

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

"SÍNTESIS PARCIAL DE CHALCONAS NATURALES A PARTIR DE LA NARINGINA Y HESPERIDINA Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

MARÍA MILAGROS LÓPEZ

DIRIGIDA POR

Dr. ELOY RODRÍGUEZ DE LEÓN

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2026

REPOSITORIO INSTITUCIONAL DGBSDI-UAQ

La presente obra está bajo la licencia:
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es

CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

Atribución — Usted debe dar crédito de manera adecuada , brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios . Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.

NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con propósitos comerciales .

SinDerivadas — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una excepción o limitación aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como publicidad, privacidad, o derechos morales pueden limitar la forma en que utilice el material.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Carlos Eduardo Frontana, quien me apoyó y ayudó en mis materias durante los primeros semestres de la licenciatura, y a quien le prometí hace años que lo mencionaría en mi proyecto de tesis. ¡Gracias!

A mis padres, Mariano López y Carolina García, por darme las herramientas y el apoyo incondicional que solo unos padres pueden brindar. Mi título y mis logros son para ustedes. Este es el resultado de toda una vida de trabajo en familia, de nuestra familia.

A mis amigos de la licenciatura, Griselda Olvera Rivas, Fernanda Gudiño y Alexis Vargas Barrera. Los quiero y los apreciaré por siempre.

A Aylin Mendoza, quien invirtió buena parte de su servicio social en el laboratorio para apoyarme en los primeros ensayos experimentales de mi tesis. En ti no solo encontré una gran compañera, sino también una amiga verdadera.

A mi asesora y sinodal, Odette Flores, quien me brindó su apoyo en todo lo relacionado con la elaboración de mi tesis, desde las técnicas de laboratorio empleadas y el manejo de los equipos hasta la redacción del documento. ¡Gracias! En ella también encontré una buena amiga en quien confiar.

A mi director de tesis, el Dr. Eloy Rodríguez, por darme la oportunidad de desarrollar este proyecto en su laboratorio. Su guía y disposición me impulsaron a hacerlo posible. Gracias por todo.

ÍNDICE
GENERAL

	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDIDE DE CUADROS	v
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
II.1 Flavonoides	2
II.1.1 Clasificación y estructura química	2
II.1.2 Biosíntesis de los flavonoides	4
II.1.3 Metabolismo de los flavonoides	5
II.1.4 Funciones biológicas de los flavonoides en humanos	6
II.1.5 Efecto antibacteriano de los flavonoides	7
II.2 Hesperidina	9
II.2.1. Hesperidina y sus efectos biológicos	11
II.3. Hesperetina	11
II.3.1 Hesperetina y sus efectos biológicos	12
II.4. Naringina	13
II.4.1. Naringina y sus efectos biológicos	14
II.5. Naringenina	15
II.5.1 Naringenina y sus efectos biológicos	17
II.6. Chalconas	18
II.6.1. Chalconas y sus efectos biológicos	18
III. OBJETIVOS	20
III.1 Objetivo general	20
III.2 Objetivos particulares	20
IV. METODOLOGÍA	21
IV.1 Análisis de los flavonoides obtenidos en las distintas reacciones	21
IV.2 Semisíntesis de las chalconas derivadas de hesperidina, hesperetina, naringina y naringenina	21
IV.3 Caracterización estructural mediante resonancia magnética nuclear (RMN)	22
IV.4 Evaluación antibacteriana	22
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
V.1. Semisíntesis de la chalcona de naringina	24
V.1.1. Caracterización de la chalcona de naringina	29
V.2. Semisíntesis de la chalcona de naringenina	31
V.2.1. Caracterización de la chalcona de naringenina	35
V.3. Semisíntesis de la chalcona de hesperidina	37
V.3.1. Caracterización de la chalcona de hesperidina	40
V.4. Semisíntesis de la chalcona de hesperetina	43
V.5. Comparación de la actividad antibacteriana de las chalconas obtenidas contra naringina y hesperidina	45
VI. CONCLUSIONES	55

VII. REFERENCIAS 56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura general de los flavonoides	2
2	Clasificación de flavonoides	3
3	Ruta biosintética de los flavonoides.	5
4	Metabolismo de los flavonoides.	6
5	Mecanismos antibacterianos de los flavonoides	8
6	Estructura de la hesperidina	10
7	Estructura de la hesperetina	12
8	Estructura de la naringina	14
9	Estructura de la naringenina	16
10	Semisíntesis de la chalcona de naringina mediante catálisis básica	24
11	Cromatograma de la chalcona de naringina	26
12	Fotografía de la naringina (izquierda) y de su chalcona (derecha)	26
13	Mecanismo plausible para la obtención de la chalcona a partir de la Naringina (Ruta A) y de la naringina a partir de la chalcona (Ruta B)	28
14	Espectro de RMN de ^{1}H de la chalcona de naringina en D_3OD	29
15	Espectro de RMN de ^{13}C de la chalcona de naringina en CD_3OD	30
16	Semisíntesis de la chalcona de naringenina a partir de la naringenina	31
17	Cromatografía en capa fina de la síntesis de la chalcona de naringenina	31
18	Rutas para la obtención de la chalcona de naringenina	32
19	CCF de la chalcona de naringenina purificada	33
20	Cromatograma de la chalcona de naringenina	34
21	Fotografía de la naringenina (izquierda) y la chalcona de naringenina (derecha).	34
22	Espectro de RMN de ^{1}H de la chalcona de naringenina en CD_3OD	35
23	Espectro de RMN de ^{13}C de la chalcona de naringenina en CD_3OD	36
24	Semisíntesis de la chalcona de hesperidina a partir de hesperidina	37
25	Curva de calibración para la cuantificación de la hesperidina	38
26	Fotografía de la cromatografía en columna realizada para la purificación	

de la chalcona de hesperidina 39
27 Cromatograma de la chalcona de hesperidina 40
28 Muestras de polvos de hesperidina (izquierda) y de su chalcona (derecha) 40
29 Espectro de RMN de ^{1}H de chalcona de hesperidina en C_5D_5N.*Impurezas 41
30 Espectro de RMN de ^{13}C de la chalcona de hesperidina en C_5D_5N. *Impurezas 42
31 Semisíntesis de la chalcona de hesperetina a partir de la hesperetina 43
32 Placas cromatográficas de los ensayos de la síntesis de la chalcona de hesperetina a distintos tiempos 43
33 Muestras de polvos de hesperetina (izquierda), y su chalcona (derecha). 44
34 Cromatograma de la chalcona de hesperetina 45
35 Porcentaje de inhibición de las chalconas frente a *Pseudomonas aeruginosa* a 1 hora de incubación. 48
36 Porcentaje de inhibición de las chalconas frente a *S. aureus* a 1 h de incubación. 51
37 Cultivos a 24 h de contacto con los compuestos. Izq. *P. aeruginosa*. Der. *S. aureus* 53

ÍNDICE DE CUADROS

		Página
1	Gradiente de elución para el análisis de flavonoides	21
2	Optimización de las condiciones de reacción para la obtención de la chalcona de naringina	25
3	Optimización del tiempo de reacción para la obtención de la chalcona de naringina	27
4	Optimización del tiempo de reacción para la obtención de la chalcona de hesperidina	38
5	CMI reportada para naringina y hesperidina	47

RESUMEN

Numerosos procesos industriales para fabricar principios activos utilizados en terapéutica utilizan materias primas e intermediarios químicos derivados de fuentes fósiles, generando residuos contaminantes potencialmente perjudiciales para el ser humano. Por ello, es necesario desarrollar alternativas sustentables para producir compuestos de importancia farmacéutica y/o alimentaria.

Se utilizaron hesperidina y naringina extraídas de residuos cítricos para la semisíntesis de chalconas naturales: chalcona de hesperidina, chalcona de hesperetina, chalcona de naringina y chalcona de naringenina. Los compuestos obtenidos con rendimientos buenos a moderados (99 al 50 %), se identificaron y cuantificaron usando cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada al detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) y se caracterizaron mediante resonancia magnética nuclear (RMN) de protón (^{1}H) y carbono (^{13}C). Se evaluó su actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, obteniendo 50 % de inhibición con la chalcona de naringina a 0.5 mg/mL, 99 % con la chalcona de hesperetina a 2,1 y 0.5 mg/mL, y 80-99 % con la chalcona de naringenina. La chalcona de hesperetina presentó mayor actividad antibacteriana, mientras que la chalcona de naringina mostró menor efecto a la concentración de 0.5 mg/mL frente a *S. aureus*. Después de 24 h, no se observaron unidades formadoras de colonias para los compuestos, evidenciando pérdida de viabilidad bacteriana. Los resultados preliminares indican que la transformación de flavonas precursoras a chalconas permite obtener compuestos con actividad antibacteriana frente a ambas cepas. Este trabajo constituye el primer reporte de la evaluación antibacteriana de las chalconas derivadas de la naringina y la hesperidina.

I. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, los antibióticos han jugado un rol clave contra las infecciones causadas por agentes patógenos bacterianos. Antes de la penicilina, el primer antibiótico descubierto, no se contaban con demasiados recursos contra estas infecciones. La introducción de los antibióticos transformó el tratamiento de estas enfermedades y permitió reducir considerablemente la mortalidad asociada a diversas infecciones bacterianas. Sin embargo, el uso excesivo de los medicamentos contribuyó a la aparición y propagación de microorganismos resistentes, constituyendo uno de los principales retos para la salud pública a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud ha señalado que existe una necesidad urgente de desarrollar nuevos agentes antibacterianos pero los hallazgos e innovaciones en los últimos años no han podido ponerse a la par del crecimiento de las cepas bacterianas multirresistentes. Los compuestos naturales, como los derivados de plantas o microorganismos, han sido un recurso fiable para desarrollar medicamentos antibacterianos. Las plantas producen una amplia diversidad de metabolitos secundarios que participan en mecanismos de defensa y presentan diversas actividades biológicas de interés farmacológico. Los flavonoides son un gran grupo de compuestos naturales principalmente encontrados en las plantas, los cuales presentan diversas propiedades biológicas, entre las que destaca su actividad antibacteriana. Asimismo, las chalconas derivadas de flavonoides y algunas flavanonas, han demostrado una buena biodisponibilidad, lo que las convierte en potenciales candidatas a fármacos contra bacterias patógenas tales como la *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

II. ANTECEDENTES

II.1. Flavonoides

II.1.1. Clasificación y estructura química

Los flavonoides forman parte de los compuestos fenólicos, siendo metabolitos secundarios, producidos por organismos del reino vegetal para garantizar su supervivencia. Los flavonoides se encuentran en muchas plantas, variando su concentración en sus diferentes partes dependiendo del ambiente en el que se desarrollan, la disponibilidad de agua y nutrientes, edad de la planta e intensidad de luz solar recibida (Górniak y col., 2018). Su estructura básica posee 15 carbonos, los cuales forman dos anillos aromáticos que comúnmente poseen grupos hidroxilo (Figura 1) (Días y col., 2021). En la naturaleza, los flavonoides suelen encontrarse glicosilados, mientras que los compuestos sin azúcares se denominan agliconas (Hu y col., 2025).

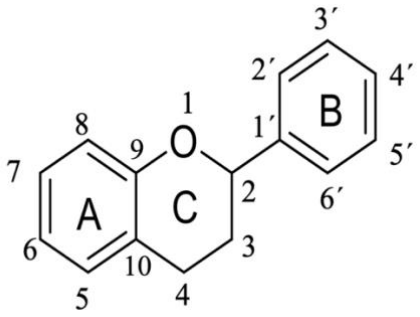

Figura 1. Estructura general de los flavonoides.

En la Figura 2 se muestra la clasificación de los flavonoides en 7 principales subgrupos: flavonas, flavonoles, flavanoles, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y chalconas (Zulkefli y col., 2023). Como se observa en la Figura 2, las principales diferencias entre los flavonoides radican en el patrón de sustitución en el anillo C, así como en la ausencia o presencia en dicho anillo del grupo carbonilo en la posición 4, del hidroxilo en la posición 3 y/o la insaturación en las posiciones 2 y 3.

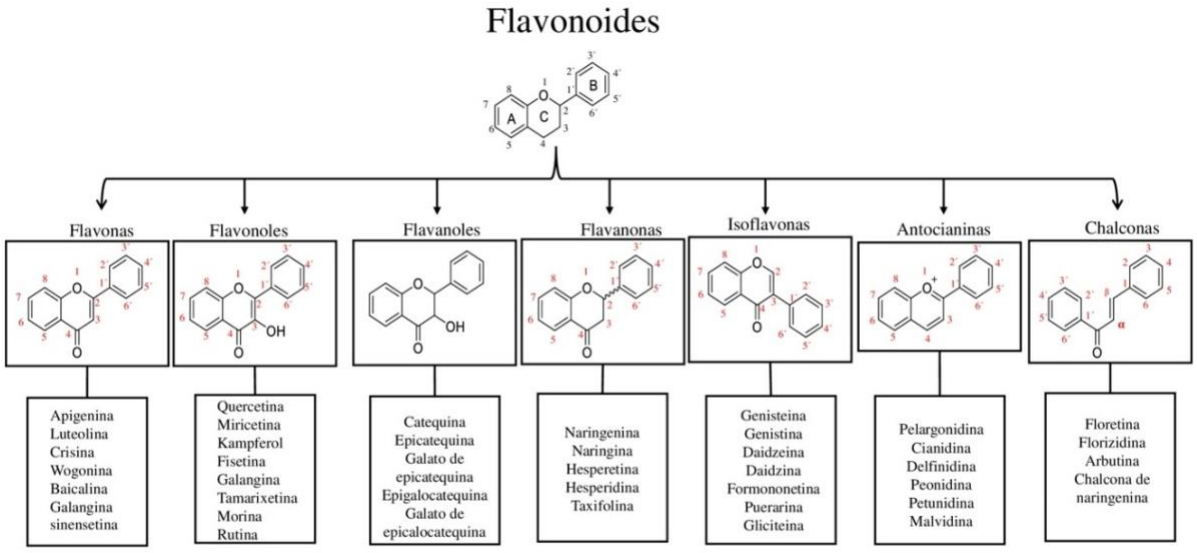

Figura 2. Clasificación de flavonoides (Figura modificada de Zulkefli y col., 2023).

