work we evaluated the antimicrobial efficacy of **7a**, showing strong antimicrobial activity.

3.1. Compound **7a** interacts *in silico* with *S. aureus* DNA gyrase

The molecular docking of **7a** with DNA gyrase of the *S. aureus* bacteria was performed, and the best position found got the binding energy score of -10.1 kcal/mol. The interactions are represented in the **Figure 2a**, where we can observe electrostatic and some hydrophobic interactions with different amino acids or nucleotides, showing a probable inhibition of the enzyme. We can observe hydrogen bonding and van der Waals interactions between **7a** and adenine (DA1368), guanine (DG1353), phenylalanine (PHE970), aspartate (ASP21), glycine (GLY20 and GLY260) among others. In **Figure 2b**, we can observe that the amino acids in the interactions are presented close to the binding site of other fluoroquinolones, but they are not exactly the same. This is a therapeutic advantage, since the fact that the mechanism of action is different means that the use of this new class of antibiotics developed by our group could be used independently of the novel fluoroquinolones. We observed that molecule **7a** is oriented towards the upper part in the Gyr-A subunit of DNA gyrase and

interactions of the fluorine groups in the boron complex with histidine (HIS259) and arginine (ARG969).

Moreover, the same methodology was applied to the structure of ciprofloxacin, finding a score of -8.9 kcal/mol, highlighting electrostatic interactions such as van der Waals and hydrogen bonds, with proline (PRO504) and asparagine (Asn447) respectively, among other interactions. Interactions with thymine (DT1340), adenine (DA1375) and guanine (DG1339) near the target site are also present, as can be seen in **Figure 2c**. Likewise, the most stable position of interaction of ciprofloxacin is located in the GyrA subunit, which is consistent with the preferred site of interaction for this drug in bacterial inhibition, as depicted in **Figure 2d**.

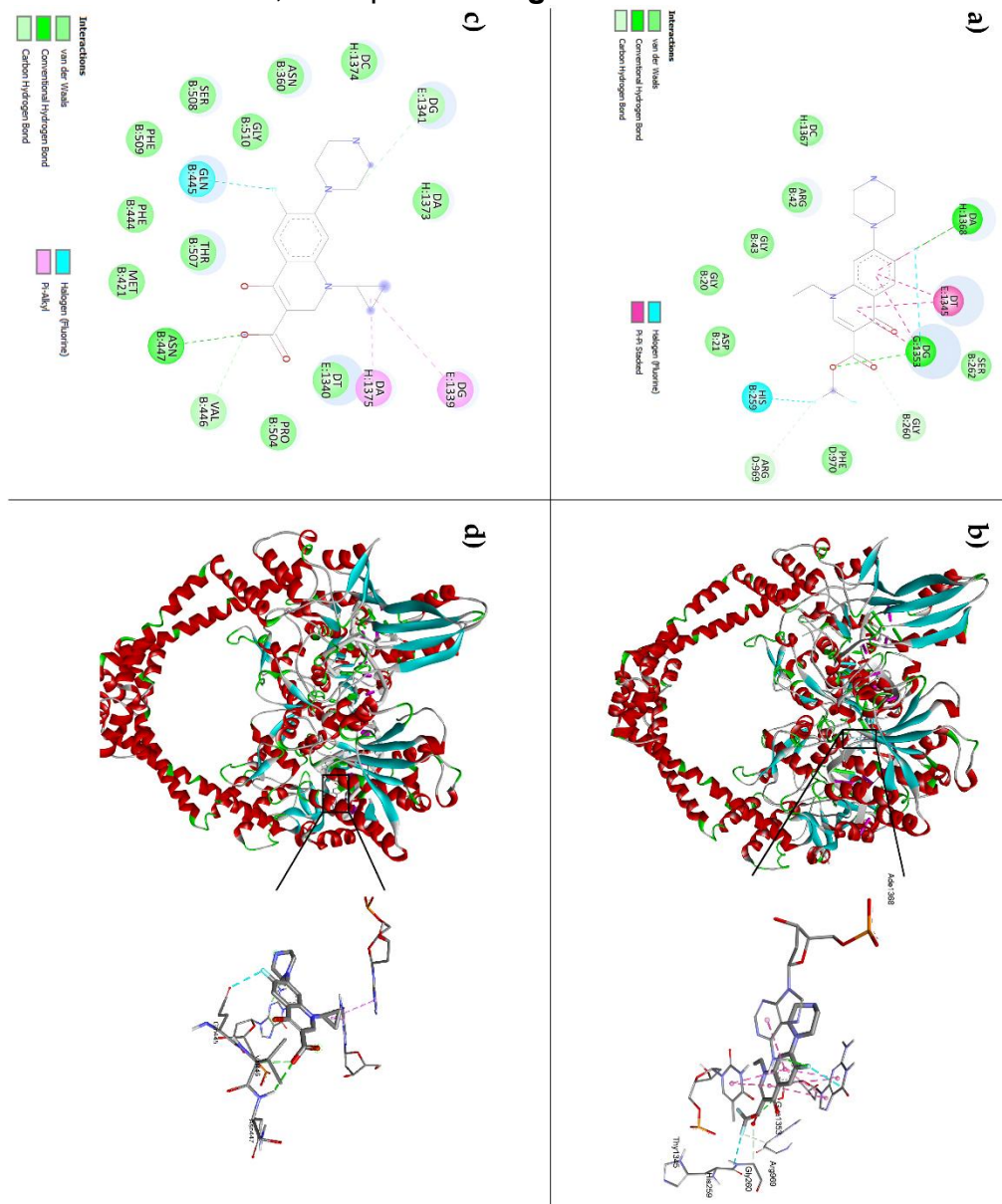


Figure 2. *In silico* analysis of structure **7a** docking with *S. aureus* gyrase using AutoDock Vina software. **a)** Interactions predicted for the molecule **7a** with the gyrase aminoacids, resulting in the score -10.1 kcal/mol. **b)** Structure of DNA gyrase (2xct) with the best orientation found for the **7a** molecule was marked with a black rectangle, emphasizing the relevant interactions. **c)** Interactions predicted for the Cpx with the gyrase, resulting in the score -8.9 kcal/mol. **d)** Structure of DNA gyrase (2xct) with the best orientation for the Cpx molecule.

3.2. Compound **7a** shows antimicrobial activity by Kirby Bauer assay

In order to provide experimental evidence of antimicrobial effects, **7a** was added to *S. aureus* HGZ2201#ID strain plated on solid agar. The areas of inhibition in *S. aureus* were measured using Image J software (1.52) and graphically represented in **Figure 3**. After the statistical analysis, equivalence was observed in the use of ciprofloxacin and **7a** (using the same concentration of 5 μg), having obtained $8.549 \pm 0.395 \text{ cm}^2$ of mean inhibition in *S. aureus*. This result evidenced the activity of the compound, equivalent to the activity of the control ciprofloxacin that generated a mean inhibition of $7.86 \pm 0.231 \text{ cm}^2$, so we proposed to continue the evaluations of this quinolonic derivative. The other concentrations of **7a** also evidenced antibacterial activity, obtaining mean areas of inhibition of 1.86 cm^2 with $0.1 \mu\text{g}$ ($p < 0.0001$, 95% CI: -0.16, 3.88); 4 cm^2 with $1 \mu\text{g}$ ($p < 0.0001$, 95% CI: 3.04, 4.97); 8.55 cm^2 with $5 \mu\text{g}$ (not significant, 95% CI: 7.57, 9.53); and 6.71 cm^2 with $10 \mu\text{g}$ (not significant, 95% CI: 3.77, 9.66).

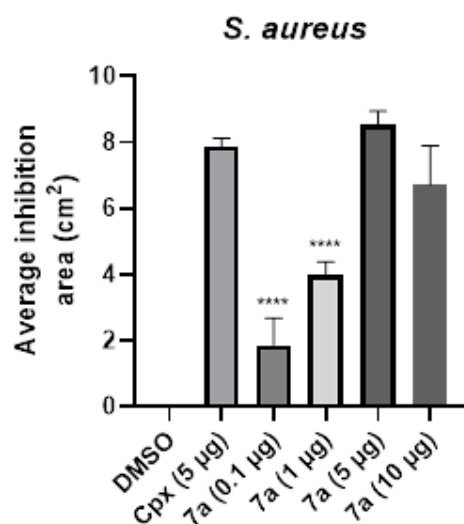


Figure 3. Average inhibition area of **7a** compound against *S. aureus*, Kirby-Bauer evaluation. The mean and standard deviation of the inhibition area of 3 triplicate experiments of compound **7a** in *S. aureus* culture was plotted. DMSO (vehicle) and $5 \mu\text{g}$ ciprofloxacin (Cpx) as antibacterial positive control were added. Statistical analysis one-way ANOVA and Tukey's post-test were performed, ns: not significant, **** $p < 0.0001$ significant differences respect to Cpx result.

3.3. **7a** antimicrobial activity by MIC and MBC shows non-inferiority to ciprofloxacin

Regarding the MIC determination, ciprofloxacin was used as a control, resulting in 0.25 µg/mL against the strain of *S. aureus*. Subsequently, in the reseeding of the suspensions, the MBC resulted in 0.5 µg/mL. Derivatized **7a** obtained the same MIC of 0.25 µg/mL, matching its MBC of 0.25 µg/mL, as shown in **Table 1**. Compound **7a** exhibits a MIC characteristic of a compound active against *S. aureus* (≤ 1 µg/mL), according to CLSI guidelines (CLSI, 2020).

Table 1. MIC and MBC results for **7a**

Bacterial strain	Compound	MIC	MBC
		(µg/mL)	(µg/mL)
<i>S. aureus</i>	Ciprofloxacin	0.25	0.5
	7a	0.25	0.25

3.4. **Acute pneumonia in vivo model**

Subsequently, the *in vivo* acute pneumonia model was set. The bacterial suspension administered to the mice contained 9×10^7 CFU of *S. aureus*, a close concentration to that reported by Esposito *et al.* (3×10^8 CFU) (Esposito & Pennington, 1983), and by Kim y Missiakas (de 2 - 4×10^8 CFU) (Kim *et al.*, 2014). The suspensions were optimal for our experimental development, as they allowed for the survival of biological reagents (Hraiech *et al.*, 2015). The suspension concentration in our model of pneumonia (higher than some reported concentrations), and the route of administration contributes to did not require an immunosuppressive treatment to generate infection in healthy mice. Other authors have used 100-250 mg of cyclophosphamide to establish a pneumonia model (Ku *et al.*, 2019; Sheppard *et al.*, 2006).