Las semillas y la cáscara de los frutos cítricos presentan una elevada concentración de flavonoides; sin embargo, la cáscara es una fuente más abundante que las semillas (Trípoli y col., 2007). Los principales flavonoides presentes en los cítricos son del tipo flavanonas con diversos azúcares unidos en la posición 7 del esqueleto de estos (7-*O*-glicosilflavanonas). La composición de los flavonoides varía entre los

distintos frutos; por ejemplo, en la cáscara de toronja (*Citrus paradisi*), se ha encontrado como el compuesto mayoritario a la flavanona conocida como naringina, mientras que en la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) el flavonoide más abundante es la hesperidina y en la cáscara de limón el principal es la neoericitrina (Tripoli y col., 2007).

En el grupo de las flavonas se incluyen sinensetina, isosinensetina, nobiletina, tangeretina, galangina, crisina, luteolina y apigenina. Estos dos últimos se encuentran de manera importante en cítricos, pimientos, romero, menta, brócoli, apio, entre otros (Días y col., 2021). Las flavanonas componen el 95 % de los flavonoides presentes en los cítricos (Yi y col., 2017), algunos de estos son la naringenina, naringina, hesperidina, hesperetina y taxifolina, encontrándose de forma abundante en la toronja, naranja y lima (Días y col., 2021). Los flavonoles se encuentran en concentraciones mucho menores en los frutos cítricos, siendo la quercetina y el kaempferol los más comunes (Yi y col., 2017).

II.1.2. Biosíntesis de los flavonoides

Los flavonoides derivan de dos rutas biosintéticas. Una de ellas es la de fenilpropanoides, la cual produce el esqueleto C6-C3, y la del acetato-malonato que produce bloques C2. La enzima chalcona sintetasa cataliza la formación de la chalcona (2´-hidroxichalcona), que viene de *p*-cumaroil CoA y malonil CoA. (Figura 3) (Días y col., 2021), que es el precursor de los distintos tipos de flavonoides.

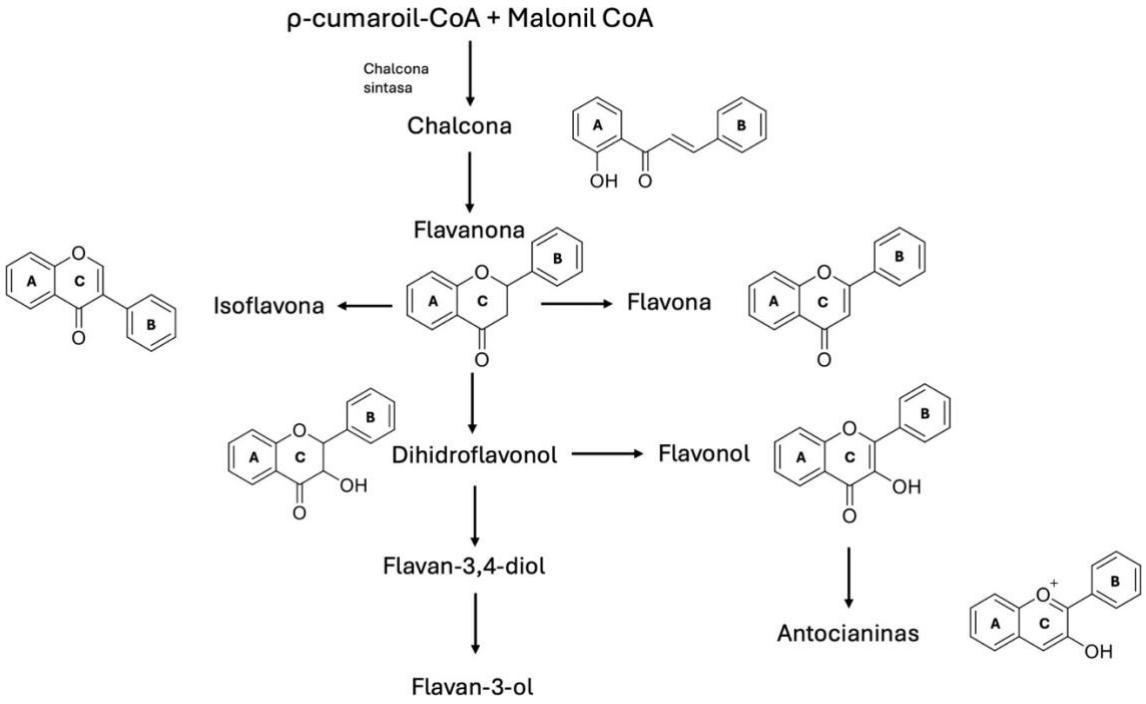

Figura 3. Ruta biosintética de los flavonoides (imagen modificada de Cetinkaya y col., 2025).

II.1.3. Metabolismo de los flavonoides

Los flavonoides se consumen como glicósidos, los cuales son hidrolizados por LPH (lactasa-florizina hidrolasa) a su forma de aglicona en el lumen intestinal. Al incrementarse su lipofilicidad, pueden atravesar las membranas epiteliales mediante difusión pasiva. Un grupo de moléculas importante para la entrada de muchos compuestos al torrente sanguíneo, incluidos los flavonoides de la dieta, son los transportadores de la familia ABC. Luego de la absorción, sufren metabolismo de fase I en el hígado mediante la acción del citocromo p450, dando como resultado metabolitos menores de los flavonoides que pasan rápidamente a la fase II, como la glucuronidación, sulfatación y metilación. Los glucurónidos conjugados resultantes

pueden ser excretados en orina en su mayoría, a través de la bilis o transportados por ABC al lumen intestinal (Figura 4) (Cassidy y col., 2017).

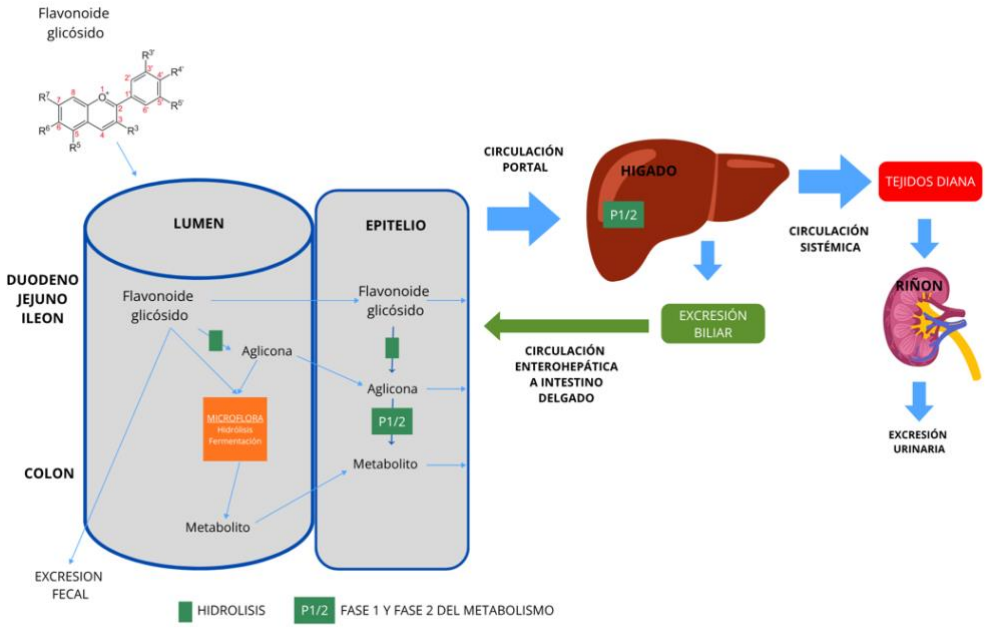

Figura 4. Metabolismo de los flavonoides [Figura modificada de (Cassidy y col., 2017)].

II.1.4. Funciones biológicas de los flavonoides en humanos

Los flavonoides tienen varias propiedades beneficiosas, cuando son ingeridos a partir de las hortalizas; por ejemplo, confieren propiedades antibacterianas y protegen contra la inflamación con sus propiedades antioxidantes. Algunos de ellos reducen el riesgo de padecer enfermedades cardíacas, otros son conocidos en la medicina por la protección contra la formación de tumores malignos (Guiance y col., 2019). La estructura de un flavonoide y su actividad están estrechamente relacionadas. Por ejemplo, los grupos hidroxilos en las posiciones 5, 7, 3 y 4’ son clave para sus efectos

antibacterianos, antioxidantes y antiinflamatorios (Zulkefli y col., 2023).

II.1.5. Efecto antibacteriano de los flavonoides

Los flavonoides tienen propiedades antimicrobianas. Se ha demostrado que pueden reducir la virulencia de estas bacterias. Algunos de los mecanismos antibacterianos (Figura 5) de los flavonoides incluyen daño a la membrana de las bacterias por la formación de poros y disminución de su fluidez. Asimismo, puede interferir con la síntesis de los componentes de la membrana al inhibir enzimas involucradas en la biosíntesis de ácidos grasos. Otros mecanismos incluyen la alteración del metabolismo energético mediante la inhibición de la NADH citocromo c reductasa y el bloqueo de síntesis de la pared celular por inhibición de la D-alanina-D-alanina ligasa (Zheng y col., 2025). También se ha descrito inducción de estrés oxidativo y la interferencia en replicación y transcripción del ADN bacteriano (Hu y col., 2025).

Para entender estos mecanismos, tenemos que detenernos en analizarlos según la estructura del flavonoide. La abundancia de grupos hidroxilos está estrechamente relacionada con su capacidad antioxidante y antimicrobiana. Estos grupos hacen que el flavonoide tenga facilidad de eliminar radicales libres y quelar iones metálicos, pero baja su lipofilicidad, lo que hace que se limite su paso a través de membranas celulares. Flavonoides que tienen un buen grado de lipofilicidad, como la naringenina y la hesperetina, pueden penetrar la bicapa lipídica y alterar la permeabilidad y fluidez de las membranas. Por otra parte, la quercetina puede disminuir la fuerza protón-motriz, afectando la producción de ATP. Otros flavonoides como la apigenina provocan un desorden de los lípidos de la membrana, lo que causa desestabilización

en esta (Gonzáles y col., 2021).

Los flavonoides hidrofílicos también pueden ser útiles, ya que podrían interactuar con elementos de las superficies de membrana, como las adhesinas, enzimas, toxinas, transportadores de envoltura celular, reguladores transcripcionales y formar complejos con proteínas a través de interacciones hidrofóbicas (González y col., 2021).

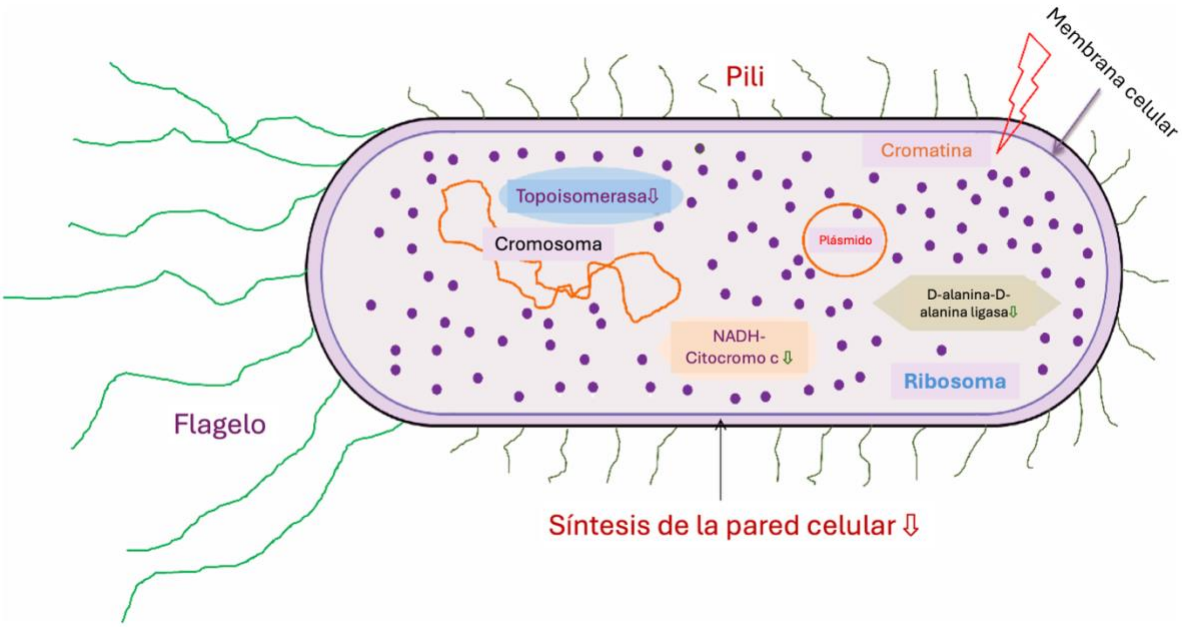

Figura 5. Mecanismos antibacterianos de los flavonoides. Figura modificada de Zheng y col., 2025.

Diversos estudios señalan a los flavonoides como antibacterianos efectivos en la curación de heridas de la piel. El uso de flavonoides se ha demostrado como accesible y no tóxico. La hesperidina, quercetina, naringenina y genisteína están relacionados con la vía TGF-β, la cual promueve funciones biológicas de procesos de cicatrización, como la inflamación, angiogénesis, síntesis de colágeno y

renovación de la matriz extracelular. A la fecha, pocos estudios se han realizado y las pruebas clínicas no han logrado pasar de la fase 3, por lo que aún el uso de flavonoides para este propósito requiere de investigaciones adicionales (Zulkefli y col., 2023).

Algunos flavonoides, como la quercetina y el kaempferol, ejercen su efecto debido a su capacidad de inhibir a la ADN girasa. Mientras que otros, como la taxifolina, la naringenina y el eriodictiol, interactúan inhibiendo la síntesis de la membrana bacteriana (Khameneh y col., 2019).

II.2. Hesperidina

La hesperidina (Figura 6) es un glicósido complejo compuesto por hesperetina y el disacárido rutinósido, por eso también se conoce como hesperetina-7-*O*-rutinósido. La molécula activa de su estructura es la aglicona (hesperetina), por lo tanto, puede actuar como un profármaco (Lobo y col., 2024). La hesperidina es un flavonoide encontrado principalmente en cítricos, en particular, en la cáscara de limones y naranjas. Se ha encontrado que es efectiva en la inhibición de patógenos de transmisión sexual sin generar toxicidad en las células huésped o alteraciones en el crecimiento de lactobacilos vaginales (Agrawal y col., 2021).

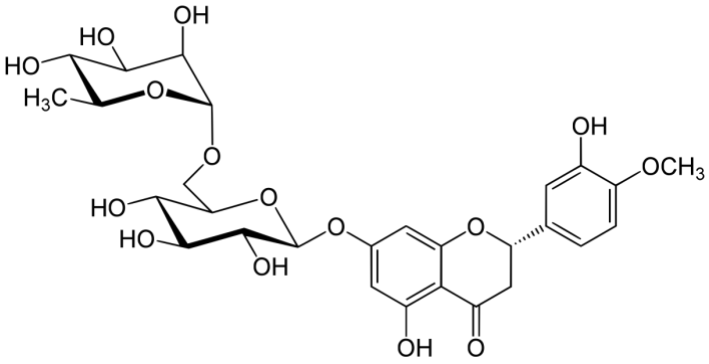

Figura 6. Estructura de la hesperidina.

La hesperidina es utilizada en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética, por lo que se reportan amplios métodos de extracción, los más comunes siendo inmersión, percolación, o reflujo continuo. Los métodos comunes están siendo reemplazados por técnicas más avanzadas amigables con el medio ambiente. Algunas de estas son la extracción asistida con microondas y la extracción con disolvente acelerada. Para la determinación y análisis de la hesperidina, se utilizan equipos y técnicas como RP-HPLC acoplada a un detector de arreglo de diodos (DAD) o a espectrometría de masas (MS), cromatografía de capa fina y electroforesis capilar (Pyrzynska y col., 2022).

Por otra parte, cabe mencionar que, desde el año 2013, se comercializan nuestro país a mezcla de los flavonoides diosmina y hesperidina (450 mg y 50 mg por tableta respectivamente) con nombres comerciales conocidos como la marca Daflon® y Venalex ® para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la insuficiencia venosa tales como las varices, las úlceras por decúbito, hemorroides y la claudicación intermitente, por mencionar algunas (Steinbruch y col., 2020).

II.2.1. Hesperidina y sus efectos biológicos

Se ha reportado que la hesperidina posee efectos antiinflamatorios, quimioprotectores y antioxidantes. Asimismo, su aglicona tiene efectos protectores contra la pérdida de masa ósea, actividad antioxidante, antiinflamatoria, antialergénica, vasoprotectora, anticancerígena y neuroprotectora (De Cássia Ortiz y col., 2022). Finalmente, la hesperidina ha mostrado actividad contra las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (Choi y col., 2022).

II.3. Hesperetina

La hesperetina (Figura 7) es la aglicona de la hesperidina, presente en frutos cítricos, como naranjas y limones. Se reporta que sus beneficios consisten en sus propiedades anticancerígenas, antihipertensivas, antioxidantes, hepatoprotectoras, cicatrizantes, hipoglucemiantes, entre otras (Agrawal y col., 2021). Hay algunos estudios (Sridhar y col., 2014) que utilizan la hesperetina como potenciador de los efectos de otros fármacos, se administró en conjunto con felodipino inhibiendo el primer paso de metabolismo mediado por CYP3A4 y la glicoproteína-P en el intestino o hígado. La baja solubilidad en agua de la hesperetina hace que su aplicación sea limitada en industrias como la farmacéutica, cosmética y alimentaria, utilizando métodos como la glicosilación para aumentarla, aunque los cambios en sus propiedades y eficacia no han sido estudiados de forma amplia (Choi y col., 2022). La biodisponibilidad de la hesperetina es de un 20 %, lo cual se considera baja, justamente por esta escasa solubilidad que presenta (Song y col., 2024). Para

mejorarla, se desarrollaron formulaciones, complejos hesperetina-fosfatidilcolina y micelas de hesperetina para mejorar sus propiedades y su actividad antioxidante en comparación con una molécula de hesperetina (Gu y col., 2020). También se ha reportado que tiene una limitación en su acción, debida a su rápida eliminación por lo que se requiere una administración frecuente para mantener una concentración en plasma efectiva. Maiti y col. (2009) desarrollaron un complejo hesperetina-fosfatidilcolina (HSPC); este fosfolípido es un importante acarreador que facilita una liberación sostenida y controlada *in vitro*. En dicho estudio, se probaron suspensiones de este complejo en ratas macho Wistar, realizando pruebas de función hepática en suero y disección de hígado. Los resultados indicaron que la liberación del complejo fue de 24 horas, en comparación con las 8 horas de la hesperetina tradicional administrada a uno de los grupos control, demostrando su potencial de mejora en la farmacocinética de la hesperetina.

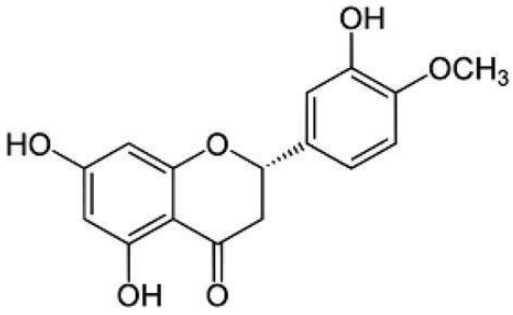

Figura 7. Estructura de la hesperetina.

II.3.1. Hesperetina y sus efectos biológicos

En el estudio de Choi y col. (2022), se evaluaron la hesperidina y hesperetina contra bacterias como *S. aureus, B. cereus, E. coli* y *P. aeruginosa.* La hesperetina resultó

ser efectiva contra las bacterias Gram positivas, reportando 500 µg/mL de concentración mínima inhibitoria, lo que se concluye como una alta actividad bactericida. También se determinaron los valores de concentración mínima inhibitoria, obteniéndose la mayor capacidad de inhibición de crecimiento bacteriano nuevamente en estas dos cepas ya mencionadas, con 125 µg/mL para *S. aureus* y 250 µg/mL para *B. cereus*.

También hay estudios sobre la inhibición del crecimiento de *H. pylori* causado por la hesperetina. Kim y col. (2021) evaluaron hesperetina en diluciones de concentración de 50 µM y 100 µM en la técnica de sembrado en agar y 6.25 µM en caldo, utilizando cepas de este patógeno de pacientes. Se logró inhibir un 20 % del crecimiento de estas cepas, inhibiendo genes relacionados con la replicación y supervivencia de *H. pylori*, como *dnaE*, *dnaN* y *dnaQ*. Se estudió la represión de la transcripción de genes como *rpoB*, que codifica unidades de ARN polimerasa, lo que reduce la síntesis de mRNA e impide la síntesis de proteínas, también reduce la actividad ureasa que es una enzima muy importante para neutralizar el ácido gástrico y permitir la colonización de *H. pylori*, reduce la motilidad evitando la expresión de genes que codifican a los flagelos, lo que impide que el patógeno se mueva al epitelio gástrico, y por último y muy importante inhibe genes de adhesión como *sabA*.

II.4. Naringina

La naringina (5,7,4´-trihidroxiflavanona) (Figura 8) es un compuesto representativo de los flavonoides, cuya fuente natural es la toronja (*C. paradisi)*, junto con el limón, los cuales son responsables de su sabor amargo. También se ha identificado en

grandes cantidades en la toronja de la especie *C. maxima* y en la naranja amarga. Una molécula de naringina contiene ocho grupos hidroxilo, los cuales son donadores de hidrógeno, haciendo que sea altamente soluble en disoluciones de pH alcalino (Csuti y col., 2022).

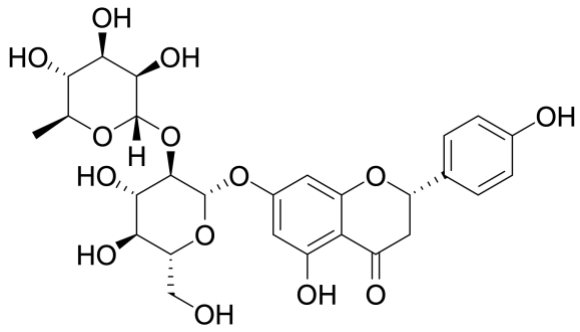

Figura 8. Estructura de la naringina.

II.4.1. Naringina y sus efectos biológicos

La naringina es una flavanona constituida por el esqueleto base de naringenina (aglicona) y el azúcar neohesperidósido (Chen y col., 2016). El albedo y el flavedo de la toronja (*Citrus paradisi*) son conocidos por poseer una alta cantidad de naringina (Sudto y col., 2009). Se ha reportado una óptima extracción de naringina en la variedad rosada de la *Citrus paradisi*, obteniéndose una cantidad de 3.41 g/kg, mediante el método de Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU) (Flores-Pérez y col., 2026). Se ha demostrado que este flavonoide tiene un efecto significativo en la reparación ósea, ya que aumenta la densidad mineral y la resistencia ósea, además de inhibir la excreción urinaria del calcio a nivel *in vivo* (Rui Chen y col., 2016). También actúa como un agente supresor de la formación de nuevos cánceres al

inhibir la proliferación celular y promover la apoptosis de las células tumorales, además de reducir su migración e invasión (Salehi y col., 2019). Asimismo, se ha reportado que un derivado semisintético de la naringina, el 7-*O*-butilnaringenina, posee una elevada actividad antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (Lee y col., 2013).

También se ha evaluado la actividad de naringenina sobre *E. faecalis* en cultivos y ensayos *ex vivo* en dientes humanos, ya que este patógeno es oportunista y causa infecciones en tratamientos endodónticos, preparando disoluciones de esta con DMSO y luego diluciones de 50 a 400 µg/mL, combinándolas con nanopartículas de plata. Se sembraron cepas de *E. faecalis* en agar BHI, y se determinó la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida en ensayos de difusión en agar, luego se realizaron los ensayos *ex vivo* en dientes humanos simulando un procedimiento de irrigación dental, recolectando el contenido de conductos radiculares para recuento de colonias. Se demostró que la naringina en combinación con las nanopartículas de plata alcanzaron mayores zonas de inhibición, obteniendo una concentración mínima inhibitoria de 40 µg/mL, y la concentración mínima bactericida siguió la misma tendencia con 100 µg/mL. En los ensayos de *ex vivo*, se demostró con microscopía electrónica que las bacterias tratadas con la naringina en combinación con las nanopartículas expresaron deformaciones en la membrana celular y pérdida de integridad (Sánchez-Villamil y col., 2025).

II.5. Naringenina

La naringenina (Figura 9), con nombre químico (2S)-2,3-dihidro-5,7-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-4*H*-1-benzopirano-4-ona, es encontrada de forma importante en especies *Citrus* y tomates. Este flavonoide deriva de la hidrólisis de la naringina. En jugos de distintas especies de cítricos, incluida *Citrus paradisi,* se ha registrado una concentración de 2.35 mg por cada 100 g de cáscara (Duda y col., 2022).

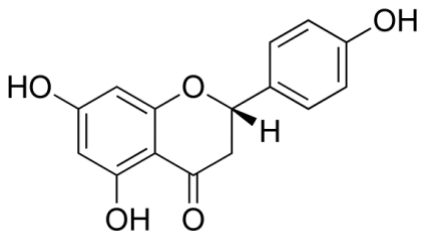

Figura 9. Estructura de la naringenina.

Estudios *in vitro* e *in vivo* en animales demuestran sus variados efectos farmacológicos, los cuales incluyen su uso en el control de enfermedades gastrointestinales, cardiovasculares, neurológicas, metabólicas, infecciosas, reumáticas y malignas, además de sus propiedades antiinflamatorias, antimutagénicas, anticancerígenas, antiaterogénicas y antimicrobianas (Salehi y col., 2019).

Como otros flavonoides, la eficacia de la naringenina es dosis-dependiente. Esta tiene la capacidad de eliminar los radicales libres, por su capacidad antioxidante; también evita el daño hepático, disfunción renal y hepática por sustancias como el etanol, el plomo y la oxitetraciclina. También demostró eficacia contra la hepatitis C en hepatocitos cultivados, impidiendo a las células secretar lipoproteínas de muy baja

densidad. Otros virus en los que se ha probado su efecto antiviral son el SARS-CoV-2, HSV-1 y HSV-2 (Nepomuceno y col., 2023).

II.5.1. Naringenina y sus efectos biológicos

La naringenina y sus derivados tienen propiedades antibacterianas contra bacterias gram positivas, como algunas cepas resistentes (MRSA). Estudios demuestran un efecto antibacteriano contra *P. aeruginosa*, inhibiendo la formación de biopelículas y la evasión del sistema inmune por medio de piocianina y elastasa, los cuales son factores de virulencia importantes en esta cepa (Hu y col., 2025).

Numerosos estudios demuestran un amplio efecto antibacteriano por parte de la naringenina en variados microorganismos de interés clínico. La naringina extraída de *C. sativa* demostró sus efectos anti-biopelículas y bactericidas contra cepas de *S. aureus* y *H. pylori*, similares a medicamentos ya validados (Zengin y col., 2018). La naringenina actúa de forma inhibitoria contra la actividad de cepas de *H. pylori* resistentes a antibióticos como la eritromicina y la levofloxacina (Trung y col., 2020).