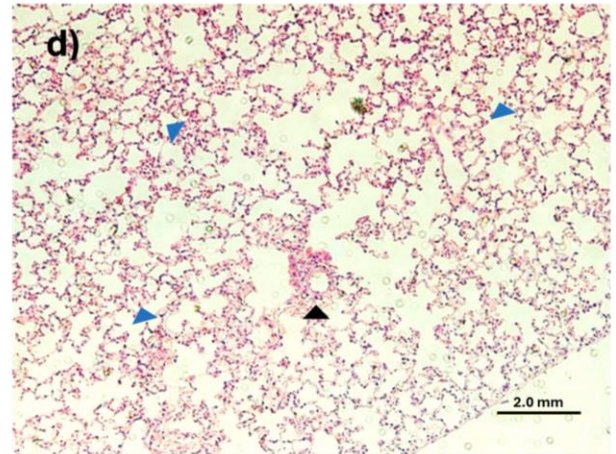
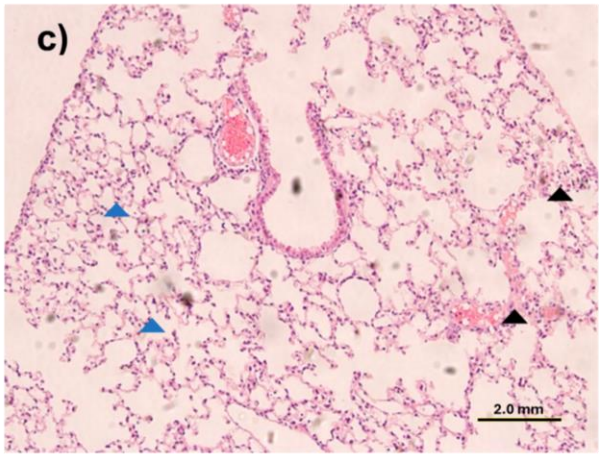
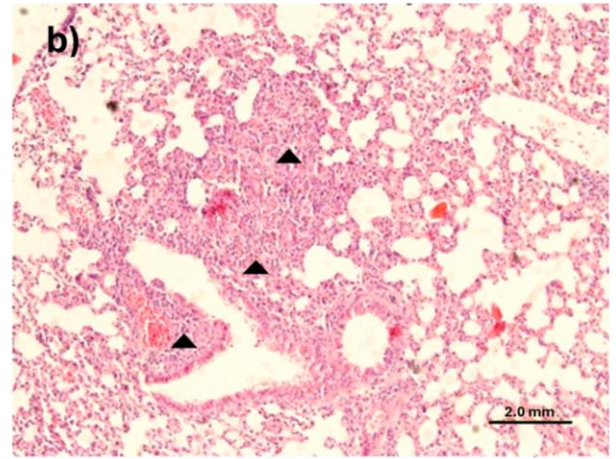
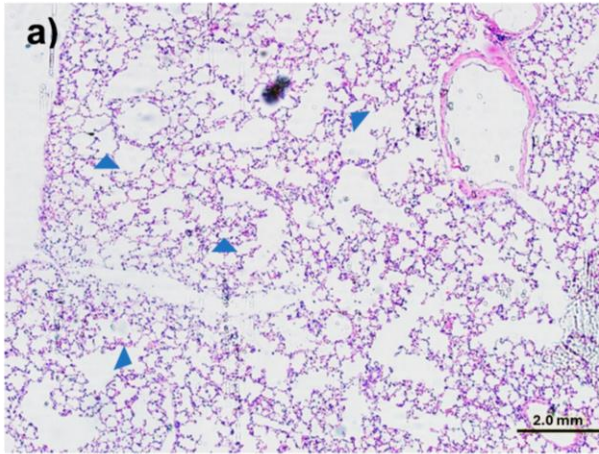
The *in vivo* model implemented was intended to be carried out without using other concomitant drugs such as cyclophosphamide, used to cause neutropenia in some pneumonia models, but that can diminish the classical signs of acute inflammation (Dudis *et al.*, 2023; Hraiech *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2020; Ku *et al.*, 2019). Therefore, we generated the infection only with the bacterial suspension, achieving a more homogeneous state among the experimental groups, as reported in the literature (Anand *et al.*, 2020; Dietert *et al.*, 2017; Wasbotten *et al.*, 2022).

No significant change was observed in the daily weight of the groups. The uninfected group recorded increases of 0.5 g on day 4, and 1.16 g by day 7 of the experiment. In the untreated *S. aureus* infected group, a decrease of 1.56 g on average was recorded for day 4, and an increase of 1.93 g on day 7, due to the immune response (Altamirano-Lagos *et al.*, 2019). Mice given ciprofloxacin tended to lose weight until the end of the experiment, without regaining it completely. This may be due to adverse reactions, such as nausea vomiting, diarrhea, abdominal pain, hemolytic anemia, among others (Blondeau, 1999; Martínez *et al.*, 2018; Zhanel *et al.*, 1999).

Contrary to that, mice infected and treated with **7a** showed weight patterns very similar to healthy mice, although no significant differences are observed in these measures between the groups.

The weight loss in mice models administered with ciprofloxacin was already reported by Zhu *et al* (Zhu *et al.*, 2020) and suggesting that this drug induced anorexia. The **7a** may achieve the weight maintenance due to bactericidal capacity upon the infection, and it is probably does not induce anorexia. Further evaluations are needed to detail the phenomenon of weight changes during the experimentation.

Once the lung tissues were obtained at the end of the *in vivo* evaluation, they were observed in its entirety and 8 digital image fields per mouse were taken and analyzed. The pneumonic percentage value in every lung were averaged per experimental group, with an n=4 mice per group. A representative image of lung tissue is presented in **Figure. 4. a. to 4. d.**, the blue arrowheads show the alveolar tissue without immune cell infiltration. **Figure. 4. a.** shows the healthy lung tissue of mice without infection, being the pneumonic areas significantly lower than the group with untreated *S. aureus*. These showed an average of 60.74 % pneumonic area (indicated by the black arrowheads) as shown in **Figure. 4. b.** (****p<0.0001, 95% CI: 57.10, 64.38). The significant decrease in the percentage of pneumonia in the mice infected with *S. aureus* and treated with ciprofloxacin (where 16.06% of pneumonic areas were obtained in **Figure. 4. c.** (****p<0.0001, 95% CI: 8.95, 23.17)), is reduced compared to the infected group without a treatment. In addition, the analysis of mice lung tissue, infected with *S. aureus* and treated with **7a**, we obtained an average of 5.84 % of pneumonic areas (****p<0.0001, 95% CI: 2.90, 8.77) (**Figure. 4. d.**), significantly less than the infected mice without treatment. A tendency to a lower pneumonia generation in the mice that received **7a**, with respect to those treated with ciprofloxacin can be seen in **Figure 4. e.**



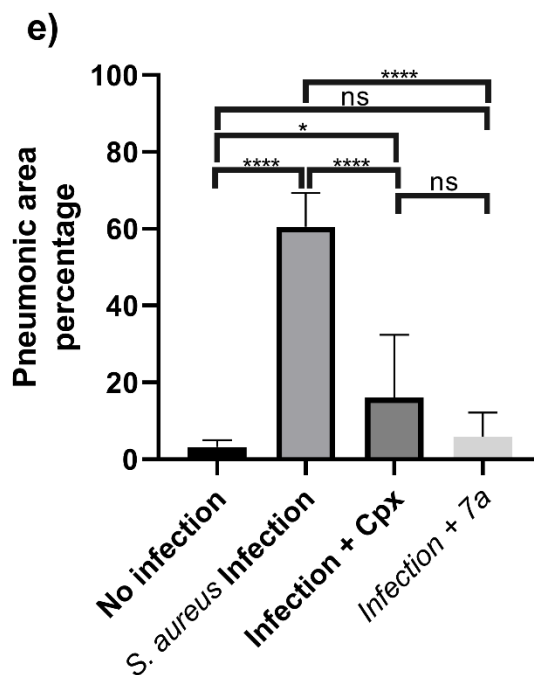


Figure 4. Pneumonic areas in histological lung sections after *S. aureus* infection. Representative images of H & E-stained lung tissue from Balb/c mice n=4 per experimental group. **a)** Control mice without infection; **b)** *S. aureus* infection without treatment; **c)** *S. aureus* infection with ciprofloxacin treatment; **d)** *S. aureus* infection with **7a** administration; **e)** Mean and standard deviation of the percentage of *S. aureus* area determined in experimental groups were plotted. Blue arrowheads point to healthy alveolar tissue, while black arrowheads point to areas of pneumonic injury. Statistical analysis of one-way ANOVA and Tukey post-test were performed, where significant differences are expressed as follows: ns= not significant, * $p < 0.05$, **** $p < 0.0001$.

The results in the described model evidenced the capability of reducing the percentage of pneumonia after administration of **7a** in these conditions, equivalent to that of ciprofloxacin.

4. Discussion

The obtained results in the *in-silico* evaluation suggest that **7a** would exhibit antimicrobial activity against *S. aureus* by inhibition of the A subunit of DNA gyrase, which is critical to enzymatic activity (Eberhardt *et al.*, 2021; Hirsch & Klostermeier, 2021; Norouzbahari *et al.*, 2020). As we can observe, the most stable binding site predicted for compound **7a** is not the same as the one expected for ciprofloxacin, allowing to expect activity even in strains showing resistance (Huynh *et al.*, 2023), this allows us to expect an inhibitory activity by molecule **7a**, which in turn would have advantages over the use of other traditional fluoroquinolones that present resistance due to mutations in their specific pharmacological target.

The exact mechanism of action of **7a** against *S. aureus* has not yet been fully elucidated, but docking evaluations show possible agreement with that reported in the literature for other fluoroquinolones, regarding QRDR binding differences (Uivarosi, 2013). The interaction of this compounds with bacterial gyrase leads to bacteriostasis, DNA double helix breaks, chromosomal fragmentation, formation of reactive oxygen species, and finally cell death (Maciuca *et al.*, 2020; Nedeljković *et al.*, 2021). However, further experimental evidence is still needed in other strains as well as mechanistic experiments.

Regarding *in vitro* evaluations, (according to CLSI guidelines), areas of inhibition in *S. aureus* >21 mm show a strong antimicrobial activity against a sensitive strain (CLSI, 2020). It is noteworthy that compound **7a** has both MIC and BMC found at the same concentration. This could be evidence of a slightly higher bactericidal activity by compound **7a** relative to that of Cpx. We observed a tendency of higher inhibition with 5 µg, than with 10 µg, probably due to the lower diffusion of the compound **7a** in the agar by having higher concentration in the disk (Taroco *et al.*, 2006). In evaluations performed against wild strains of *S. aureus* where the effect of norfloxacin was evaluated, MICs up to 49.87 µg/mL were obtained (S. Leyva-Ramos *et al.*, 2017), while **7a** has a lower MIC possibly due to an increase in its activity by the addition of the boron ion. Compounds like the nemonoxacin, have MICs reported as below 8 µg/mL (Yang *et al.*, 2020). Besides, the MBC of **7a** against *S. aureus* (0.25 µg/mL) was lower than that of ciprofloxacin (0.5 µg/mL); as well as the MBC of fluoroquinolone derivatives reported by Watanabe *et al.* MBC of 37.5 µg/mL against the same bacteria (Watanabe *et al.*, 2019). And these results are even similar to delafloxacin, a drug used in clinical practice and evaluated by Thabit *et al.* (Thabit *et al.*, 2016), who report an MIC for *S. aureus* of 0.25 µg/mL. Taken together, the data suggest a comparable or stronger activity of **7a** compared to some of the commercially available quinolones.

On the other hand, the antofloxacin, an antibiotic present in the new generation of quinolones was evaluated against *S. aureus* obtaining MICs of ≤0.25 µg/mL (Zhou *et al.*, 2020). This compound was also evaluated in a murine model of pneumonia, where it was reported that >10 mg/kg every 12 hours was required to obtain bactericidal results against *S. aureus*. In comparison, in our investigation 80 mg/kg of **7a** was administered, although only once per day. This indicates that **7a** could have a highly effective profile, without the need to administer repeated doses.

Other new generation antibiotics have been evaluated in these murine models of pneumonia. For delafloxacin, to achieve a bactericidal elimination of *K. pneumoniae* in 1-Log with respect to the initial bacterial load, an average of 235 mg/kg/day of delafloxacin was required (Zhao *et al.*, 2019). This indicates that **7a** could have a highly effective profile and antimicrobial potency having used a dosage of 80 mg/kg/day.

The addition of the boron complex was very useful for the quinolonic structure, evidenced by less pneumonic tissue generation, that may explain differences in the binding region outside of the QRDR and suggesting important differences in the mechanism of action of **7a**. This will merit further experimental and theoretical analysis due to retained antimicrobial activity even in strains that have developed resistance on QRDR related selection pressure and where other fluoroquinolones fail as antimicrobial since these also target the QRDR. Although no cytotoxicity data was generated for this

compound **7a**, the pharmacodynamics and other important pre-clinical data are now essential to move forward this new molecule beyond preclinical testing and into feasible human trials, given the similar or even improved efficacy compared to well-established and widely used antibiotics. This is also in light of the negative *in silico* assay score and decreased MBC, as has also been observed with other similar modifications at the same structural position. (Maciucă *et al.*, 2020; Nedeljković *et al.*, 2021; Saleh *et al.*, 2022).

The obtained results highlight the compound **7a** inhibition of the acute respiratory infection caused by *S. aureus* in mice, consequently, there are positive expectations concerning its possible future use in therapeutics.

5. Conclusions

The molecular docking results revealed the probable inhibition of bacterial DNA gyrase of *S. aureus*, which is consistent to the established mechanism of action for fluoroquinolones, even if the boron complex is added at sites usually unmodified in quinolones. Concerning the *in vitro* and *in vivo* results, we clearly observed that the boronated fluoroquinolone **7a** is a promising compound with a potent bactericidal effect on *S. aureus* strains. Furthermore, its effectiveness in decreasing the progression of *S. aureus*-induced acute pneumonia was demonstrated in the murine model of intratracheal infection, which allows us to broaden our knowledge of this subfamily of quinolones and to expand our research on this and similar compounds.