Un estudio llevado a cabo con la evaluación de inhibición del crecimiento de cepas de *S. mutans* utilizando soluciones de naringenina a 100 y 200 mg/mL, reveló con técnicas de PCR la supresión de genes como *icaAD, gtfB comE, luxS y comD*, relacionados con la expresión y por ende formación de biopelículas (Yue y col., 2018).

Otro factor de virulencia importante en el que se evaluó la naringenina fueron las citotoxinas. Zhang y colaboradores probaron disoluciones de naringenina a dosis bajas, 2 µg/mL, en cepas de *S. aureus*, logrando inhibir la producción de α-toxina

cuya reducción de la expresión se midió por western blot (Zhang y col., 2013).

II.6. Chalconas

Las chalconas son metabolitos secundarios, bioprecursores de las rutas biosintéticas de los flavonoides. Tienen una estructura C6-C3-C6 con una gran diversidad de efectos farmacológicos. Las chalconas se encuentran principalmente en frutos y hortalizas, también en legumbres, granos, té, vino tinto, cerveza y café. La propiedad que se les suele atribuir con mayor importancia es la antioxidante, la cual contribuye a reducir el daño asociado a enfermedades inflamatorias, neurológicas, infecciosas y cardiovasculares. También se les han atribuido propiedades antimicrobianas, antiosteoporosis, anticancerígenas, antifúngicas, antihiperglicémicas y antiparasitarias. Las chalconas sintéticas son de gran interés, debido a la limitada accesibilidad de las chalconas naturales. Por lo anterior, no se ha podido estudiar a fondo las propiedades fisicoquímicas de las chalconas; tampoco se ha logrado llegar a niveles efectivos de biodisponibilidad en ensayos preclínicos, y no se ha logrado determinar su perfil ADMET. Más estudios son necesarios para determinar algunas de sus propiedades farmacocinéticas y toxicocinéticas, por lo que hay un amplio campo de investigación aún por llevar a cabo que podría abrir nuevos caminos para el descubrimiento de novedosas moléculas con potencial terapéutico (Rudrapal y col., 2021).

II.6.1. Chalconas y sus efectos biológicos

Las chalconas son estructuras de cadena abierta derivados de la apertura del anillo C. Esta estructura es fundamental, ya que se le atribuyen sus múltiples actividades

biológicas, entre ellas las propiedades antimicrobianas (Nawaz y col., 2024). En su estructura, se pueden incorporar diversos sustituyentes, lo que permite que se potencien sus efectos biológicos. También se ha comprobado que sus efectos biológicos se deben a la existencia del doble enlace en conjugación con el grupo carbonilo en su estructura (Adhikari y col., 2025). Asimismo, se ha reportado que cuanto más pequeño es su tamaño molecular, aumenta su actividad antimicrobiana (Dhaliwal y col., 2022). Los grupos fenólicos en una chalcona tienen afinidad por las proteínas presentes en los microorganismos, lo que hace que se pueda inhibir su desarrollo y crecimiento (Rocha y col., 2021). La actividad antimicrobiana de estos compuestos también se debe a reacciones ocurridas entre estos y las membranas celulares de los microorganismos, adhiriéndose a las paredes celulares. Chalconas evaluadas para esta propiedad arrojan resultados de inhibición contra *E. coli, S. typhi* y *S. aureus* (Okolo y col., 2021). Li y colaboradores (2025) sintetizaron 21 derivados de chalcona que incorporan un grupo difenil éter y evaluaron su actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. El compuesto nombrado 5u, sustituido con un grupo 4-(4-clorofenoxi), destacó por presentar una concentración mínima inhibitoria de 25.23 μM frente a *S. aureus*. Este resultado identificó al compuesto como un candidato para futuras investigaciones sobre derivados de chalcona con actividad antibacteriana.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Obtener mediante semisíntesis las chalconas derivadas de naringina, naringenina, hesperidina y hesperetina, y evaluar su actividad antibacteriana.

III.2. Objetivos particulares

- Sintetizar las chalconas derivadas de naringina, naringenina, hesperidina y hesperetina mediante catálisis básica.
- Efectuar la caracterización de los compuestos obtenidos mediante resonancia magnética nuclear (RMN).
- Evaluar la actividad antibacteriana de las chalconas sintetizadas contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA

IV.1. Análisis de los flavonoides obtenidos en las distintas reacciones

El análisis de los flavonoides usados como materia prima y sintetizados se realizó mediante cromatografía de líquidos acoplado a un detector de arreglo de fotodiodos (PDA). Para este análisis se utilizó como fase estacionaria una columna Zorbax C_{18} (4.6 x 150 mm, 5 µm) (Agilent) y una $\lambda_{máx}$ = 280 nm y como fase móvil un gradiente de agua acidulada (0.0125N) con acetonitrilo a un flujo de 1 mL/min (Cuadro 1).

Cuadro 1. Gradiente de elución para el análisis de los flavonoides.

Tiempo (minutos)	Agua acidulada [0.0125 N]	Acetonitrilo
0	95 %	5 %
2	95 %	5 %
5	85 %	15 %
20	50 %	50 %
25	95 %	5 %
35	95 %	5 %

Los compuestos fueron identificados mediante la comparación de su tiempo de retención con el de estándares comerciales.

IV.2. Semisíntesis de las chalconas derivadas de hesperidina, hesperetina, naringina y naringenina

En un matraz bola de 25 mL limpio, seco y provisto de un agitador magnético, se

colocaron 0.25 mmoles del flavonoide correspondiente y 10 mmol de hidróxido de sodio. Se usó agua y etanol en una relación 1:1 como disolvente. Esta mezcla se agitó y se calentó a 130 °C durante 4 horas. Transcurrido este tiempo, se detuvo la agitación y se dejó atemperar a temperatura ambiente. Posteriormente, se le adicionaron 10 mL de una disolución de ácido clorhídrico 2 M para neutralizar. Finalmente, se extrajo la fase orgánica con tres lavados de 5 mL de acetato de etilo cada uno; la fase orgánica se concentró al vacío con ayuda de un rota-evaporador.

La semisíntesis las chalconas se monitoreó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, siguiendo el método cromatográfico descrito anteriormente.

IV.3. Caracterización estructural mediante resonancia magnética nuclear (RMN)

Se realizó la caracterización química de los flavonoides sintetizados mediante resonancia magnética nuclear (RMN) de 500 MHz. Para este análisis, se pesaron 15 mg del compuesto a caracterizar y se disolvieron en 1 mL de piridina deuterada. La mezcla se colocó en un tubo para RMN y se registraron sus espectros unidimensionales (^{1}H y ^{13}C) y bidimensionales (HSQC, COSY y HMBC).

IV.4. Evaluación antibacteriana

La actividad antibacteriana de los compuestos se evaluó mediante un ensayo de contacto directo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388. Para ello, se prepararon suspensiones bacterianas

estandarizadas a 1 × 10^6 y 1 × 10^5 UFC/mL. De manera paralela, se prepararon soluciones stock de cada compuesto en PBS en condiciones estériles. A partir de estas, se prepararon diluciones seriadas en PBS a un volumen de 100 µL. Las concentraciones evaluadas se seleccionaron con base en ensayos preliminares de sensibilidad. A cada microtubo que contenía la dilución del compuesto se agregaron 100 µL de la suspensión bacteriana (1 × 10^5 UFC/mL), obteniendo un volumen final de 200 µL por tratamiento. Posteriormente, las mezclas se incubaron a 37 °C durante 1 h y 24 h, con el fin de evaluar tanto la actividad inicial (1 h) como el comportamiento prolongado de inhibición bacteriana (24 h). Después de cada período de incubación, la viabilidad bacteriana se evaluó mediante la técnica de estriado por arrastre con perlas de vidrio estériles. Para ello, se dispensaron 20 µL de cada tratamiento sobre placas Petri con medio Mueller–Hinton (MH) solidificado. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h, tras lo cual se cuantificó la formación de unidades formadoras de colonia (UFC) como indicador directo de supervivencia bacteriana. Este procedimiento permitió comparar de manera cuantitativa la eficacia antimicrobiana de cada compuesto frente a ambas especies bacterianas, considerando tanto la concentración como el tiempo de exposición. Para el cálculo del porcentaje de inhibición mediante la ecuación 1, el valor de $UFC_{control}$ correspondió al recuento celular de la suspensión bacteriana en presencia exclusivamente del vehículo (PBS) en condiciones idénticas de tiempo y temperatura que los tratamientos. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

$$Ecuación\ 1\text{: \% de inhibición} = \left(\frac{UFC_{control} - UFC_{tratamiento}}{UFC_{control}}\right) \times 100$$

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1. Semisíntesis de la chalcona de naringina

Para la obtención de las distintas chalconas se evaluaron distintas bases para realizar la apertura del anillo C de la flavanona. La optimización de las condiciones de reacción se realizó con la transformación de la naringina para obtener la chalcona correspondiente. Para lograr dicha optimización, se evaluaron distintas condiciones tales como el tiempo de reacción, la base empleada, el disolvente y la temperatura, para la conversión de la naringina a su chalcona (Figura 10).

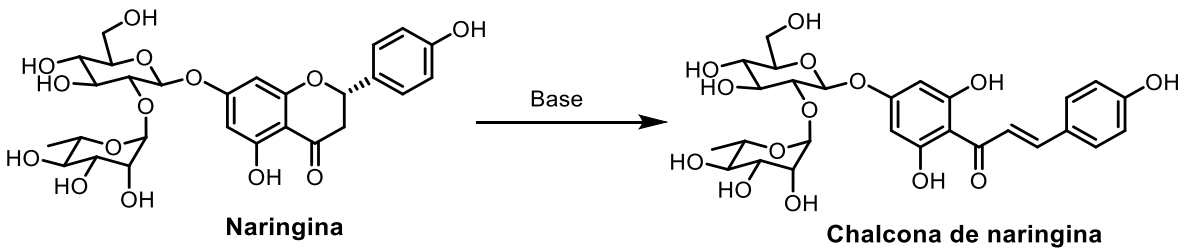

Figura 10. Semisíntesis de la chalcona de naringina mediante catálisis básica.

Los resultados obtenidos de estos ensayos se resumen en el Cuadro 2. Con base en estos resultados, se encontró que la reacción se lleva a cabo con mayor conversión utilizando como disolvente la mezcla agua-etanol en una proporción 50:50 e hidróxido de sodio como base (ensayo 1, Cuadro 2).

Cuadro 2. Optimización de las condiciones de reacción para la obtención de la chalcona de naringina.

Ensayo	Base	Concentración (M)	Disolvente	T° (°C)	Tiempo (min)	Conversión (%)
1	NaOH	0.5	H_2O: EtOH	90	30	80
2	NaOH	0.5	H_2O:Propilenglicol	130	60	50
3	NaOH	1	H_2O:Propilenglicol	130	60	0
4	NaOH	1	H_2O:Propilenglicol	130	120	0
5	KOH	10	H_2O: EtOH	90	120	0
6	DBU	10	H_2O: MetOH	90	30	50

Es importante mencionar que el porcentaje de conversión en todas las reacciones se determinó mediante HPLC-DAD. En la Figura 11, se observa el cromatograma de la chalcona de naringina sintetizada a un tiempo de retención de 14.17 minutos. A partir de su respectivo cromatograma, se pudo obtener su espectro ultravioleta. En el espectro UV de este compuesto se observa que la longitud de onda de máxima absorbancia es de 337 nm, lo cual contribuye a deducir que se trata de un compuesto con mayor número de dobles enlaces conjugados comparado con el material de partida que se encuentra a 288 nm. El cambio en el tiempo de retención del pico en el cromatograma y en la $\lambda_{máx}$ del espectro atribuido a este pico confirma que ocurrió la apertura del anillo C de la naringina.

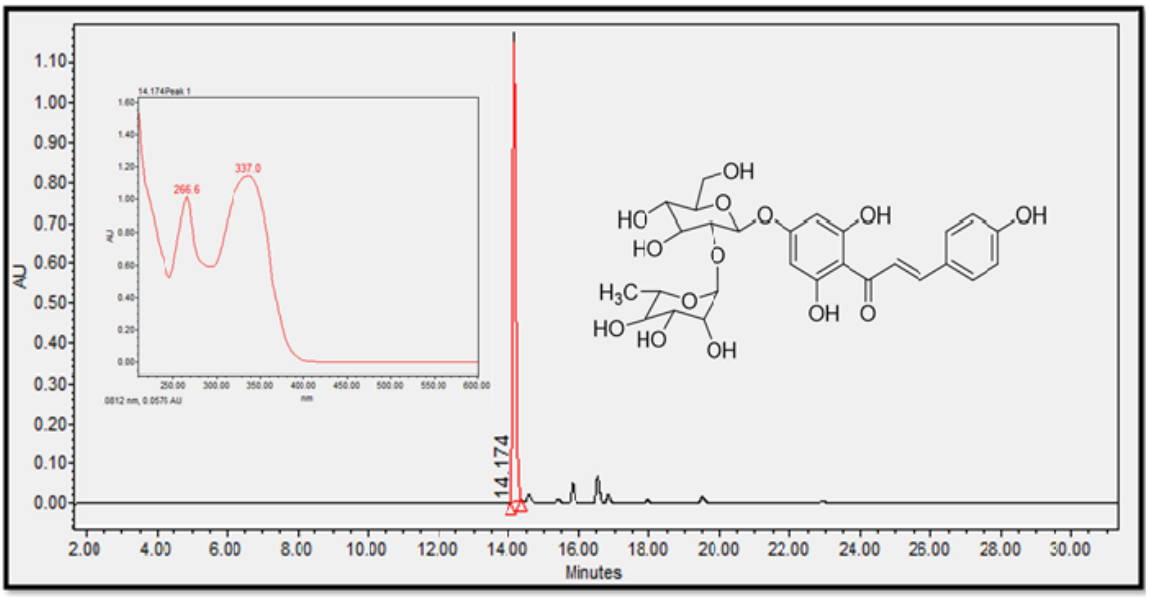

Figura 11. Cromatograma de la chalcona de naringina.