References

1. Stephens, L.J., et al., *Antimicrobial innovation: a current update and perspective on the antibiotic drug development pipeline*. Future Med Chem, 2020. **12**(22): p. 2035-2065.
2. OMS. *No podemos esperar: Asegurar el futuro contra las infecciones farmacorresistentes*. Informe para el Secretario General de las Naciones Unidas 2019 [cited 2020 23 May]; Available from: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/interagency-coordination-group/final-report/es/>.
3. Akram, F., M. Imtiaz, and I.u. Haq, *Emergent crisis of antibiotic resistance: A silent pandemic threat to 21st century*. Microbial Pathogenesis, 2023. **174**: p. 105923.
4. O'Neill, J., *The review on antimicrobial resistance chaired by Jim O'Neill*. Antimicrob Agric Environ unnecessary use waste, 2015.
5. Diego-Rodríguez, M., et al., *Infecciones respiratorias agudas y caracterización de bacterias potencialmente patógenas en comunidades de la Huasteca Potosina*. Revista Salud Pública y Nutrición, 2020. **18**(4): p. 1-8.
6. Hakansson, A.P., C.J. Orihuela, and D. Bogaert, *Bacterial-Host Interactions: Physiology and Pathophysiology of Respiratory Infection*. Physiological reviews, 2018. **98**(2): p. 781-811.
7. Muñoz, C.M.M., et al., *Descripción y análisis de infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años*. Polo del Conocimiento, 2021. **6**(9): p. 1108-1123.
8. Kumar, V., *Pulmonary Innate Immune Response Determines the Outcome of Inflammation During Pneumonia and Sepsis-Associated Acute Lung Injury*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 1722.

9. Ballarini, S., et al., *Can bacterial lysates be useful in prevention of viral respiratory infections in childhood? The results of experimental OM-85 studies*. *Front Pediatr*, 2022. **10**: p. 1051079.
10. Ondusko, D.S. and D. Nolt, *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics in review*, 2018. **39(6)**, **287-298**.
11. Pahal, P. and s. Sharma. *Typical Bacterial Pneumonia*. StatPearls [Internet] 2020 [cited 2020 25 Apr]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534295/>.
12. Aryee, A. and J.D. Edgeworth, *Carriage, Clinical Microbiology and Transmission of Staphylococcus aureus*. *Current topics in microbiology and immunology*, 2017. **409**: p. 1-19.
13. Niederman, M.S. and A. Torres, *Severe community-acquired pneumonia*. *Eur Respir Rev*, 2022. **31(166)**.
14. Collaborators, G.A.R., *Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019*. *Lancet*, 2022. **400(10369)**: p. 2221-2248.
15. Leyva-Ramos, S. and H. Hernández-López, *Fluoroquinolonas: perspectivas no antibacterianas*. *Revista Española de Quimioterapia*, 2017. **30(1)**: p. 1-8.
16. Carrillo-Alduenda, J., F. Flores-Murrieta, and A. Rodríguez-Alcocer, *Update on the prescription of fluoroquinolones*. *Medicina interna de México*, 2018. **34(1)**: p. 89-105.
17. Ocheretyaner, E.R. and T.E. Park, *Delafloxacin: a novel fluoroquinolone with activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Pseudomonas aeruginosa*. *Expert review of anti-infective therapy*, 2018. **16(7)**: p. 523-530.
18. Cho, J.C., et al., *What Is Old Is New Again: Delafloxacin, a Modern Fluoroquinolone*. *Pharmacotherapy*, 2018. **38(1)**: p. 108-121.
19. Leyva, S. and H. Hernández, *Synthesis of norfloxacin analogues catalyzed by Lewis and Brønsted acids: An alternative pathway*. *Journal of Fluorine Chemistry*, 2010. **131(10)**: p. 982-988.
20. Hernández-López, H., et al., *Synthesis of Hybrid Fluoroquinolone-Boron Complexes and Their Evaluation in Cervical Cancer Cell Lines*. *Journal of Chemistry*, 2019. **2019**: p. 5608652.
21. Pham, T.D.M., Z.M. Ziora, and M.A.T. Blaskovich, *Quinolone antibiotics*. *MedChemComm*, 2019. **10(10)**: p. 1719-1739.
22. Laws, M., et al., *N1-Benzofused Modification of Fluoroquinolones Reduces Activity Against Gram-Negative Bacteria*. *ACS Omega*, 2020. **5(21)**: p. 11923-11934.
23. Norouzbahari, M., et al., *Design, synthesis, molecular docking study, and antibacterial evaluation of some new fluoroquinolone analogues bearing a quinazolinone moiety*. *Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 2020. **28(2)**: p. 661-672.
24. Sayin, K. and D. Karakaş, *Determination of structural, spectral, electronic and biological properties of tosufloxacin boron complexes and investigation of substituent effect*. *Journal of molecular structure*, 2017. **1146**: p. 191-197.
25. Lin, L., et al., *Preparation, characterization and spectroscopic properties of difluoroboron complexes with some fluoroquinolones*. *Journal of Fluorine Chemistry*, 2016. **182**: p. 7-11.
26. Li, X., et al., *Synthesis and antibacterial evaluation of a novel tricyclic oxaborole-fused fluoroquinolone*. 2013. **23(4)**: p. 963-966.
27. Sayin, K. and D. Karakaş, *Investigation of structural, electronic properties and docking calculations of some boron complexes with norfloxacin: A computational research*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*

2018. **202**: p. 276-283.
28. Delgado, D.A., Rodrigo, *Synthetic approaches for BF₂-containing adducts of outstanding biological potential. A review.* Arabian Journal of Chemistry, 2022. **15**(1): p. 103528.
29. Khaliq, H.J., Zhong; and P. Ke-Mei, *The physiological role of boron on health.* Biological trace element research, 2018. **186**: p. 31-51.
30. Leśnikowski, Z.J., *What are the current challenges with the application of boron clusters to drug design?* Expert Opinion on Drug Discovery, 2021. **16**(5): p. 481-483.
31. Chatterjee, S., N.M. Tripathi, and A. Bandyopadhyay, *The modern role of boron as a 'magic element' in biomedical science: chemistry perspective.* Chemical Communications, 2021. **57**(100): p. 13629-13640.
32. Veyna-Hurtado, L.A., et al., *The difluoroboranyl-norfloroxacin complex "7a" induces an antimicrobial effect against K. pneumoniae strain in acute pneumonia murine model.* Medicine in Drug Discovery, 2023. **19**: p. 100160.
33. Eberhardt, J., et al., *AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings.* Journal of Chemical Information and Modeling, 2021. **61**(8): p. 3891-3898.
34. CLSI, W.L., *M02-A11: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard.* 2018, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), vol32 (1).
35. Dietert, K., et al., *Spectrum of pathogen- and model-specific histopathologies in mouse models of acute pneumonia.* PLoS One, 2017. **12**(11): p. e0188251.
36. Draxler, D.F., et al., *Tranexamic Acid Influences the Immune Response, but not Bacterial Clearance in a Model of Post-Traumatic Brain Injury Pneumonia.* J Neurotrauma, 2019. **36**(23): p. 3297-3308.
37. Morton, D.B., et al., *Refining procedures for the administration of substances.* Laboratory Animals, 2001. **35**(1): p. 1-41.
38. Rodríguez-Martínez, J.M., et al., *Activity of ciprofloxacin and levofloxacin in experimental pneumonia caused by Klebsiella pneumoniae deficient in porins, expressing active efflux and producing QnrA1.* Clinical Microbiology and Infection, 2008. **14**(7): p. 691-697.
39. Thadepalli, H., et al., *Ciprofloxacin: in vitro, experimental, and clinical evaluation.* Rev Infect Dis, 1988. **10**(3): p. 505-15.
40. Yamashita, Y., et al., *Efficacy of Azithromycin in a Mouse Pneumonia Model against Hospital-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2019. **63**(9): p. e00149-19.
41. Aeffner, F., B. Bolon, and I.C. Davis, *Mouse Models of Acute Respiratory Distress Syndrome: A Review of Analytical Approaches, Pathologic Features, and Common Measurements.* Toxicologic Pathology, 2015. **43**(8): p. 1074-1092.
42. Mizgerd, J.P. and S.J. Skerrett, *Animal models of human pneumonia.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008. **294**(3): p. L387-98.
43. Hraiech, S., et al., *Animal models of polymicrobial pneumonia.* Drug Des Devel Ther, 2015. **9**: p. 3279.
44. OMS. *Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo.* Comunicado de prensa 2018 [cited 2020 23 May]; Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>.
45. OMS. *La escasez mundial de antibióticos innovadores favorece la aparición y propagación de la farmacoresistencia.* Comunicados de prensa 2021 [cited 2021 05 Nov]; Available from: <https://www.who.int/es/news/item/15-04-2021-global-shortage-of-innovative-antibiotics-fuels-emergence-and-spread-of-drug-resistance>.

46. CLSI, *CLSI M100-ED30:2020 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition*. 2020.
47. Esposito, A.L. and J.E. Pennington, *Effects of aging on antibacterial mechanisms in experimental pneumonia*. *Am Rev Respir Dis*, 1983. **128**(4): p. 662-7.
48. Kim, H.K., D. Missiakas, and O. Schneewind, *Mouse models for infectious diseases caused by Staphylococcus aureus*. *Journal of Immunological Methods*, 2014. **410**: p. 88-99.
49. Sheppard, D.C., et al., *Comparison of three methodologies for the determination of pulmonary fungal burden in experimental murine aspergillosis*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2006. **12**(4): p. 376-380.
50. Ku, N.S., et al., *In vivo efficacy of combination of colistin with fosfomycin or minocycline in a mouse model of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii pneumonia*. *Sci Rep*, 2019. **9**(1): p. 17127.
51. Hu, X., et al., *Imaging of bioluminescent Klebsiella pneumoniae induced pulmonary infection in an immunosuppressed mouse model*. *J Int Med Res*, 2020. **48**(10): p. 300060520956473.
52. Dudis, R.S., et al., *Longitudinal temperature measurement can determine humane endpoints in BALB/c mouse models of ESKAPEE infection*. *Virulence*, 2023. **14**(1): p. 2186331.
53. Anand, T., et al., *Phage therapy for treatment of virulent Klebsiella pneumoniae infection in a mouse model*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2020. **21**: p. 34-41.
54. Wasbotten, R.K., et al., *Murine Respiratory Tract Infection with Classical Klebsiella pneumoniae Induces Bronchus-Associated Lymphoid Tissue*. *Infect Immun*, 2022. **90**(4): p. e0059621.
55. Altamirano-Lagos, M.J., et al., *Current Animal Models for Understanding the Pathology Caused by the Respiratory Syncytial Virus*. *Front Microbiol*, 2019. **10**(873).
56. Martínez, A.H., et al., *Anemia hemolítica asociada a fármacos antimicrobianos*. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 2019. **38**(3): p. 81-85.
57. Blondeau, J.M., *Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review*. *Clin Ther*, 1999. **21**(1): p. 3-40; discussion 1-2.
58. Zhanel, G.G., et al., *The new fluoroquinolones: A critical review*. *Can J Infect Dis*, 1999. **10**(3): p. 207-38.
59. Zhu, S., et al., *Assessment of oral ciprofloxacin impaired gut barrier integrity on gut bacteria in mice*. *Int Immunopharmacol*, 2020. **83**: p. 106460.
60. Hirsch, J. and D. Klostermeier, *What makes a type IIA topoisomerase a gyrase or a Topo IV?* *Nucleic Acids Res*, 2021. **49**(11): p. 6027-6042.
61. Huynh, T.Q., et al., *Genomic alterations involved in fluoroquinolone resistance development in Staphylococcus aureus*. *PLOS ONE*, 2023. **18**(7): p. e0287973.
62. Uivarosi, V., *Metal Complexes of Quinolone Antibiotics and Their Applications: An Update*. *Molecules*, 2013. **18**(9): p. 11;18(9):11153-97.
63. Maciuca, A.M., et al., *Rare-Earth Metal Complexes of the Antibacterial Drug Oxolinic Acid: Synthesis, Characterization, DNA/Protein Binding and Cytotoxicity Studies*. *Molecules*, 2020. **25**(22).
64. Nedeljković, N.V., et al., *Interaction of bioessential metal ions with quinolone antibiotics: structural features and biological evaluation*. *J Inorganica Chimica Acta*, 2021: p. 120585.

65. Taroco, R., V. Seija, and R. Vignoli, *Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica*. Temas de Bacteriología y Virología Médica, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay, 2006. **36**(1): p. 665-668.
66. Leyva-Ramos, S., D. de Loera, and J. Cardoso-Ortiz, *In vitro Antibacterial Activity of 7-Substituted-6-Fluoroquinolone and 7-Substituted-6,8-Difluoroquinolone Derivatives*. Chemotherapy, 2017. **62**(3): p. 194-198.
67. Yang, J.J., et al., *Selected Mutations by Nemonoxacin and Fluoroquinolone Exposure Among Relevant Gram-Positive Bacterial Strains in Taiwan*. Microb Drug Resist, 2020. **26**(2): p. 110-117.
68. Watanabe, T., et al., *Systematic Analysis of Selective Bactericidal Activity of Fatty Acids against Staphylococcus aureus with Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration*. J Oleo Sci, 2019. **68**(3): p. 291-296.
69. Thabit, A.K., J.L. Crandon, and D.P. Nicolau, *Pharmacodynamic and pharmacokinetic profiling of delafloxacin in a murine lung model against community-acquired respiratory tract pathogens*. Int J Antimicrob Agents, 2016. **48**(5): p. 535-541.
70. Zhou, Y.F., et al., *In Vivo Pharmacodynamic Target Assessment of Antofloxacin against Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus in a Neutropenic Murine Pneumonia Model*. Antimicrob Agents Chemother, 2020. **64**(12).
71. Zhao, M., et al., *In Vivo Pharmacodynamic Target Determination for Delafloxacin against Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa in the Neutropenic Murine Pneumonia Model*. Antimicrob Agents Chemother, 2019. **63**(10).
72. Saleh, N.M., et al., *Experimental and Molecular Docking Studies of Cyclic Diphenyl Phosphonates as DNA Gyrase Inhibitors for Fluoroquinolone-Resistant Pathogens*. Antibiotics (Basel, Switzerland), 2022. **11**(1): p. 53.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

8.2 The difluoroboranil-norfloxacin derivative “7a” inhibits bacterial DNA gyrase and exhibits potent activity against ciprofloxacin-resistant *S. aureus* *in vitro* and *in vivo* using an acute pneumonia model

Luis Angel Veyna-Hurtado ¹, Hiram Hernández-López ², Denisse de Loera ³, Juan Manuel Vargas-Morales⁴, Martín Muñoz-Ortega⁵ and Alberto Rafael Cervantes-Villagrana ^{6*}

¹ Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; México, angelveyna@gmail.com

² Laboratorio de Investigación en Síntesis Orgánica y Modificación Química, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, México

³ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; México

⁴ Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; México

⁵ Laboratorio de Patología Molecular, Departamento de Química, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México.

⁶ Laboratorio de Investigación en Terapéutica Experimental, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

* Correspondence: dr.albertocervantes@uaz.edu.mx ; Tel.: +52 492 103 9593

Abstract: According to the World Health Organization, antibiotic research remains insufficient, emphasizing the urgent need for new active molecules, particularly against resistant bacteria. Based on known antibacterial scaffolds, new fluoroquinolone derivatives have been synthesized by our research group, including compound **7a**, a difluoroboranyl-fluoroquinolone that previously demonstrated activity against sensitive strains. **Methods:** The minimum inhibitory (MIC) and bactericidal (MBC) concentrations of compound **7a** were determined against *S. aureus*, *K. pneumoniae*, and *E. coli*. Ciprofloxacin resistance was induced in *S. aureus* using sub-inhibitory concentrations. Pharmacokinetic and toxicological properties were predicted using SwissADME, Way2Drug, and molecular docking (AutoDock Vina). *In vivo* toxicity was evaluated in BALB/c mice through histopathological liver and kidney analysis and serum biochemical markers. The antibacterial efficacy of **7a** (80 mg/kg/day) was assessed in a murine pneumonia model induced by ciprofloxacin-resistant *S. aureus*. DNA gyrase inhibition was confirmed through plasmid electrophoresis assays in *E. coli* DH5- α cells.

9) Conclusiones

Las estudios realizados permitieron corroborar la hipótesis planteada, así como el cumplimiento de los objetivos establecidos al inicio de la investigación.

Fue posible inducir la resistencia bacteriana al ciprofloxacino en un aislado de *S. aureus*, la cual fue utilizada para las evaluaciones del compuesto FQB-9, y poder comparar los resultados respecto a la quinolona control.

El FQB-9 mostró interacciones relevantes a la girasa de *S. aureus* mediante la evaluación *in silico*, inclusive con una mayor afinidad respecto al ciprofloxacino; estos resultados fueron posteriormente corroborados con el ensayo electroforético, donde se pudo comprobar que FQB-9 es capaz de inhibir la ADN girasa bacteriana.

Respecto a las evaluaciones *in vitro*, el FQB-9 presentó inhibición en las cepas resistentes a ciprofloxacino, siendo además capaz de presentar efectividad en un modelo *in vivo* de neumonía, evidenciando así la capacidad del compuesto para actuar en un proceso patológico en tales niveles sistémicos ante bacterias de alto interés clínico.

Las evaluaciones realizadas para determinar la posible toxicidad del compuesto FQB-9 mostraron resultados favorables. Tanto las simulaciones *in silico* como el modelo *in vivo* de toxicidad aguda evidenciaron efectos poco significativos, lo que permite considerar a FQB-9 como una molécula segura en su administración.

En conjunto, los resultados obtenidos posicionan a FQB-9 como un compuesto prometedor para el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a otros antibióticos. Además, su estudio contribuye a ampliar el conocimiento sobre nuevas estructuras de interés en la investigación antibacteriana.

10) Perspectivas

Los resultados obtenidos en las distintas experimentaciones aquí desarrolladas para el compuesto FQB-9 permiten ampliar las líneas de investigación que consoliden su potencial antibiótico, así como utilizar compuestos con similares modificaciones estructurales en evaluaciones farmacológicas.

Respecto al FQB-9, la evaluación de la cinética de inhibición de girasa bacteriana, y la consecuente determinación del impacto sobre los procesos de replicación del ADN contribuirán en establecer su perfil farmacodinámico.

Adicionalmente, puede evaluarse el efecto del FQB-9 sobre otras cepas bacterianas multirresistentes de importancia clínica, como *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* o *Acinetobacter baumannii*, además de la posibilidad de evaluar la efectividad sobre especies de micobacterias. De igual forma, podría analizarse el desarrollo de resistencia inducida por FQB-9 en comparación con la generada por el ciprofloxacino.

Respecto a la farmacocinética, pueden plantearse modelos animales que definan la absorción, distribución metabolismo y excreción, además de poderse evaluar la toxicidad crónica en conjunto con estudios de genotoxicidad y cardiotoxicidad, lo que permitirá establecer su seguridad a largo plazo.

Finalmente, la evaluación en otros modelos animales de distintas infecciones, así como la generación de formulaciones y métodos de distribución de fármacos, como nanopartículas o sistemas de liberación prolongada, podrían potenciar la eficiencia farmacológica.

11) Referencias

- Aeffner, F., Bolon, B., & Davis, I. C. (2015). Mouse Models of Acute Respiratory Distress Syndrome: A Review of Analytical Approaches, Pathologic Features, and Common Measurements. *Toxicologic Pathology*, 43(8), 1074-1092. <https://doi.org/10.1177/0192623315598399>
- Agyeman, W. Y., Bisht, A., Gopinath, A., Cheema, A. H., Chaludiya, K., Khalid, M., . . . Khan, S. (2022). A Systematic Review of Antibiotic Resistance Trends and Treatment Options for Hospital-Acquired Multidrug-Resistant Infections. *Cureus*, 14(10), e29956. <https://doi.org/10.7759/cureus.29956>
- Akram, F., Imtiaz, M., & Haq, I. u. (2023). Emergent crisis of antibiotic resistance: A silent pandemic threat to 21st century. *Microbial Pathogenesis*, 174, 105923. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105923>
- Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 53(10), 1565-1574. <https://doi.org/10.1021/bi5000564>
- Aleixandre, V., Herrera, G., Urios, A., & Blanco, M. (1991). Effects of ciprofloxacin on plasmid DNA supercoiling of Escherichia coli topoisomerase I and gyrase mutants. *Antimicrob Agents Chemother*, 35(1), 20-23. <https://doi.org/10.1128/aac.35.1.20>
- Aleixandre, V., Herrera, G., Urios, A., Blanco, M. J. A. a., & chemotherapy. (1991). Effects of ciprofloxacin on plasmid DNA supercoiling of Escherichia coli topoisomerase I and gyrase mutants. 35(1), 20-23. <https://doi.org/10.1128/aac.35.1.20>
- Altamirano-Lagos, M. J., Díaz, F. E., Mansilla, M. A., Rivera-Pérez, D., Soto, D., McGill, J. L., . . . Kalergis, A. M. (2019). Current Animal Models for Understanding the Pathology Caused by the Respiratory Syncytial Virus. *Front Microbiol*, 10(873). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00873>
- Anand, T., Virmani, N., Kumar, S., Mohanty, A. K., Pavulraj, S., Bera, B. C., . . . Tripathi, B. N. (2020). Phage therapy for treatment of virulent Klebsiella pneumoniae infection in a mouse model. *J Glob Antimicrob Resist*, 21, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.09.018>
- Arrazuria, R., Kerscher, B., Huber, K. E., Hoover, J. L., Lundberg, C. V., Hansen, J. U., . . . Bekerredjian-Ding, I. (2022). Variability of murine bacterial pneumonia models used to evaluate antimicrobial agents. *Volume 13 - 2022*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.988728>
- Aryee, A., & Edgeworth, J. D. (2017). Carriage, Clinical Microbiology and Transmission of Staphylococcus aureus. *Current topics in microbiology and immunology*, 409, 1-19. https://doi.org/10.1007/82_2016_5
- Ashfield, T., Cooray, M., Jimenez-Acha, I., Riaz, Z., Gifford, D. R., & Lagator, M. (2025). Reflecting on Fleming's caveat: the impact of stakeholder decision-making on antimicrobial resistance evolution. *Microbiology (Reading)*, 171(2). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001534>
- Ballarini, S., Arduoso, L., Ortega Martell, J. A., Sacco, O., Feleszko, W., & Rossi, G. A. (2022). Can bacterial lysates be useful in prevention of viral respiratory infections in childhood? The results of experimental OM-85 studies. *Front Pediatr*, 10, 1051079. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.1051079>
- Belachew, S. A., Hall, L., Erku, D. A., & Selvey, L. A. (2021). No prescription? No problem: drivers of non-prescribed sale of antibiotics among community drug retail outlets in low and middle income countries: a systematic review of qualitative studies. *BMC Public Health*, 21(1), 1056. <https://doi.org/10.1186/s12889-021-11163-3>
- Birnboim, H. C., & Doly, J. (1979). A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res*, 7(6), 1513-1523. <https://doi.org/10.1093/nar/7.6.1513>