Además de lo anterior, se observó también que al realizar la transformación ocurre un cambio en el color y aspecto físico del producto obtenido (Figura 12).

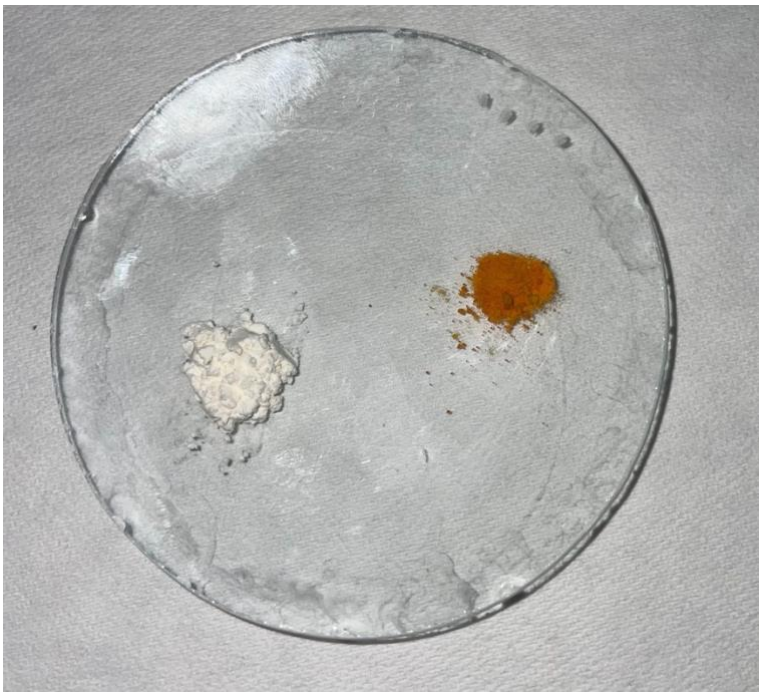

Figura 12. Fotografía de la naringina (izquierda) y de su chalcona (derecha).

Con base en las pruebas realizadas con las distintas bases (Cuadro 2), también se realizaron distintas pruebas para optimizar el % de conversión y el tiempo de reacción. Para dichas pruebas se realizó la reacción con NaOH (0.5 M), utilizando como disolvente una mezcla de agua:etanol (1:1) y a una temperatura de 90 °C. En el Cuadro 3 se presentan los resultados obtenidos a partir de estos ensayos.

Cuadro 3. Optimización del tiempo de reacción para la obtención de la chalcona de naringina.

Ensayo	Base	Concentración (M)	Disolvente	T° (°C)	Tiempo (min)	Conversión (%)
1	NaOH	0.5	H_2O: EtOH	90	30	80
2					60	50
3					120	0
4					5	99
5					10	90
6					240	50

Las distintas pruebas realizadas mostraron que la condición que proporcionó el mayor % de conversión fue con un tiempo de reacción de 5 minutos (ensayo 4, Cuadro 3), mientras que, a mayor tiempo de reacción, esta puede tornarse reversible, es decir, que una vez abierto el anillo C, este puede ciclarse nuevamente, dando como resultado la flavanona de partida. En la figura 13, se muestra una propuesta del mecanismo de formación de la chalcona a partir de la naringina y de obtención de la naringina a partir de la chalcona. En la transformación para obtener la chalcona,

la base promueve la apertura del anillo C al sustraer uno de los protones α al carbonilo de la flavanona (**Ruta A**) obteniéndose un enolato, el cual promueve la apertura del anillo formando un fenóxido. Este último se protona obteniéndose la chalcona correspondiente. Sin embargo, a partir de la chalcona, la catálisis básica también favorece la obtención de la flavanona (**Ruta B**). La base puede sustraer el protón unido al fenol formando un fenóxido. Una vez formado el fenóxido, ocurre el ataque de adición conjugada de tipo Michael sobre el carbono β de la cetona α,β-insaturada, lo que cicla nuevamente el compuesto. Es importante mencionar que esta ciclación no ocurre de forma estereoselectiva, por lo que se obtiene una mezcla de la flavona con configuración S y R. Finalmente, el enolato formado a partir de la ciclación es protonado para formar la flavanona correspondiente.

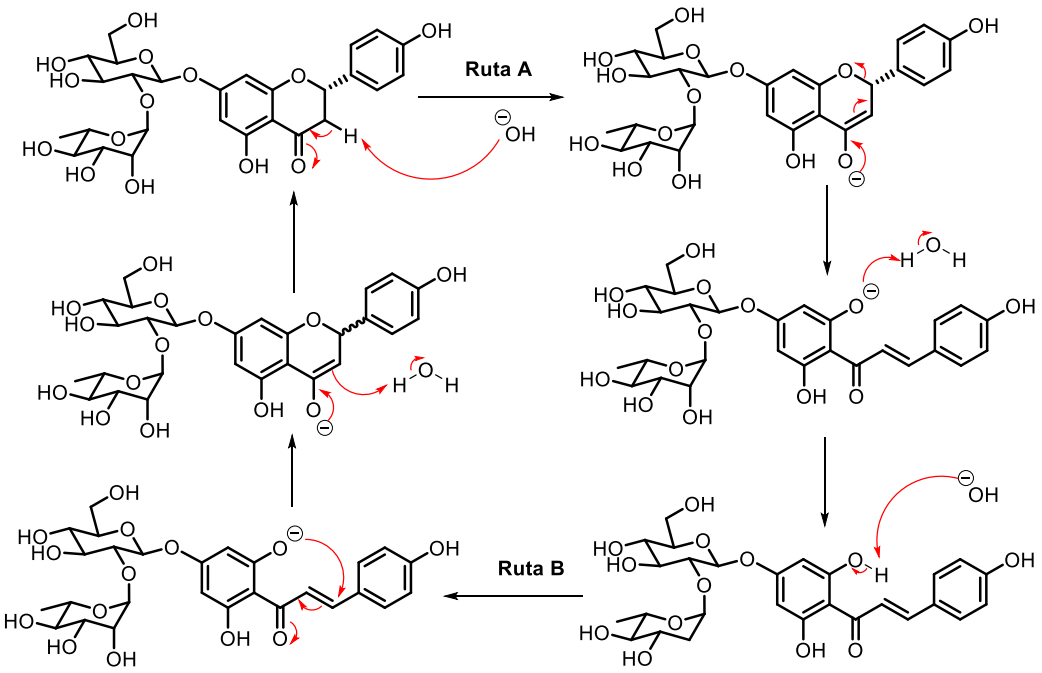

Figura 13. Mecanismo plausible para la obtención de la chalcona a partir de la naringina (Ruta A) y de la naringina a partir de la chalcona (Ruta B).

V.1.1. Caracterización de la chalcona de naringina

Para confirmar inequívocamente la obtención de la chalcona de naringina, se obtuvieron los espectros de ^{1}H y de ^{13}C de RMN para este compuesto. En el espectro de ^{1}H de RMN (Figura 14) se observan a campo más bajo las señales correspondientes a los protones de las posiciones α y β de la chalcona. También se observan las señales de los protones aromáticos entre 7.7 y 6.0 ppm. También destacan las señales de los protones anoméricos 1″ y 1‴ de los azúcares entre 5.5 y 5.0 ppm, las señales de los protones monoxigenados de los azúcares entre 4.0 y 3.0 ppm. Finalmente, se observa en campo alto la señal del metilo 6‴ a 1.6 ppm de la unidad de ramnosa.

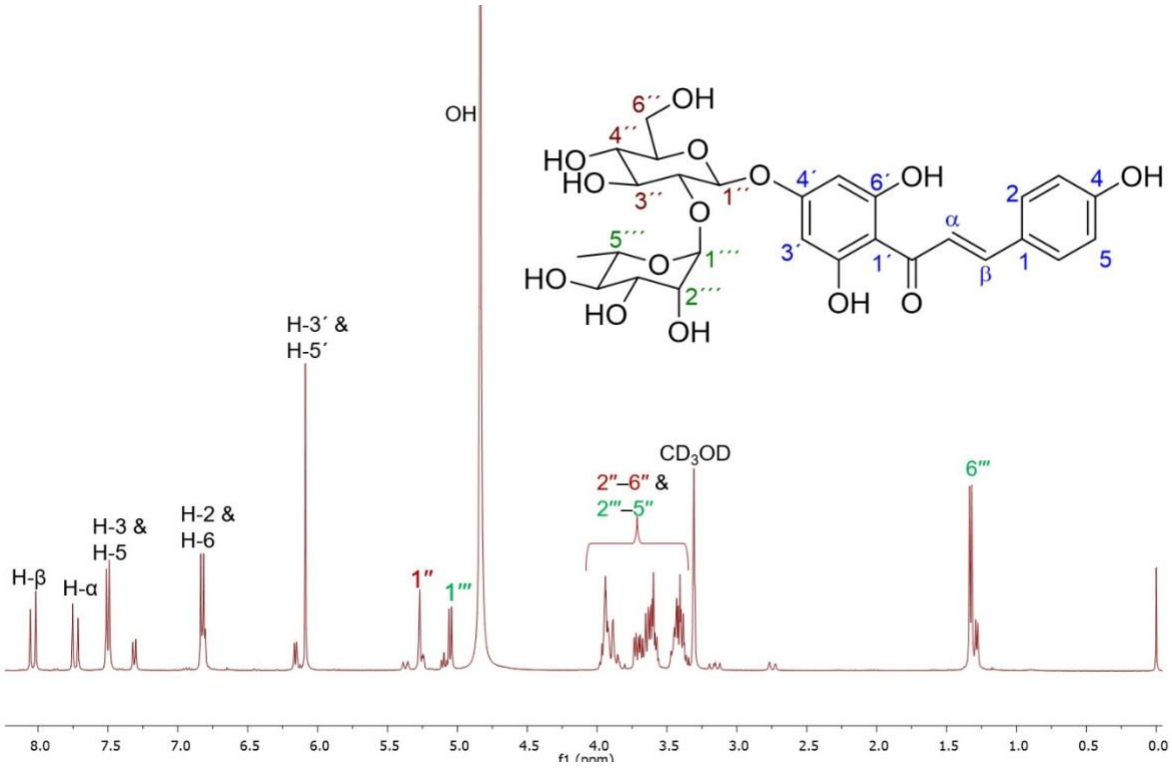

Figura 14. Espectro de RMN de ^{1}H de la chalcona de naringina en D_3OD.

También se obtuvo el espectro de RMN de ^{13}C de esta chalcona (Figura 15). En el

espectro de carbono se observa el grupo carbonilo a 193.8 ppm. Además de los picos correspondientes a los carbonos aromáticos de ambos anillos de la chalcona entre 166 y 110 ppm. También se confirma la presencia de los carbonos correspondientes a la cetona α, β-insaturada en la estructura de la chalcona; observándose el carbono β a un desplazamiento químico de 143.8 ppm, mientras que el carbono α se observa a 125.0 ppm. Con respecto a los picos correspondientes a los azúcares, los metinos oxigenados se observan entre 110 y 70 ppm. Finalmente, a campo alto del espectro se observa el hidroximetileno 6″ de la unidad de glucosa a 61.9 ppm y el metilo 6‴ de la ramnosa a 18.8 ppm.

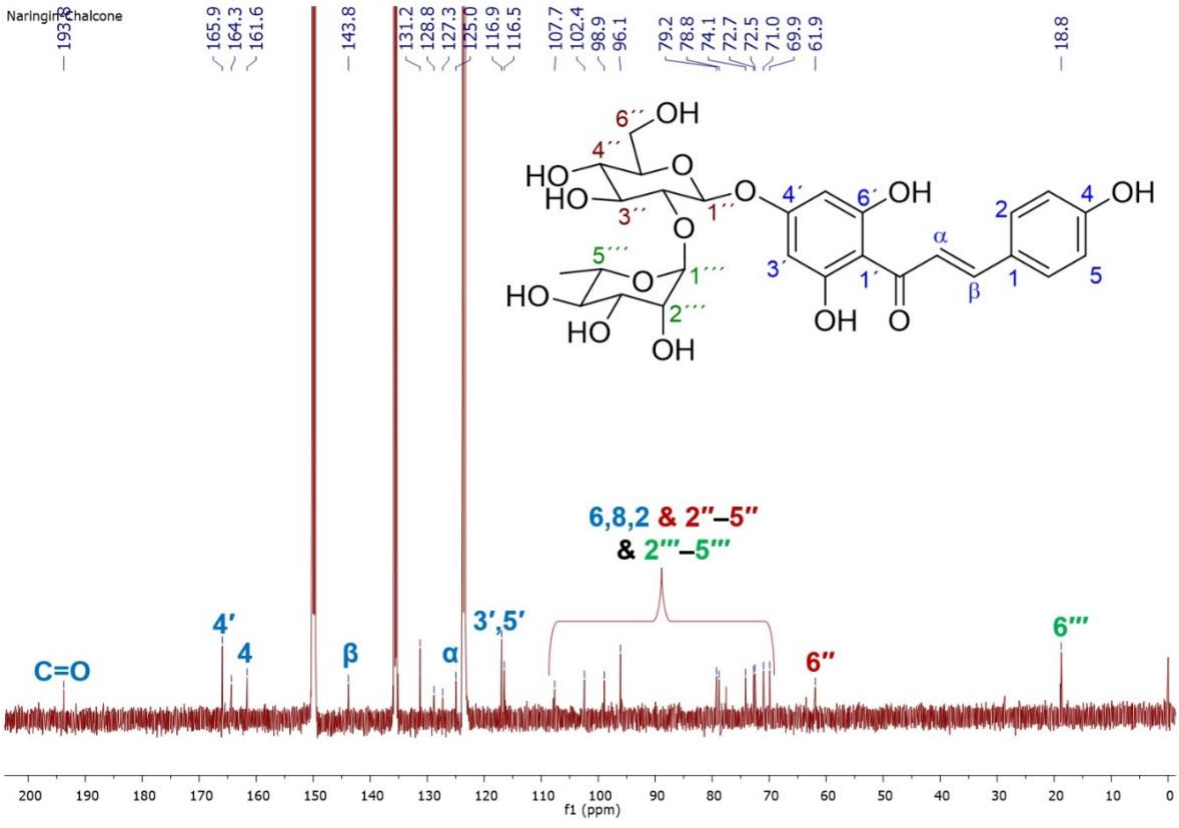

Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C de la chalcona de naringina en CD_3OD.

V.2. Semisíntesis de la chalcona de naringenina

La chalcona de naringenina se obtuvo haciendo reaccionar la naringenina en las condiciones de reacción encontradas previamente (Figura 16), es decir, utilizando NaOH como base, la mezcla etanol-agua como disolvente y a una temperatura de 75 °C, en un tiempo de reacción de 5 minutos.

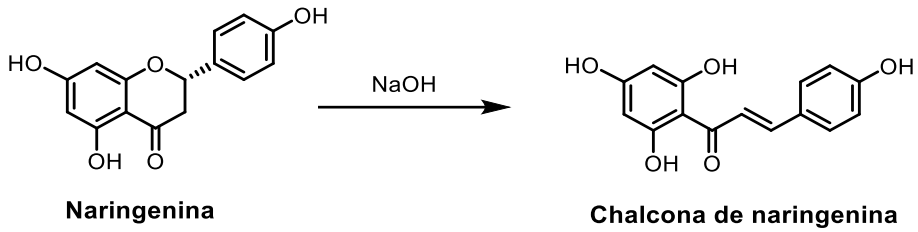

Figura 16. Semisíntesis de la chalcona de naringenina a partir de naringenina.

El avance de la transformación hacia la chalcona se siguió mediante cromatografía en capa fina (Figura 17), para la cual se utilizó como fase móvil una mezcla de hexano: acetato de etilo en una relación 1:1. La CCF mostró un rf = 0.74 para la naringenina, mientras que para la chalcona se obtuvo un rf = 0.50. A la izquierda se muestra la naringenina y, en los tres carriles centrales, la reacción.

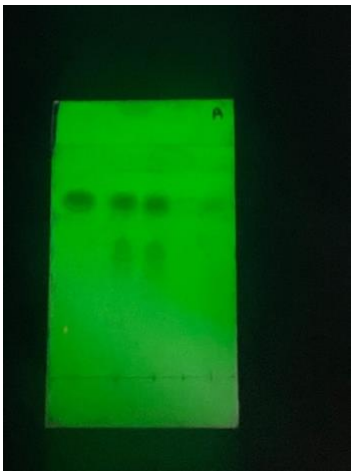

Figura 17. Cromatografía en capa fina de la síntesis de la chalcona de naringenina.

La conversión hacia la chalcona alcanzó un máximo del 50 %. Tomando en cuenta

estos resultados, se exploró una ruta alternativa para obtener la chalcona de naringenina (Figura 18). La ruta de síntesis alterna consistió en partir de la chalcona de naringina previamente sintetizada y realizar su hidrólisis con el objetivo de aumentar el rendimiento obtenido hasta ahora (**Ruta A**, Figura 18); sin embargo, aunque la hidrólisis de los azúcares ocurre con una conversión del 99 %, la presencia del medio ácido y el calentamiento representa una gran desventaja, ya que estas condiciones provocaron que la chalcona se cicle nuevamente obteniéndose como producto una mezcla de un 90 % de naringenina y apenas un 10 % de chalcona de naringenina. Con base en esta prueba se puede concluir que la mejor ruta para obtener la chalcona de naringenina es a través de la **Ruta B**, la cual proporcionó un rendimiento global del 49.5 % (99 % de la reacción de hidrólisis y 50 % de la apertura del anillo C); mientras que la **Ruta A** ofrece tan solo un rendimiento global del 9.5 % (50 % de la apertura del anillo C y 10 % de la reacción de hidrólisis de la chalcona).

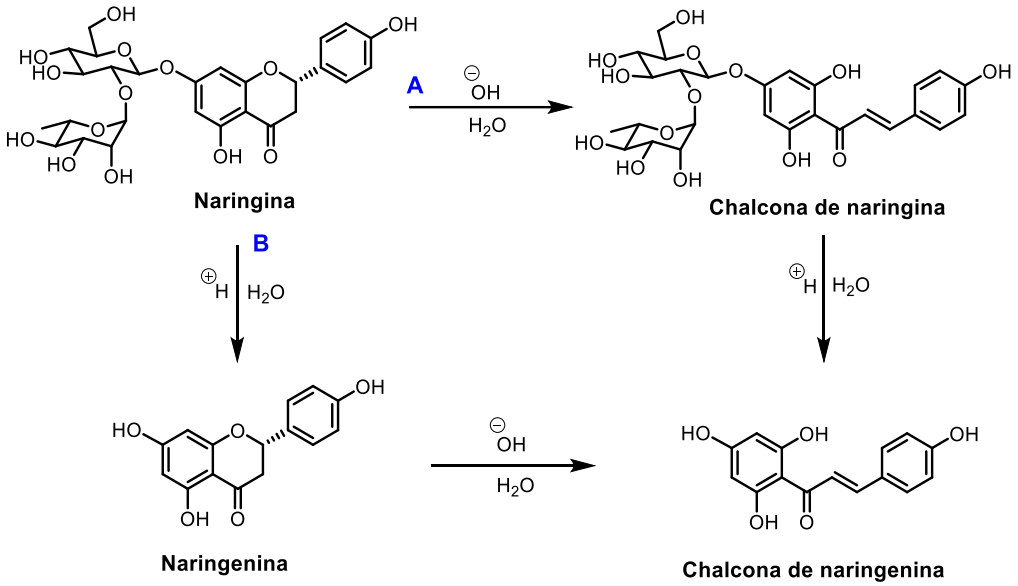

Figura 18. Rutas para la obtención de la chalcona de naringenina.

Debido a la conversión lograda para obtener este compuesto, se realizó su

purificación mediante cromatografía en columna (CC) abierta. En la Figura 19 se observa la cromatoplaca de la chalcona purificada por CC, la reacción y la materia prima.



Figura 19. CCF de la chalcona de naringenina purificada. De izquierda a derecha, los carriles corresponden a: 1) naringenina, 2) crudo de reacción, 3) y 4) naringenina purificada mediante CC.

La chalcona de naringenina se identificó mediante HPLC-DAD. En la figura 20 se observa el cromatograma de esta chalcona mostrando un tiempo de retención de 20.53 minutos y una pureza del 99 %. A partir del cromatograma se obtuvo su espectro UV, encontrándose para este compuesto un máximo de absorción de 364.2 nm, lo cual también confirma la apertura del anillo C de la estructura del material de partida.

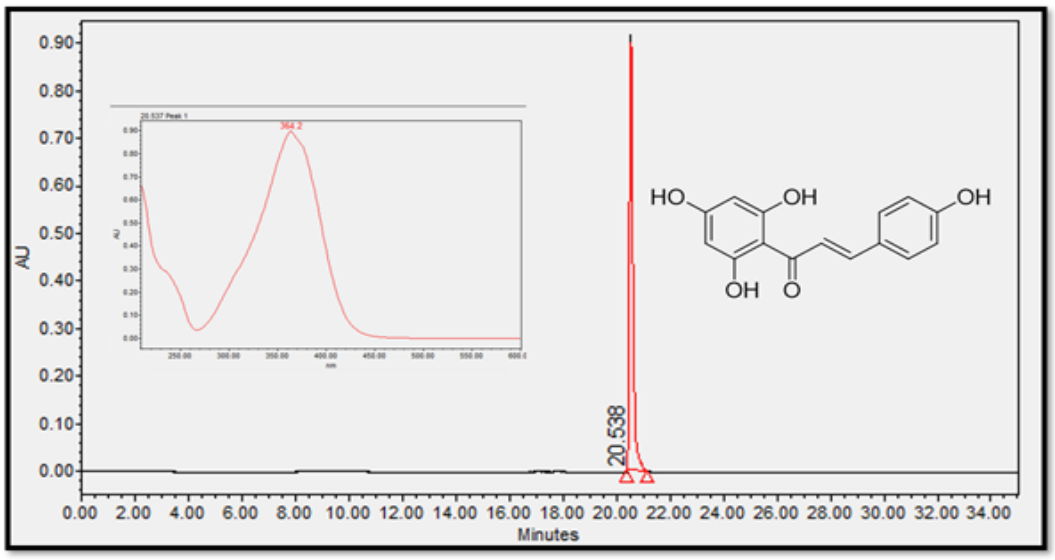

Figura 20. Cromatograma de la chalcona de naringenina.

Para esta transformación, también se observó un cambio en el color y aspecto físico del producto obtenido (Figura 21).

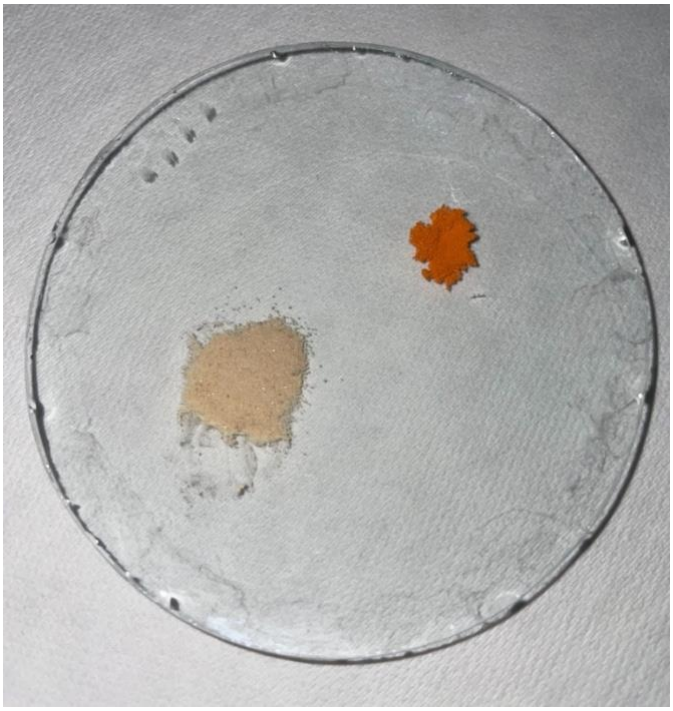

Figura 21. Fotografía de la naringenina (izquierda) y de su chalcona (derecha).

V.2.1. Caracterización de la chalcona de naringenina

También se corroboró la estructura química de la chalcona de naringenina mediante el análisis de sus espectros de ^{1}H y de ^{13}C de RMN. En el espectro de RMN de ^{1}H (Figura 22) se observan a campo más bajo las señales correspondientes a los protones de las posiciones β (7.9 ppm) y α (7.65 ppm), ambas como dobletes, con una constante de acoplamiento de 15.5 Hz, lo que confirma la geometría *trans* del doble enlace de la chalcona. También se observan los picos de los protones aromáticos entre 7.7 y 6.6 ppm, todos como dobletes con distintas constantes de acoplamiento.

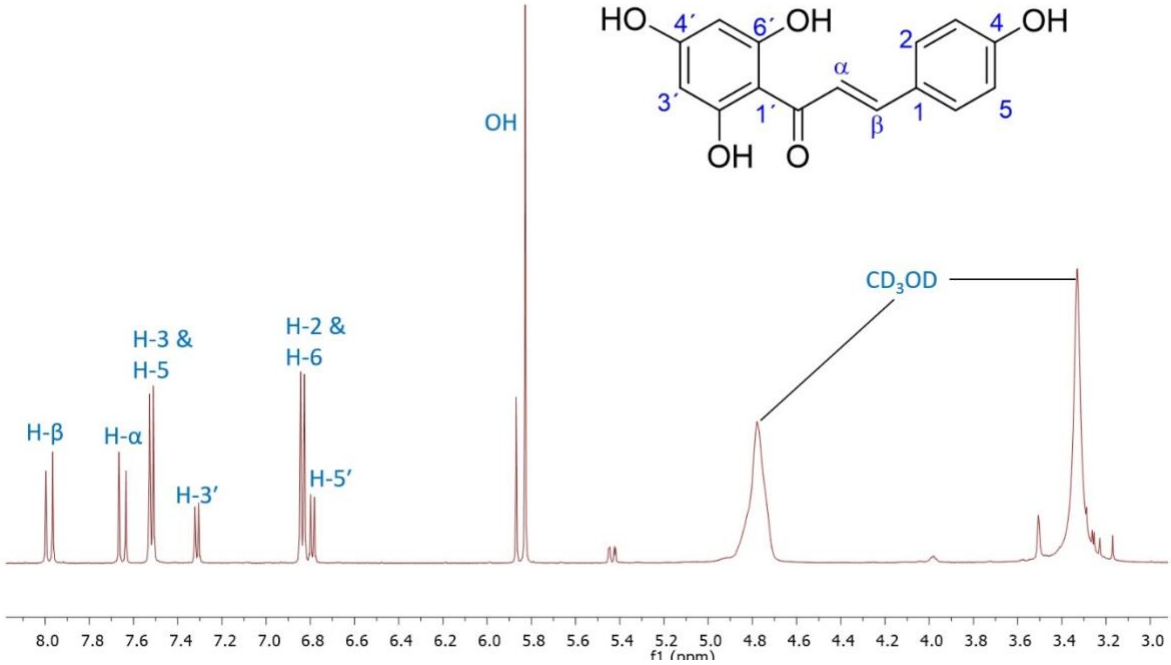

Figura 22. Espectro de RMN de ^{1}H de la chalcona de naringenina en CD_3OD.

En el espectro de ^{13}C de RMN de este compuesto (Figura 23), se observa el grupo carbonilo a un desplazamiento químico de 192.1 ppm. Destacan los picos correspondientes a los carbonos α y β de la chalcona. El carbono β se observa en

un desplazamiento químico de 142.3 ppm, mientras que el carbono α se muestra a 124.3 ppm. Finalmente, se puede confirmar que las demás señales corresponden a los carbonos aromáticos de la estructura de este compuesto.