- Blondeau, J. M. (1999). Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. *Clin Ther*, 21(1), 3-40; discussion 41-42. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(00\)88266-1](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(00)88266-1)
- Blower, T. R., Williamson, B. H., Kerns, R. J., & Berger, J. M. (2016). Crystal structure and stability of gyrase; fluoroquinolone cleaved complexes from *Mycobacterium tuberculosis*. 113(7), 1706-1713. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.1525047113>
- Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., & Maxwell, A. (2020). Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. 25(23), 5662. <https://doi.org/10.3390/molecules25235662>
- Cancino, K., Castro, I., Yauri, C., Jullian, V., Arévalo, J., Sauvain, M., . . . Castillo, D. (2021). Evaluación de la toxicidad de chalconas sintéticas con potencial anti-*Leishmania* en ratones BALB/c. *J Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 38, 424-433. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.383.6937>
- Carrillo-Alduenda, J., Flores-Murrieta, F., & Rodríguez-Alcocer, A. (2018). Update on the prescription of fluoroquinolones. *Medicina interna de México*, 34(1), 89-105. <https://doi.org/10.24245/mim.v34i1.1429>
- Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., . . . Hopkins, S. (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(1), 56-66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)
- Cayuela, N., Koike, M., Jacysyn, J., Rasslan, R., Cerqueira, A., Costa, S., . . . Montero, E. (2020). N-Acetylcysteine Reduced Ischemia and Reperfusion Damage Associated with Steatohepatitis in Mice. *Int J Mol Sci*, 21, 4106. <https://doi.org/10.3390/ijms21114106>
- Chatterjee, S., Tripathi, N. M., & Bandyopadhyay, A. (2021). The modern role of boron as a ‘magic element’ in biomedical science: chemistry perspective. *Chemical Communications*, 57(100), 13629-13640. <https://doi.org/10.1039/D1CC05481C>
- Cho, J. C., Crotty, M. P., White, B. P., & Worley, M. V. (2018). What Is Old Is New Again: Delafloxacin, a Modern Fluoroquinolone. *Pharmacotherapy*, 38(1), 108-121. <https://doi.org/10.1002/phar.2050>
- CLSI. (2020). CLSI M100-ED30:2020 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition. In.
- CLSI, W. L. (2018). M02-A11: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard. In: CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), vol32 (1).
- Collaborators, G. A. R. (2022). Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*, 400(10369), 2221-2248. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(22\)02185-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)02185-7)
- Cormier, R., Burda, W. N., Harrington, L., Edlinger, J., Kodigepalli, K. M., Thomas, J., . . . Shaw, L. N. (2012). Studies on the antimicrobial properties of N-acylated ciprofloxacin. *Bioorg Med Chem Lett*, 22(20), 6513-6520. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.05.026>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of n-Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(12), 3284-3301. <https://doi.org/10.1021/ci500467k>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*, 7(1), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>

- Daina, A., & Zoete, V. (2016). A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *11*(11), 1117-1121. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>
- Delgado, D. A., Rodrigo. (2022). Synthetic approaches for BF₂-containing adducts of outstanding biological potential. A review. *Arabian Journal of Chemistry*, *15*(1), 103528. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103528>
- Diego-Rodríguez, M., Domínguez-Cortinas, G., Cubillas-Tejeda, A. C., & Galindo Mendoza, M. G. (2020). Infecciones respiratorias agudas y caracterización de bacterias potencialmente patógenas en comunidades de la Huasteca Potosina. *Revista Salud Pública y Nutrición*, *18*(4), 1-8. <https://doi.org/10.29105/respyn18.4-1>
- Dietert, K., Gutbier, B., Wienhold, S. M., Reppe, K., Jiang, X., Yao, L., . . . Gruber, A. D. (2017). Spectrum of pathogen- and model-specific histopathologies in mouse models of acute pneumonia. *PLoS one*, *12*(11), e0188251. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188251>
- Dine, I., Mulugeta, E., Melaku, Y., & Belete, M. (2023). Recent advances in the synthesis of pharmaceutically active 4-quinolone and its analogues: a review. *RSC advances*, *13*(13), 8657-8682. <https://doi.org/10.1039/j.bioorg.2019.103291>
- Draxler, D. F., Awad, M. M., Hanafi, G., Daglas, M., Ho, H., Keragala, C., . . . Medcalf, R. L. (2019). Tranexamic Acid Influences the Immune Response, but not Bacterial Clearance in a Model of Post-Traumatic Brain Injury Pneumonia. *J Neurotrauma*, *36*(23), 3297-3308. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.6030>
- Dudis, R. S., Wong, T. Y., Escatte, M. G., Alamneh, Y. A., Abu-Taleb, R., Su, W., . . . Zurawski, D. V. (2023). Longitudinal temperature measurement can determine humane endpoints in BALB/c mouse models of ESKAPEE infection. *Virulence*, *14*(1), 2186331. <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2186331>
- Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. F., & Forli, S. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *61*(8), 3891-3898. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>
- Elnagar, M. A., Ibrahim, M. F., Albert, M., M, M. T., Abdelfattah, M. M., El-Dabaa, E., & Helwa, R. (2022). Homemade plasmid Miniprep solutions for affordable research in low-fund laboratories. *AMB Express*, *12*(1), 137. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01483-x>
- Esposito, A. L., & Pennington, J. E. (1983). Effects of aging on antibacterial mechanisms in experimental pneumonia. *Am Rev Respir Dis*, *128*(4), 662-667. <https://doi.org/10.1164/arrd.1983.128.4.662>
- Geremia, N., Giovagnorio, F., Colpani, A., De Vito, A., Botan, A., Stroffolini, G., . . . Di Bella, S. (2024). Fluoroquinolones and Biofilm: A Narrative Review. *17*(12), 1673. <https://doi.org/10.3390/ph17121673>
- Hakansson, A. P., Orihuela, C. J., & Bogaert, D. (2018). Bacterial-Host Interactions: Physiology and Pathophysiology of Respiratory Infection. *Physiological reviews*, *98*(2), 781-811. <https://doi.org/10.1152/physrev.00040.2016>
- Han, J., Wang, Y., Sahin, O., Shen, Z., Guo, B., Shen, J., & Zhang, Q. (2012). A Fluoroquinolone Resistance Associated Mutation in gyrA Affects DNA Supercoiling in *Campylobacter jejuni*. *Volume 2 - 2012*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00021>
- Hansson, K., & Brenthel, A. (2022). Imagining a post-antibiotic era: a cultural analysis of crisis and antibiotic resistance. *Med Humanit*, *48*(3), 381-388. <https://doi.org/10.1136/medhum-2022-012409>
- Hartley, M. G., Norville, I. H., Richards, M. I., Barnes, K. B., Bewley, K. R., Vipond, J., . . . Harding, S. V. (2021). Finafloxacin, a Novel Fluoroquinolone, Reduces the Clinical Signs of Infection and

- Pathology in a Mouse Model of Q Fever. *Volume 12 - 2021*.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.760698>
- Hernández-López, H., Sánchez-Miranda, G., Araujo-Huitraco, J. G., Granados-López, A. J., López, J. A., Leyva-Ramos, S., & Chacón-García, L. (2019). Synthesis of Hybrid Fluoroquinolone-Boron Complexes and Their Evaluation in Cervical Cancer Cell Lines. *Journal of Chemistry*, 2019, 5608652. <https://doi.org/10.1155/2019/5608652>
- Hirsch, J., & Klostermeier, D. (2021). What makes a type IIA topoisomerase a gyrase or a Topo IV? *Nucleic Acids Res*, 49(11), 6027-6042. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab270>
- Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2016). Topoisomerase Inhibitors: Fluoroquinolone Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(9), 1-21. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025320>
- Hraiech, S., Papazian, L., Rolain, J.-M., & Bregeon, F. (2015). Animal models of polymicrobial pneumonia. *Drug Des Devel Ther*, 9, 3279. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S70993>
- Hu, X., Cai, Y., Wang, Y., Wang, R., Wang, J., & Zhang, B. (2020). Imaging of bioluminescent *Klebsiella pneumoniae* induced pulmonary infection in an immunosuppressed mouse model. *J Int Med Res*, 48(10), 300060520956473. <https://doi.org/10.1177/0300060520956473>
- Huynh, T. Q., Tran, V. N., Thai, V. C., Nguyen, H. A., Nguyen, N. T. G., Tran, M. K., . . . Nguyen, T. T. H. (2023). Genomic alterations involved in fluoroquinolone resistance development in *Staphylococcus aureus*. *PloS one*, 18(7), e0287973. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287973>
- Jaeschke, H., McGill, M. R., & Ramachandran, A. (2012). Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab Rev*, 44(1), 88-106. <https://doi.org/10.3109/03602532.2011.602688>
- Jakobsen, L., Lundberg, C. V., & Frimodt-Møller, N. (2020). Ciprofloxacin Pharmacokinetics/Pharmacodynamics against Susceptible and Low-Level Resistant *Escherichia coli* Isolates in an Experimental Ascending Urinary Tract Infection Model in Mice. *Antimicrob Agents Chemother*, 65(1). <https://doi.org/10.1128/aac.01804-20>
- Jung, S. C., Smith, C. L., Lee, K. S., Hong, M. E., Kweon, D. H., Stephanopoulos, G., & Jin, Y. S. (2010). Restoration of growth phenotypes of *Escherichia coli* DH5alpha in minimal media through reversal of a point mutation in *purB*. *Appl Environ Microbiol*, 76(18), 6307-6309. <https://doi.org/10.1128/aem.01210-10>
- Kawsar, S. M. A., Munia, N. S., Saha, S., & Ozeki, Y. (2024). In Silico Pharmacokinetics, Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulation Studies of Nucleoside Analogs for Drug Discovery- A Mini Review. *Mini Rev Med Chem*, 24(11), 1070-1088. <https://doi.org/10.2174/0113895575258033231024073521>
- Khaliq, H. J., Zhong, J., & Ke-Mei, P. (2018). The physiological role of boron on health. *Biological trace element research*, 186, 31-51. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1284-3>
- Khazaal, M. T., El-Hendawy, H. H., Mabrouk, M. I., Faraag, A. H. I., & Bakkar, M. R. (2022). Antibiotic resistance and siderophores production by clinical *Escherichia coli* strains. *BioTechnologia (Pozn)*, 103(2), 169-184. <https://doi.org/10.5114/bta.2022.116211>
- Kim, H. K., Missiakas, D., & Schneewind, O. (2014). Mouse models for infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Immunological Methods*, 410, 88-99. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2014.04.007>
- Ku, N. S., Lee, S. H., Lim, Y. S., Choi, H., Ahn, J. Y., Jeong, S. J., . . . Kim, J. M. (2019). In vivo efficacy of combination of colistin with fosfomycin or minocycline in a mouse model of multidrug-resistant

- Acinetobacter baumannii pneumonia. *Sci Rep*, 9(1), 17127. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53714-0>
- Kumar, V. (2020). Pulmonary Innate Immune Response Determines the Outcome of Inflammation During Pneumonia and Sepsis-Associated Acute Lung Injury. *Front Immunol*, 11, 1722. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01722>
- Lala, V., Zubair, M., & Minter, D. (2023, 2023 Jul 30). Liver function tests. *StatPearls [Internet]*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482489/>
- Lapointe, G., Skepper, C. K., Holder, L. M., Armstrong, D., Bellamacina, C., Blais, J., . . . Rivkin, A. (2021). Discovery and Optimization of DNA Gyrase and Topoisomerase IV Inhibitors with Potent Activity against Fluoroquinolone-Resistant Gram-Positive Bacteria. *J Med Chem*, 64(9), 6329-6357. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00375>
- Laponogov, I., Sohi, M. K., Veselkov, D. A., Pan, X. S., Sawhney, R., Thompson, A. W., . . . Sanderson, M. R. (2009). Structural insight into the quinolone-DNA cleavage complex of type IIA topoisomerases. *Nat Struct Mol Biol*, 16(6), 667-669. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1604>
- Laws, M., Hind, C., Favaron, A., Jamshidi, S., Evans, B., Clifford, M., . . . Rahman, K. M. (2020). N1-Benzofused Modification of Fluoroquinolones Reduces Activity Against Gram-Negative Bacteria. *ACS omega*, 5(21), 11923-11934. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03910>
- Leśnikowski, Z. J. (2021). What are the current challenges with the application of boron clusters to drug design? *Expert Opinion on Drug Discovery*, 16(5), 481-483. <https://doi.org/10.1080/17460441.2021.1867531>
- Leyva-Ramos, S., de Loera, D., & Cardoso-Ortiz, J. (2017). In vitro Antibacterial Activity of 7-Substituted-6-Fluoroquinolone and 7-Substituted-6,8-Difluoroquinolone Derivatives. *Chemotherapy*, 62(3), 194-198. <https://doi.org/10.1159/000456533>
- Leyva-Ramos, S., & Hernández-López, H. (2017). Fluoroquinolonas: perspectivas no antibacterianas. *Revista Española de Quimioterapia*, 30(1), 1-8.
- Leyva, S., & Hernández, H. (2010). Synthesis of norfloxacin analogues catalyzed by Lewis and Brønsted acids: An alternative pathway. *Journal of Fluorine Chemistry*, 131(10), 982-988. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2010.07.002>
- Li, X., Zhang, Y.-K., Plattner, J. J., Mao, W., Alley, M., Xia, Y., . . . letters, m. c. (2013). Synthesis and antibacterial evaluation of a novel tricyclic oxaborole-fused fluoroquinolone. 23(4), 963-966. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.12.045>
- Lin, L., Zhai, Y., Wang, D., Yin, G., Fan, L., & Hu, Y. (2016). Preparation, characterization and spectroscopic properties of difluoroboron complexes with some fluoroquinolones. *Journal of Fluorine Chemistry*, 182, 7-11. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2015.11.010>
- Lodise, T., Corey, R., Hooper, D., & Cammarata, S. (2018). *Safety of delafloxacin: focus on adverse events of special interest*. Paper presented at the Open forum infectious diseases.
- Lodise, T., Corey, R., Hooper, D., & Cammarata, S. (2018). Safety of Delafloxacin: Focus on Adverse Events of Special Interest. *Open forum infectious diseases*, 5(10), ofy220. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy220>
- Maciucă, A. M., Munteanu, A. C., Mihailă, M., Badea, M., Olar, R., Nitulescu, G. M., . . . Uivarosi, V. (2020). Rare-Earth Metal Complexes of the Antibacterial Drug Oxolinic Acid: Synthesis, Characterization, DNA/Protein Binding and Cytotoxicity Studies. *Molecules*, 25(22). <https://doi.org/10.3390/molecules25225418>
- Martin, Y. C. (2005). A bioavailability score. *J Med Chem*, 48(9), 3164-3170. <https://doi.org/10.1021/jm0492002>

- Martínez, A. H., Tabares, M. D. R., Almanza, L. H., & Sanchez, L. M. M. (2018). Anemia hemolítica asociada a fármacos antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 38(3), 81-85. Medigraphic.org
- Medellín-Luna, M. F., Hernández-López, H., Castañeda-Delgado, J. E., Martínez-Gutiérrez, F., Lara-Ramírez, E., Espinoza-Rodríguez, J. J., . . . Cervantes-Villagrana, A. R. (2023). Fluoroquinolone Analogs, SAR Analysis, and the Antimicrobial Evaluation of 7-Benzimidazol-1-yl-fluoroquinolone in In Vitro, In Silico, and In Vivo Models. 28(16), 6018. <https://doi.org/10.3390/molecules28166018>
- Mizgerd, J. P., & Skerrett, S. J. (2008). Animal models of human pneumonia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 294(3), L387-398. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00330.2007>
- Mohr, K. I. (2016). History of Antibiotics Research. *Curr Top Microbiol Immunol*, 398, 237-272. https://doi.org/10.1007/82_2016_499
- Morgan-Linnell, S. K., Hiasa, H., Zechiedrich, L., & Nitiss, J. L. (2007). Assessing sensitivity to antibacterial topoisomerase II inhibitors. *Curr Protoc Pharmacol*, Chapter 3, Unit3.13. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0313s39>
- Morton, D. B., Jennings, M., Buckwell, A., Ewbank, R., Godfrey, C., Holgate, B., . . . Wilson, A. B. (2001). Refining procedures for the administration of substances. *Lab Anim*, 35(1), 1-41. <https://doi.org/10.1258/0023677011911345>
- Mossanen, J. C., & Tacke, F. (2015). Acetaminophen-induced acute liver injury in mice. *Lab Anim*, 49(1 Suppl), 30-36. <https://doi.org/10.1177/0023677215570992>
- Muhammad-Azam, F., Nur-Fazila, S. H., Ain-Fatin, R., Mustapha Noordin, M., & Yimer, N. (2019). Histopathological changes of acetaminophen-induced liver injury and subsequent liver regeneration in BALB/C and ICR mice. *Vet World*, 12(11), 1682-1688. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1682-1688>
- Muñoz, C. M. M., Basurto, V. A. D., Anchundia, J. P. C., & Martinetti, G. G. H. (2021). Descripción y análisis de infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años. *Polo del Conocimiento*, 6(9), 1108-1123. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i9>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., . . . Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Nau, R., Sörgel, F., & Eiffert, H. (2010). Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. *Clin Microbiol Rev*, 23(4), 858-883. <https://doi.org/10.1128/cmr.00007-10>
- Nedeljković, N. V., Nikolić, M. V., Mijajlović, M. Ž., Radić, G. P., & Stanković, A. S. (2021). Interaction of bioessential metal ions with quinolone antibiotics: structural features and biological evaluation. *J Inorganica Chimica Acta*, 120585. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120585>
- Niederman, M. S., & Torres, A. (2022). Severe community-acquired pneumonia. *Eur Respir Rev*, 31(166). <https://doi.org/10.1183/16000617.0123-2022>
- Niu, Q., Su, X., Lian, L., Huang, J., Xue, S., Zhou, W., . . . Yang, B. (2022). Developing Qualitative Plasmid DNA Reference Materials to Detect Mechanisms of Quinolone and Fluoroquinolone Resistance in Foodborne Pathogens. *Foods*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/foods11020154>
- Norouzbahari, M., Salarinejad, S., Güran, M., Şanlıtürk, G., Emamgholipour, Z., Bijanzadeh, H. R., . . . Foroumadi, A. (2020). Design, synthesis, molecular docking study, and antibacterial evaluation of some new fluoroquinolone analogues bearing a quinazolinone moiety. *Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 28(2), 661-672. <https://doi.org/10.1007/s40199-020-00373-6>

- O'Neill, J. (2015). The review on antimicrobial resistance chaired by Jim O'Neill. *Antimicrob Agric Environ unnecessary use waste*.
- Ocheretyaner, E. R., & Park, T. E. (2018). Delafloxacin: a novel fluoroquinolone with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Pseudomonas aeruginosa*. *Expert review of anti-infective therapy*, 16(7), 523-530. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1489721>
- Omni, O., Dhopat, P. S., Sau, S., Estharla, M. R., Nanduri, S., Kalia, N. P., & Yaddanapudi, V. M. J. R. M. C. (2025). Design, synthesis, and biological evaluation of pyrazole–ciprofloxacin hybrids as antibacterial and antibiofilm agents against *Staphylococcus aureus*. 16(1), 420-428. <https://doi.org/10.1039/d4md00623b>
- OMS. (2018). Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. *Comunicado de prensa*. Retrieved from <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>
- OMS. (2019). No podemos esperar: Asegurar el futuro contra las infecciones farmacorresistentes. *Informe para el Secretario General de las Naciones Unidas*. Retrieved from <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/interagency-coordination-group/final-report/es/>
- OMS. (2021). La escasez mundial de antibióticos innovadores favorece la aparición y propagación de la farmacorresistencia. *Comunicados de prensa*. Retrieved from <https://www.who.int/es/news/item/15-04-2021-global-shortage-of-innovative-antibiotics-fuels-emergence-and-spread-of-drug-resistance>
- Ondusko, D. S., & Nolt, D. (2018). *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics in review*, 39(6), 287-298. <https://doi.org/10.1542/pir.2017-0224>
- Pahal, P., & Sharma, s. (2020). Typical Bacterial Pneumonia. *StatPearls [Internet]*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534295/>
- Park, M. S., Okochi, H., & Benet, L. Z. (2011). Is Ciprofloxacin a Substrate of P-glycoprotein? *Arch Drug Inf*, 4(1), 1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5174.2010.00032.x>
- Patel, M. M., & Patel, L. J. (2014). Design, synthesis, molecular docking, and antibacterial evaluation of some novel fluoroquinolone derivatives as potent antibacterial agent. *ScientificWorldJournal*, 2014, 897187. <https://doi.org/10.1155/2014/897187>
- Pham, T. D. M., Ziora, Z. M., & Blaskovich, M. A. T. (2019). Quinolone antibiotics. *MedChemComm*, 10(10), 1719-1739. <https://doi.org/10.1039/C9MD00120D>
- Phillips-Jones, M. K., & Harding, S. E. (2018). Antimicrobial resistance (AMR) nanomachines—mechanisms for fluoroquinolone and glycopeptide recognition, efflux and/or deactivation. *Biophysical Reviews*, 10(2), 347-362. <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0404-9>
- Rather, I. A., Kim, B. C., Bajpai, V. K., & Park, Y. H. (2017). Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. *Saudi J Biol Sci*, 24(4), 808-812. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.01.004>
- Ribeiro, Á. C. d. S., Santos, F. F., Valiatti, T. B., Lenzi, M. H., Santos, I. N. M., Neves, R. F. B., . . . Gales, A. C. (2024). Comparative in vitro activity of Delafloxacin and other antimicrobials against isolates from patients with acute bacterial skin, skin-structure infection and osteomyelitis. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 28(6). <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2024.103867>
- Rodríguez-Martínez, J. M., Pichardo, C., García, I., Pachón-Ibañez, M. E., Docobo-Pérez, F., Pascual, A., . . . Martínez-Martínez, L. (2008). Activity of ciprofloxacin and levofloxacin in experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* deficient in porins, expressing active efflux and

- producing QnrA1. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(7), 691-697. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02020.x>
- Roszkowski, P., Bielenica, A., Stefańska, J., Majewska, A., Markowska, K., Pituch, H., . . . Struga, M. (2024). Antibacterial and anti-biofilm activities of new fluoroquinolone derivatives coupled with nitrogen-based heterocycles. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 179, 117439. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.117439>
- Rudik, A. V., Dmitriev, A. V., Lagunin, A. A., Filimonov, D. A., & Poroikov, V. V. (2023). MetaTox 2.0: Estimating the Biological Activity Spectra of Drug-like Compounds Taking into Account Probable Biotransformations. *ACS omega*, 8(48), 45774-45778. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c06119>
- Sakalauskienė, G. V., & Radzevičienė, A. (2024). Antimicrobial Resistance: What Lies Beneath This Complex Phenomenon? *Diagnostics (Basel)*, 14(20). <https://doi.org/10.3390/diagnostics14202319>
- Salam, M. A., Al-Amin, M. Y., Salam, M. T., Pawar, J. S., Akhter, N., Rabaan, A. A., & Alqumber, M. A. A. (2023). Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare (Basel)*, 11(13). <https://doi.org/10.3390/healthcare11131946>
- Saleh, N. M., Moemen, Y. S., Mohamed, S. H., Fathy, G., Ahmed, A. A. S., Al-Ghamdi, A. A., . . . El Sayed, I. E.-T. (2022). Experimental and Molecular Docking Studies of Cyclic Diphenyl Phosphonates as DNA Gyrase Inhibitors for Fluoroquinolone-Resistant Pathogens. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(1), 53. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010053>
- Sandegren, L. (2014). Selection of antibiotic resistance at very low antibiotic concentrations. *Ups J Med Sci*, 119(2), 103-107. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.904457>
- Sayin, K., & Karakaş, D. (2017). Determination of structural, spectral, electronic and biological properties of tosufloxacin boron complexes and investigation of substituent effect. *Journal of molecular structure*, 1146, 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.05.130>
- Sayin, K., & Karakaş, D. (2018). Investigation of structural, electronic properties and docking calculations of some boron complexes with norfloxacin: A computational research. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 202, 276-283. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.05.055>
- Shen, X. L., Guo, Y. N., Lu, M. H., Ding, K. N., Liang, S. S., Mou, R. W., . . . Tang, L. P. (2023). Acetaminophen-induced hepatotoxicity predominantly via inhibiting Nrf2 antioxidative pathway and activating TLR4-NF-κB-MAPK inflammatory response in mice. *Ecotoxicol Environ Saf*, 252, 114590. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114590>
- Sheppard, D. C., Marr, K. A., Fredricks, D. N., Chiang, L. Y., Doedt, T., & Filler, S. G. (2006). Comparison of three methodologies for the determination of pulmonary fungal burden in experimental murine aspergillosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(4), 376-380. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01349.x>
- Sirota, M., & Juanchich, M. (2024). Seeing an apocalyptic post-antibiotic future lowers antibiotics expectations and requests. *Commun Med (Lond)*, 4(1), 141. <https://doi.org/10.1038/s43856-024-00567-y>
- Stephens, L. J., Werrett, M. V., Sedgwick, A. C., Bull, S. D., & Andrews, P. C. (2020). Antimicrobial innovation: a current update and perspective on the antibiotic drug development pipeline. *Future Med Chem*, 12(22), 2035-2065. <https://doi.org/10.4155/fmc-2020-0225>
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay*, 36(1), 665-668.