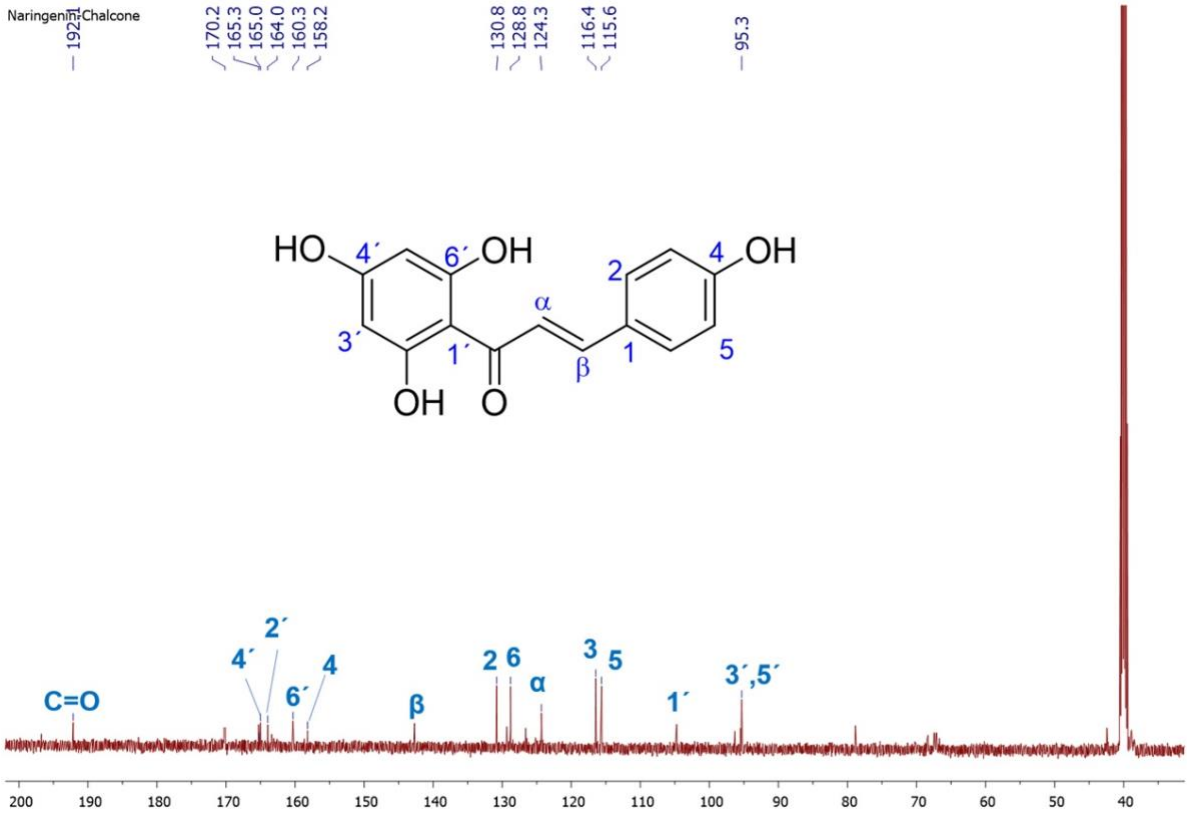

Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C de la chalcona de naringenina en CD_3OD.

V.3. Semisíntesis de la chalcona de hesperidina

De igual manera que las reacciones anteriores, la chalcona de hesperidina se sintetizó mediante la reacción en condiciones básicas de la hesperidina (Figura 24) disuelta en etanol-agua, a una temperatura de 75 °C y se estudiaron distintos tiempos de reacción (Cuadro 4).

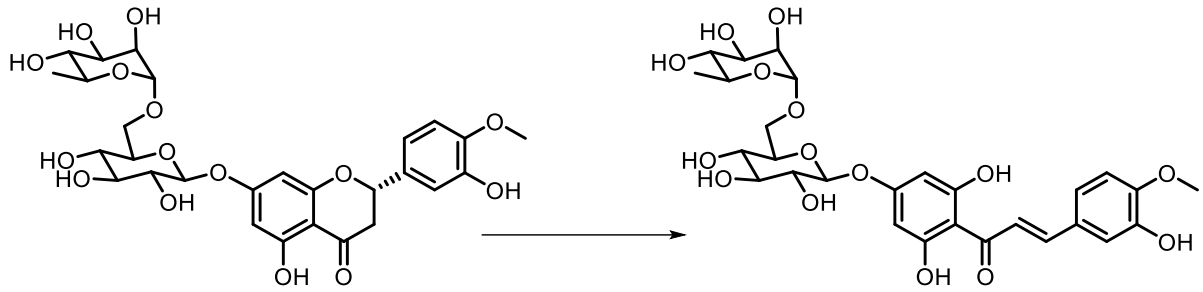

Figura 24. Semisíntesis de la chalcona de hesperidina a partir de hesperidina.

El porcentaje de conversión de la hesperidina chalcona se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Dicho porcentaje se obtuvo a través de la cuantificación de la hesperidina presente en el crudo de reacción. La cuantificación se realizó usando una curva de calibración de adición estándar. La gráfica de la curva de calibración se muestra en la Figura 25, exhibiendo un coeficiente de determinación (R^2) de 0.992. La concentración final de hesperidina residual se calculó a partir de la ecuación de la recta obtenida por regresión lineal.

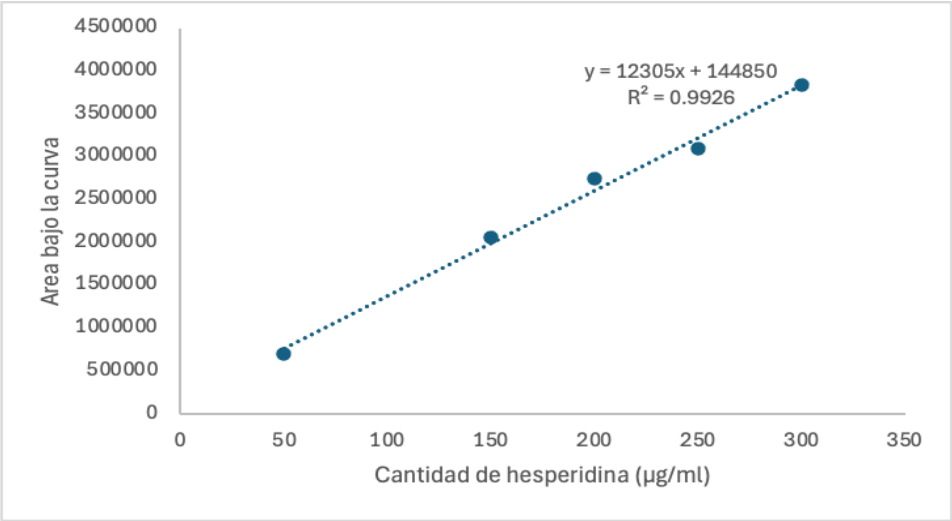

Figura 25. Curva de calibración para la cuantificación de hesperidina.

Para la optimización de esta reacción se evaluaron distintos tiempos de reacción. En el Cuadro 4, se reportan los resultados obtenidos como el porcentaje de conversión. En este cuadro se observa que a los distintos tiempos se obtienen rendimientos de bajos a moderados, lo que indica nuevamente que la reacción tiende a ser reversible como discutimos previamente.

Cuadro 4. Optimización del tiempo de reacción para la obtención de la chalcona de hesperidina.

Experimento	Base	Concentración (M)	Disolvente	T° (°C)	Tiempo (min)	Conversión (%)
1	NaOH	0.5	H_2O: EtOH	75	5	38
2					5	
3					10	22
4					10	32
5					15	43

Para la síntesis de la chalcona de hesperidina, no se logró obtener un porcentaje de conversión mayor al 50 %, por lo que el producto se purificó mediante cromatografía en columna abierta (Figura 26) o mediante cromatografía en capa fina preparativa.



Figura 26. Fotografía de la cromatografía en columna realizada para la purificación de la chalcona de hesperidina.

De igual manera, el análisis de este compuesto se realizó mediante HPLC (Figura 27), en el cual se obtuvo un tiempo de retención de 16.2 minutos para este compuesto y un máximo de absorción de 376 nm, lo que permite comprobar una mayor extensión del sistema conjugado de la chalcona comparada con la materia prima. Es importante mencionar que dicho cromatograma se obtuvo a una longitud de onda de 376 nm, por lo que no se observa la presencia de materia prima, ya que esta última posee un máximo de absorción a 280 nm. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, se realizó su cuantificación para conocer la cantidad de esta chalcona obtenida en cada prueba realizada.

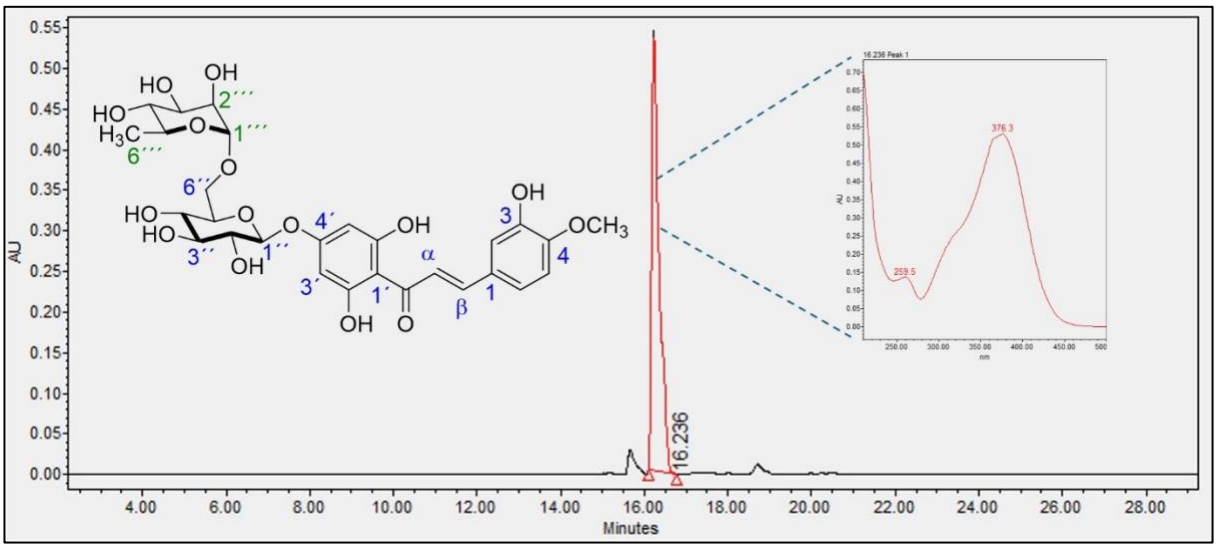

Figura 27. Cromatograma de la chalcona de hesperidina.

Asimismo, se observó que, una vez terminada la reacción, se produjo un cambio de coloración en el producto final, pasando de un polvo de color crema a un polvo de color rojo ladrillo (Figura 28).

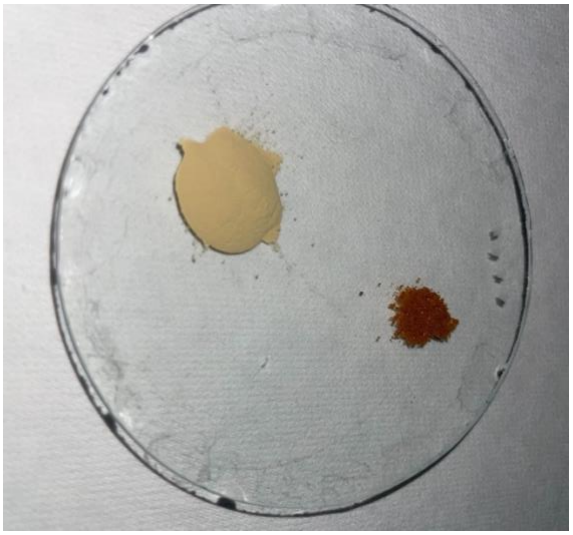

Figura 28. Muestras de polvos de hesperidina (izquierda) y de su chalcona (derecha).

V.3.1. Caracterización de la chalcona de hesperidina

La identidad química de la chalcona de hesperidina se realizó también mediante el

estudio de sus espectros de ^{1}H y de ^{13}C de RMN. En el espectro de RMN de ^{1}H (Figura 29), se observan a campo más bajo dos dobletes a 8.67 ppm (protón β) y 8.22 ppm (protón α) con una constante de acoplamiento de 15.6 Hz. Los picos entre 7.72 y 6.5 ppm corresponden a los protones aromáticos (2, 5, 6, 3′ y 5′). También, se muestran los picos correspondientes al azúcar rutinosa, observándose los picos de los protones anoméricos en 5.63 y 5.49 ppm, los protones unidos a carbonos base de oxígeno entre 4.7 y 4.0 ppm. Finalmente, se observan en campo alto los protones del metoxilo presente en la posición 4 a 3.72 ppm y el metilo de la unidad de ramnosa a 1.60 ppm.