- Thabit, A. K., Crandon, J. L., & Nicolau, D. P. (2016). Pharmacodynamic and pharmacokinetic profiling of delafloxacin in a murine lung model against community-acquired respiratory tract pathogens. *Int J Antimicrob Agents*, 48(5), 535-541. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.08.012>
- Thadepalli, H., Bansal, M. B., Rao, B., See, R., Chuah, S. K., Marshall, R., & Dhawan, V. K. (1988). Ciprofloxacin: in vitro, experimental, and clinical evaluation. *Rev Infect Dis*, 10(3), 505-515. <https://doi.org/10.1093/clinids/10.3.505>
- Toprak, E., Veres, A., Michel, J.-B., Chait, R., Hartl, D. L., & Kishony, R. (2012). Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug selection. *Nature Genetics*, 44(1), 101-105. <https://doi.org/10.1038/ng.1034>
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., . . . Fowler, V. G. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 203-218. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>
- Uivarosi, V. (2013). Metal Complexes of Quinolone Antibiotics and Their Applications: An Update. *Molecules*, 18(9), 11;18(19):11153-11197. <https://doi.org/10.3390/molecules180911153>
- Veyna-Hurtado, L. A., Hernández-López, H., Reyes-Escobedo, F., Medellín-Luna, M., García-Cruz, S., Troncoso-Vázquez, L., . . . Cervantes-Villagrana, A. R. (2023). The difluoroboranyl-norfloxacin complex “7a” induces an antimicrobial effect against *K. pneumoniae* strain in acute pneumonia murine model. *Medicine in Drug Discovery*, 19, 100160. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2023.100160>
- Veyna-Hurtado, L. A., Hernández-López, H., Reyes-Escobedo, F. d. R., de Loera, D., García-Cruz, S., Troncoso-Vázquez, L., . . . Cervantes-Villagrana, A. R. (2025). The Derivative Difluoroboranyl-Fluoroquinolone “7a” Generates Effective Inhibition Against the *S. aureus* Strain in a Murine Model of Acute Pneumonia. *Current Issues in Molecular Biology*, 47(2), 110. <https://doi.org/10.3390/cimb47020110>
- Waack, U., Weinstein, E. A., & Farley, J. J. (2020). Assessing Animal Models of Bacterial Pneumonia Used in Investigational New Drug Applications for the Treatment of Bacterial Pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother*, 64(5). <https://doi.org/10.1128/aac.02242-19>
- Wasbotten, R. K., Dahler, A. A., Mackel, J. J., Morffy Smith, C., & Rosen, D. A. (2022). Murine Respiratory Tract Infection with Classical *Klebsiella pneumoniae* Induces Bronchus-Associated Lymphoid Tissue. *Infect Immun*, 90(4), e0059621. <https://doi.org/10.1128/iai.00596-21>
- Watanabe, T., Yamamoto, Y., Miura, M., Konno, H., Yano, S., & Nonomura, Y. (2019). Systematic Analysis of Selective Bactericidal Activity of Fatty Acids against *Staphylococcus aureus* with Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration. *J Oleo Sci*, 68(3), 291-296. <https://doi.org/10.5650/jos.ess18220>
- WHO. (2017). WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. *News release* Retrieved from <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- WHO. (2025). Global antibiotic resistance surveillance report 2025. ISBN: 9789240116337. Retrieved from <https://www.who.int/publications/i/item/9789240116337>

- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163-175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- Yamashita, Y., Nagaoka, K., Kimura, H., Suzuki, M., Konno, S., Fukumoto, T., . . . Yanagihara, K. (2019). Efficacy of Azithromycin in a Mouse Pneumonia Model against Hospital-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(9), e00149-00119. <https://doi.org/10.1128/AAC.00149-19>
- Yang, J. J., Cheng, A., Tai, H. M., Chang, L. W., Hsu, M. C., & Sheng, W. H. (2020). Selected Mutations by Nemonoxacin and Fluoroquinolone Exposure Among Relevant Gram-Positive Bacterial Strains in Taiwan. *Microb Drug Resist*, 26(2), 110-117. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0048>
- Yasir, M., Dutta, D., & Willcox, M. D. P. (2021). Enhancement of Antibiofilm Activity of Ciprofloxacin against Staphylococcus aureus by Administration of Antimicrobial Peptides. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10101159>
- Yekani, M., Azargun, R., Sharifi, S., Nabizadeh, E., Nahand, J. S., Ansari, N. K., . . . Soki, J. (2023). Collateral sensitivity: An evolutionary trade-off between antibiotic resistance mechanisms, attractive for dealing with drug-resistance crisis. *Health Sci Rep*, 6(7), e1418. <https://doi.org/10.1002/hsr2.1418>
- Zhanel, G. G., Walkty, A., Vercaigne, L., Karlowsky, J. A., Embil, J., Gin, A. S., & Hoban, D. J. (1999). The new fluoroquinolones: A critical review. *Can J Infect Dis*, 10(3), 207-238. <https://doi.org/10.1155/1999/378394>
- Zhao, M., Lepak, A. J., Marchillo, K., & Andes, D. R. (2019). In Vivo Pharmacodynamic Target Determination for Delafloxacin against Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa in the Neutropenic Murine Pneumonia Model. *Antimicrob Agents Chemother*, 63(10). <https://doi.org/10.1128/aac.01131-19>
- Zhou, Y. F., Liu, P., Dai, S. H., Sun, J., Liu, Y. H., & Liao, X. P. (2020). In Vivo Pharmacodynamic Target Assessment of Antofloxacin against Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus in a Neutropenic Murine Pneumonia Model. *Antimicrob Agents Chemother*, 64(12). <https://doi.org/10.1128/aac.01354-20>
- Zhu, S., Li, H., Liang, J., Lv, C., Zhao, K., Niu, M., . . . Xu, K. (2020). Assessment of oral ciprofloxacin impaired gut barrier integrity on gut bacteria in mice. *Int Immunopharmacol*, 83, 106460. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106460>

Anexos

- Anexo A: Caracterizaciones de las cepas utilizadas**

HOSPITAL GENERAL DE ZACATECAS
Informe clínico

Editado 09-jul-2021 08:09 VET

Cliente de bioMérieux:

Nombre del paciente:
Localización:
Nº de examen: 1-SA

Nº paciente:
Médico:
Nº de aislamiento: 1

Cantidad de organismo:

Organismo seleccionado: **Staphylococcus aureus**

Origen:

Recogida:

Comentarios:	

Información de identificación	Tiempo de análisis: 4,80 horas	Estado: Final
Organismo seleccionado	96% Probabilidad Bionúmero: 050402072763231	Staphylococcus aureus
Mensajes de análisis de ID		

Información de sensibilidad	Tiempo de análisis: 13,35 horas		Estado: Final		
Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación
Detección de cefoxitina	NEG	-	Clindamicina	0,25	S
Ampicilina			Linezolid	2	S
Oxacilina	<= 0,25	S	Daptomicina	>= 8	
Gentamicina de nivel alto (sinergia)			Vancomicina	4	I
Estreptomicina de nivel alto (sinergia)			Doxiciclina	<= 0,5	S
Gentamicina	4	S	Tetraciclina	<= 1	S
Ciprofloxacino	<= 0,5	S	Tigeciclina	<= 0,12	S
Levofloxacino	<= 0,12	S	Nitrofurantoina	<= 16	S
Moxifloxacino	<= 0,25	S	Rifampicina	<= 0,5	S
Resistencia inducible a clindamicina	NEG	-	Trimetoprima/Sulfametoxazol	<= 10	S
Eritromicina	<= 0,25	S			

+ = Antibiótico deducido * = AES modificado ** = Usuario modificado

Conclusiones de AES		
Nivel de confianza:	Coherente	
Fenotipos marcados para revisión:	MACRÓLIDOS/LINCOSAMINAS/ESTREPTOGRAMINAS	RESISTENTE A ESTREPTOGRAMINAS (SGA-SGB)
	GLICOPÉPTIDOS	VISA

- Anexo B. Material Suplementario de artículos de investigación

The difluoroboranil-norfloxacin derivative “7a” inhibits bacterial DNA gyrase and exhibits potent activity against ciprofloxacin-resistant *S. aureus* *in vitro* and *in vivo* using an acute pneumonia model

Luis Angel Veyna-Hurtado, Hiram Hernández-López, Denisse de Loera-Carrera, Juan Manuel Vargas-Morales, Martín Muñoz-Ortega and Alberto Rafael Cervantes-Villagrana

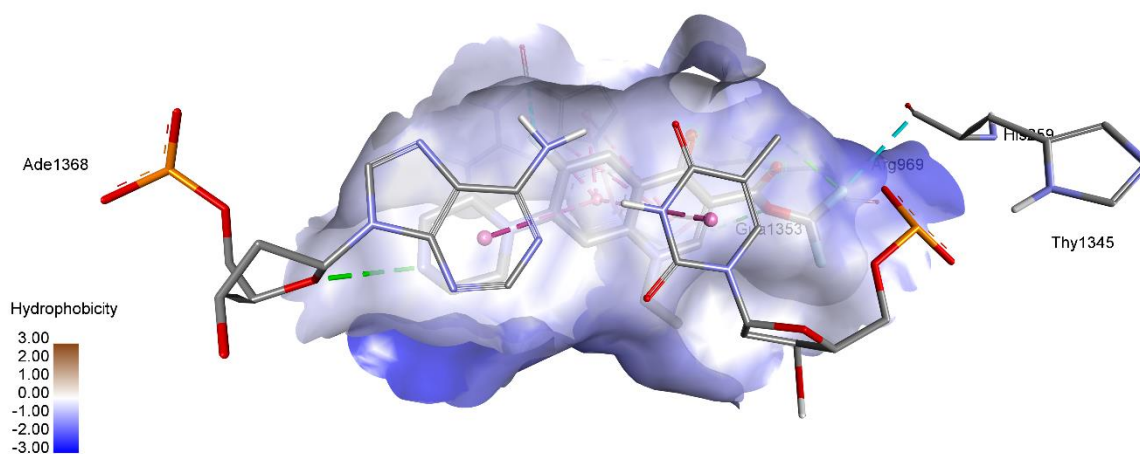
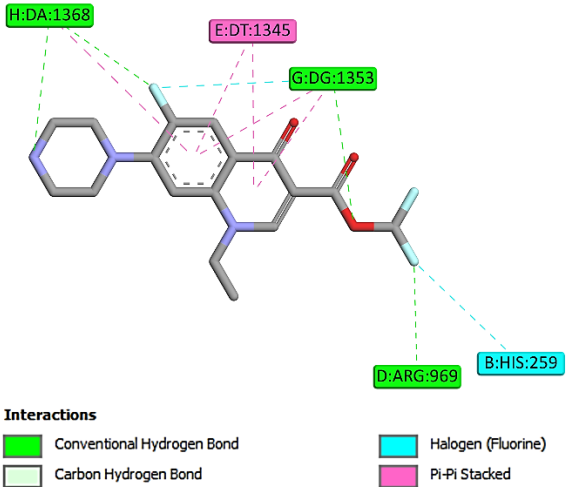
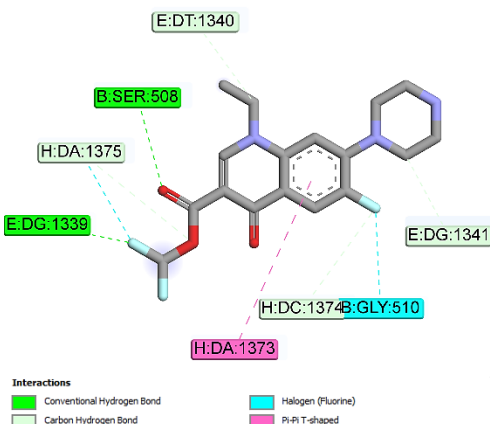
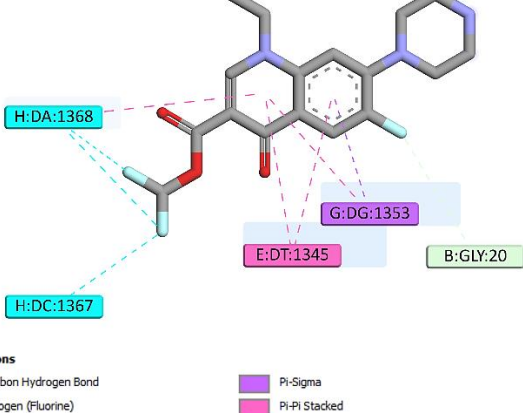
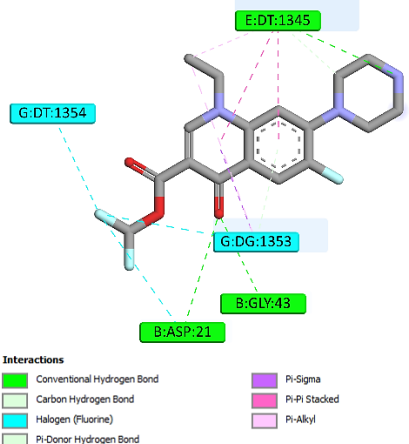
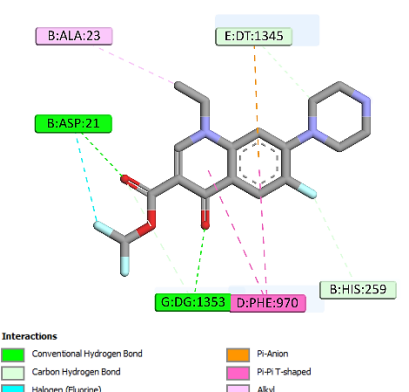
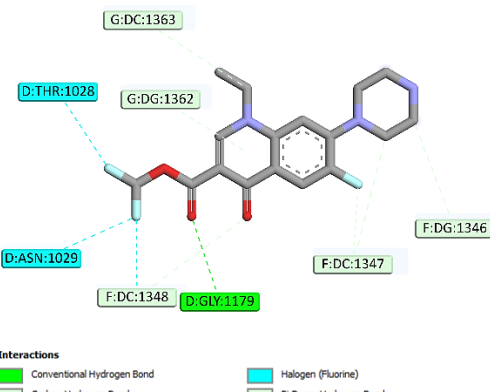


Figure S1. Hydrophobic surface of position 1 of **7a** in the interaction pocket.

Table S1. Most probable interaction positions with *S. aureus* DNA gyrase through molecular docking.

Conformation mode	7a affinity	Main interactions in pocket
1	-10.0	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Conventional Hydrogen Bond ■ Halogen (Fluorine) ■ Carbon Hydrogen Bond ■ Pi-Pi Stacked
2	-9.9	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Conventional Hydrogen Bond ■ Halogen (Fluorine) ■ Carbon Hydrogen Bond ■ Pi-Pi T-shaped
3	-9.8	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Carbon Hydrogen Bond ■ Halogen (Fluorine) ■ Pi-Sigma ■ Pi-Pi Stacked

<p>4</p>	<p>-9.5</p>	
<p>5</p>	<p>-9.5</p>	
<p>6</p>	<p>-9.4</p>	

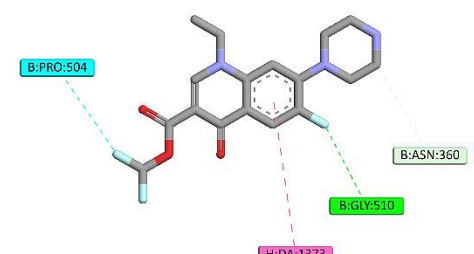
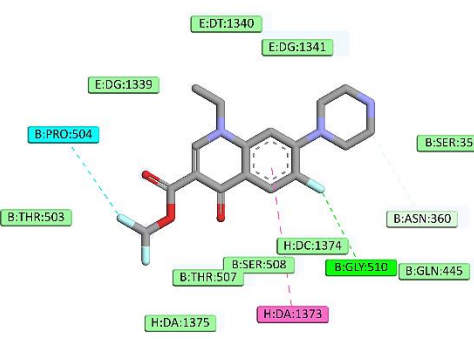
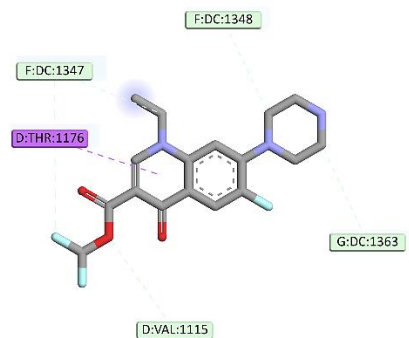
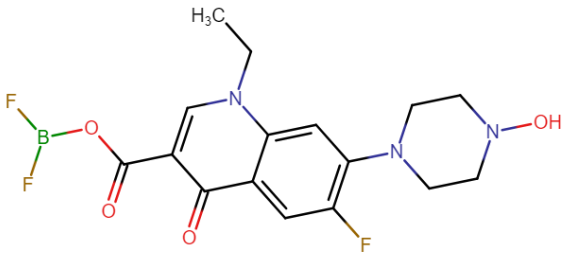
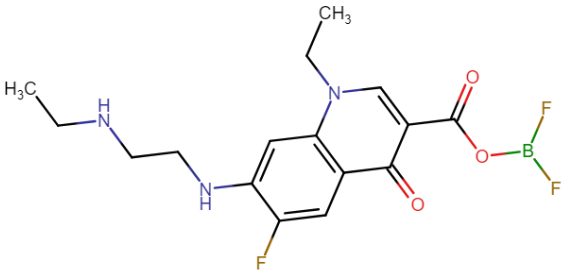
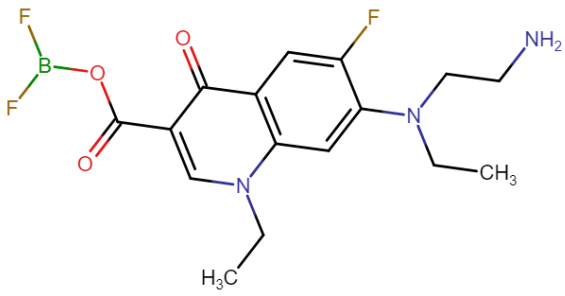
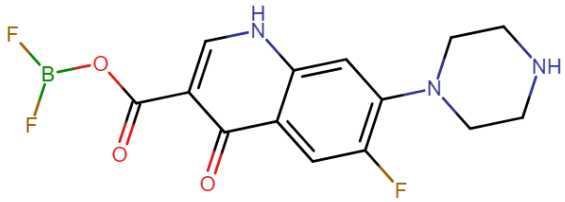
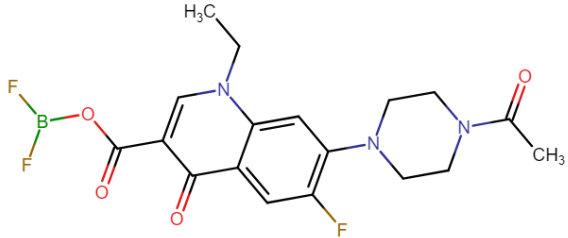
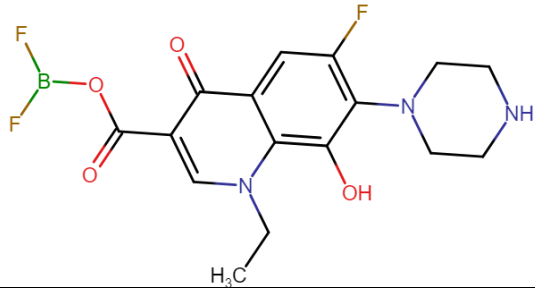
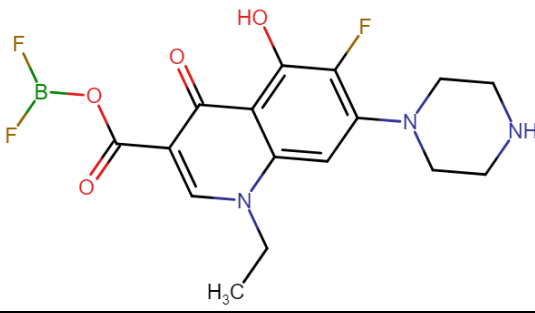
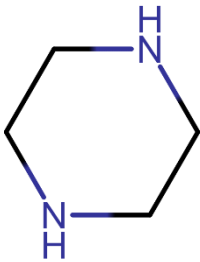
<p>7</p>	<p>-9.3</p>	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond Halogen (Fluorine) Pi-Pi T-shaped
<p>8</p>	<p>-9.3</p>	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> van der Waals Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond Halogen (Fluorine) Pi-Pi T-shaped
<p>9</p>	<p>-9.1</p>	 <p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Carbon Hydrogen Bond Pi-Sigma

Table S2. Predicted metabolites of 7a through Way2drug platform

Metabolite number	Formation probability	Metabolite structure
2	0.997	
3	0.97	
4	0.91	
5	0.9954	

6	0.99	
7	0.76	
8	0.62	
9	0.59	

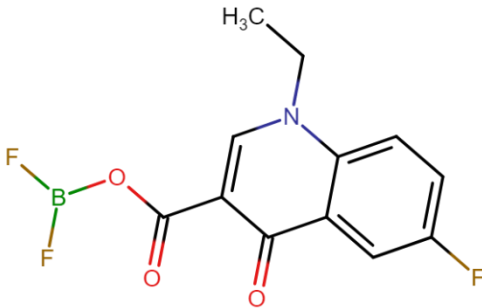
10	0.59	
----	------	--

Table S3. Pharmacokinetic parameters of **7a** simulated using the SwissAMDE platform.

Molecule	7a	Ciprofloxacin
Canonical SMILES	<chem>CCn1cc2C(=O)O[B-]([O+]=c2c2c1cc(N1CCNCC1)c(c2)F)(F)F</chem>	<chem>Fc1cc2c(cc1N1CCNCC1)n(c(c2=O)C(=O)O)C1CC1</chem>
Formula	C16H17BF3N3O3	C17H18FN3O3
MW	367.13	331.34
#Heavy atoms	26	24
#Aromatic heavy atoms	10	10
Fraction Csp3	0.38	0.41
#Rotatable bonds	2	3
#H-bond acceptors	7	5
#H-bond donors	1	2
MR	98.98	95.25
TPSA	63.57	74.57
iLOGP	0	2.24
XLOGP3	2.79	-1.08
WLOGP	2.15	1.18
MLOGP	1.28	1.28
Silicos-IT Log P	0.2	1.9
Consensus Log P	1.28	1.1
ESOL Log S	-4.03	-1.32
ESOL Solubility (mg/ml)	3.45E-02	1.57E+01

ESOL Solubility (mol/l)	9.41E-05	4.74E-02
ESOL Class	Moderately soluble	Very soluble
Ali Log S	-3.78	0
Ali Solubility (mg/ml)	6.07E-02	3.34E+02
Ali Solubility (mol/l)	1.65E-04	1.01E+00
Ali Class	Soluble	Highly soluble
Silicos-IT LogSw	-4.96	-3.5
Silicos-IT Solubility (mg/ml)	4.07E-03	1.04E-01
Silicos-IT Solubility (mol/l)	1.11E-05	3.13E-04
Silicos-IT class	Moderately soluble	Soluble
GI absorption	High	High
BBB permeant	Yes	No
Pgp substrate	Yes	Yes
CYP1A2 inhibitor	Yes	No
CYP2C19 inhibitor	No	No
CYP2C9 inhibitor	No	No
CYP2D6 inhibitor	Yes	No
CYP3A4 inhibitor	No	No
log Kp (cm/s)	-6.56	-9.09
Lipinski #violations	0	0
Ghose #violations	0	0
Veber #violations	0	0
Egan #violations	0	0
Muegge #violations	0	0
Bioavailability Score	0.55	0.55
PAINS #alerts	0	0
Leadlikeness #violations	1	0
Synthetic Accessibility	3.51	2.51

- **Anexo C. Certificados de publicación de artículos de investigación**



*current issues in
molecular biology*

an Open Access Journal by MDPI



CERTIFICATE OF PUBLICATION

The certificate of publication for the article titled:

The Derivative Difluoroboranyl-Fluoroquinolone “7a” Generates Effective Inhibition Against the *S. aureus* Strain in a Murine Model of Acute Pneumonia

Authored by:

L. Angel Veyna-Hurtado; Hiram Hernández-López; Fuensanta del Rocío Reyes-Escobedo; Denisse de Loera; Salvador García-Cruz; Lorena Troncoso-Vázquez; Marisol Galván-Valencia; Julio E. Castañeda-Delgado; Alberto Rafael Cervantes-Villagrana

Published in:

Curr. Issues Mol. Biol. 2025, Volume 47, Issue 2, 110



Prof. Dr. Madhav Bhatia