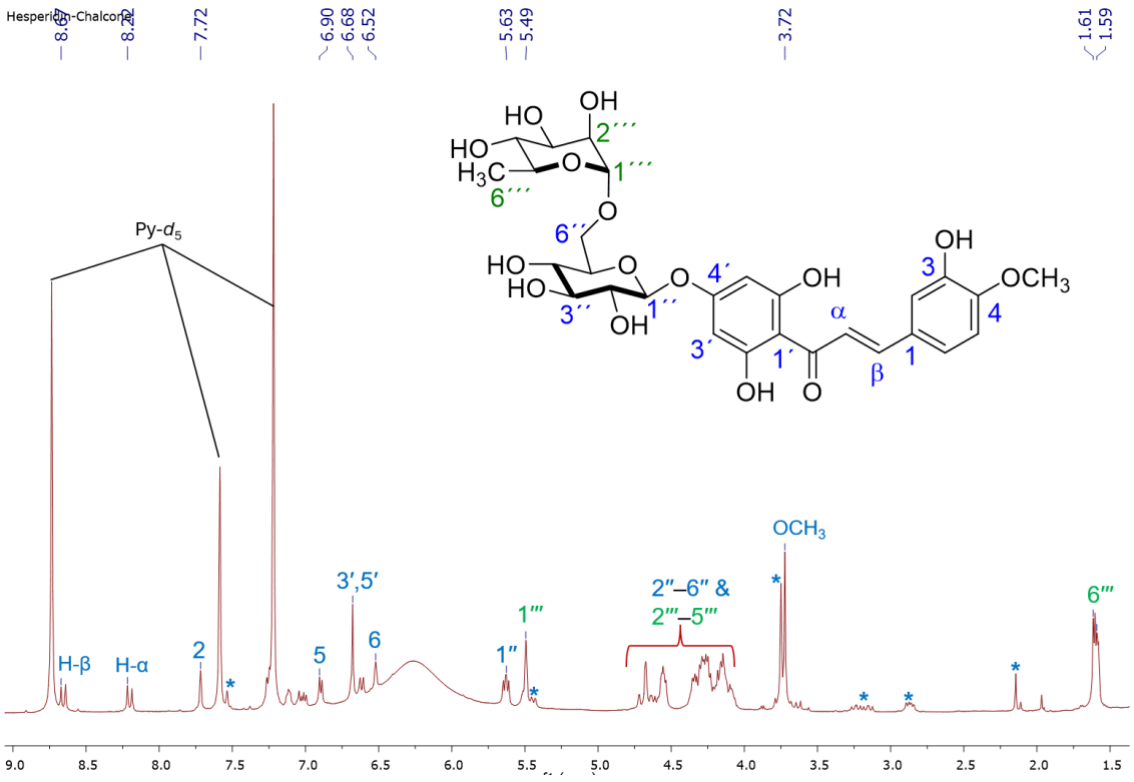

Figura 29. Espectro de RMN de ^{1}H de chalcona de hesperidina en C_5D_5N.

*Impurezas

En la Figura 30 se muestra el espectro de ^{13}C de RMN para este compuesto. A campo

bajo, se observa el pico correspondiente al grupo carbonilo en un desplazamiento químico de 193.4 ppm. También se observan los picos de los carbonos α y β de la chalcona a 124.3 ppm y 142.3 ppm, respectivamente. Además, se pueden confirmar las señales de los carbonos aromáticos de la estructura de este compuesto y los picos de los carbonos base de oxígeno de los azúcares presentes. Finalmente, se puede observar en campo alto la señal correspondiente al metoxilo unido al carbono de la posición 4 a 55.5 ppm y la señal del metilo de la ramnosa (6´´´) a 18.4 ppm.

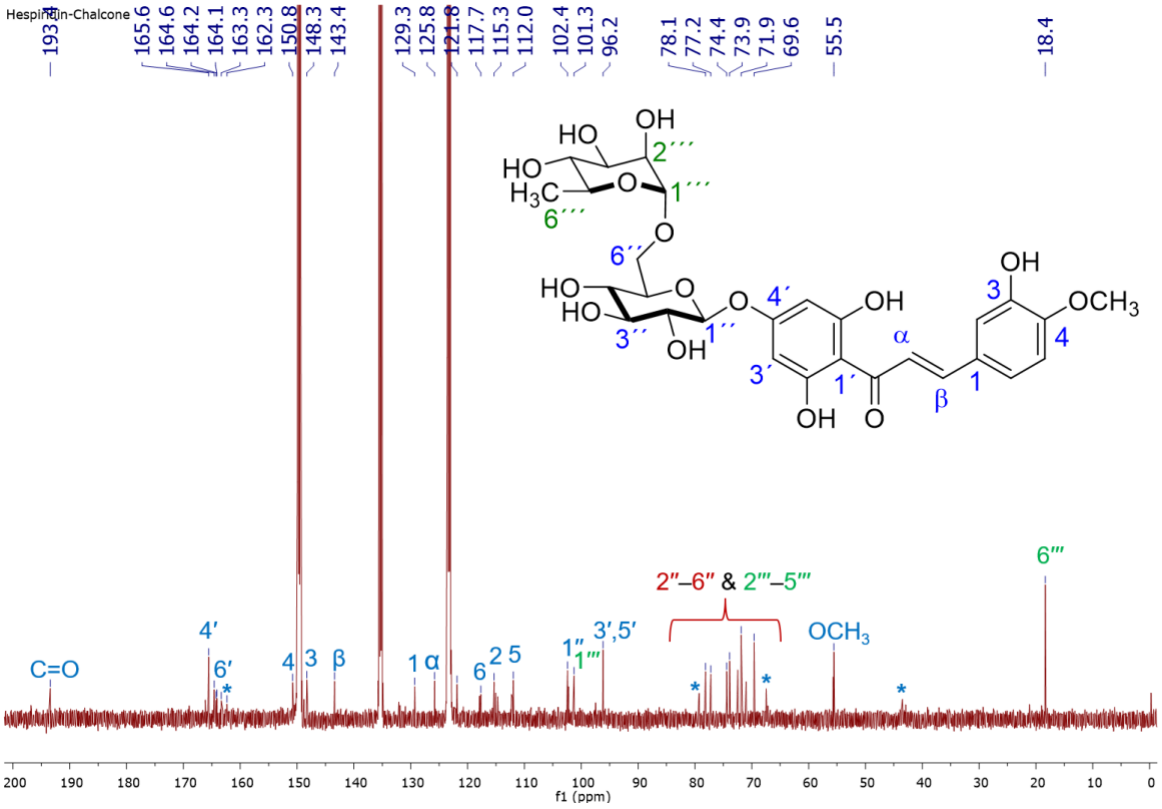

Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C de la chalcona de hesperidina en C_5D_5N.

*Impurezas

V.4. Semisíntesis de la chalcona de hesperetina

La obtención de la chalcona de hesperetina (Figura 31) se realizó siguiendo las mismas condiciones de reacción usadas para la síntesis de la chalcona de hesperidina.

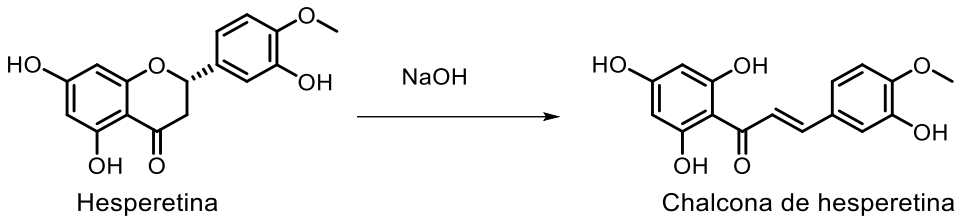

Figura 31. Semisíntesis de la chalcona de hesperetina a partir de la hesperetina.

Para determinar el tiempo óptimo de reacción, se realizaron distintos ensayos, variando el tiempo. La reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina, observándose el avance de la transformación de hesperetina a chalcona de hesperetina. En la Figura 32, de izquierda a derecha, se muestran las placas correspondientes a las pruebas a distintos tiempos: 5, 10, 30, 60 y 90 minutos.

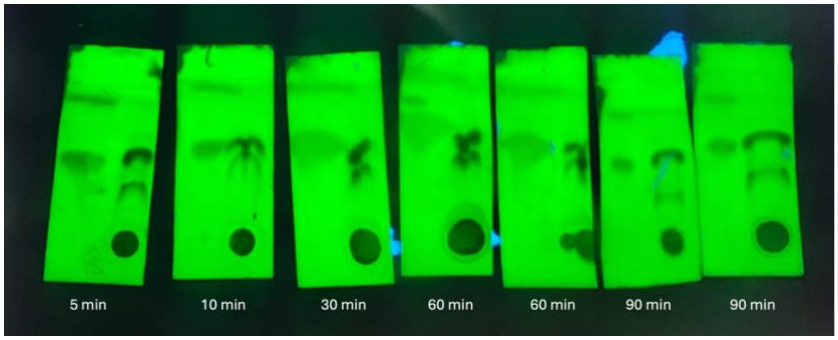

Figura 32. Placas cromatográficas de los ensayos de la síntesis de la chalcona de hesperetina a distintos tiempos.

De igual manera que para la chalcona de hesperidina, el mayor porcentaje de conversión alcanzado para la síntesis de la chalcona de hesperetina fue de alrededor del 50 %, lo cual también fue determinado mediante HPLC. En ese sentido, para obtener la chalcona de hesperetina en su forma pura se realizó una cromatografía en columna abierta. Para esta chalcona también se observó un cambio en el aspecto físico del compuesto, principalmente respecto a su coloración (Figura 33).



Figura 33. Muestras de polvos de hesperetina (izquierda) y de su chalcona (derecha).

Finalmente, esta chalcona fue identificada a través de HPLC. En la Figura 34 se observa el cromatograma de la chalcona de hesperetina a un tiempo de retención de 19.6 minutos y un máximo de absorción de 364 nm, lo cual comprueba su obtención. Es importante mencionar que para este último compuesto no se obtuvieron sus espectros de resonancia magnética nuclear de ^{1}H y de ^{13}C.

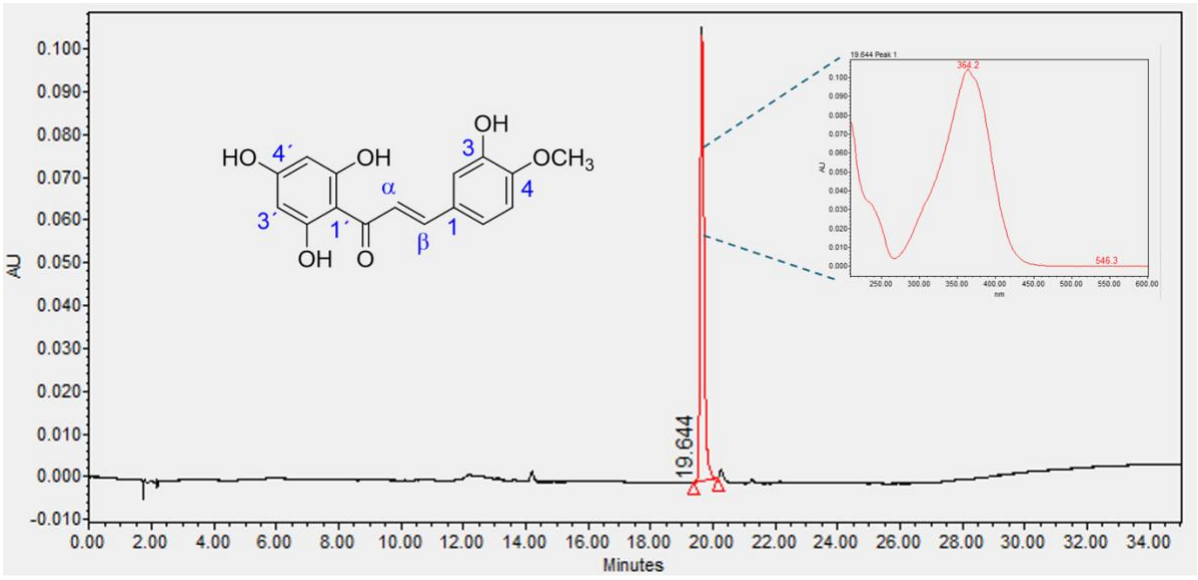

Figura 34. Cromatograma de la chalcona de hesperetina.

V.5. Comparación de la actividad antibacteriana de las chalconas obtenidas contra naringina y hesperidina

Posteriormente a la obtención de las chalconas, se evaluó su actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* mediante la determinación del porcentaje de inhibición, comparando su eficacia con la de las flavanonas precursoras (naringina y hesperidina).

En los ensayos preliminares conducidos a un inóculo de 1×10^6 UFC/mL, las moléculas mostraron una actividad de moderada a buena frente a *P. aeruginosa*; sin embargo, la respuesta sobre *S. aureus* no mostró una reducción significativa respecto al control. A fin de optimizar la sensibilidad del bioensayo, se reajustó la densidad bacteriana a 1×10^5 UFC/mL y se evaluaron los compuestos a concentraciones de 1 mg/mL y 0.5 mg/mL tras 1 h y 24 h de contacto.

La actividad inhibitoria observada tras 1 h de incubación a 1×10^5 UFC/mL se

resume en las Figuras 29 (*P. aeruginosa*) y 30 (*S. aureus*). Por su parte, la evaluación a las 24 h evidenció la ausencia total de crecimiento de UFC en ambas cepas para los seis compuestos evaluados, sugiriendo un efecto bactericida completo transcurrido dicho periodo.

El cálculo del porcentaje de inhibición (ecuación 1), el valor de $UFC_{control}$ correspondió al recuento de colonias de la suspensión bacteriana en presencia exclusivamente del vehículo (PBS) en las mismas condiciones de tiempo y temperatura que los tratamientos. De esta manera, el efecto intrínseco del diluyente queda incorporado en la referencia de crecimiento basal, garantizando que la reducción de las $UFC_{tratamiento}$ es atribuible de forma directa a la actividad de los compuestos evaluados, por ende, se omitió el control en las gráficas.

La actividad antimicrobiana de las chalconas semisintetizadas es, en general, mayor que la de las flavanonas naringina y hesperidina, las cuales han sido reportadas ampliamente en la literatura. Su CMI (concentración mínima inhibitoria) frente a las cepas evaluadas en este trabajo se reporta en el Cuadro 5. Dado el carácter exploratorio del presente trabajo, se buscó únicamente verificar si la transformación química (de flavanona a chalcona) genera o incrementa la bioactividad respecto al material de partida. Por ende, se consideraron como controles los precursores (naringina y hesperidina), que funcionan como controles comparativos internos para determinar si la apertura del anillo de la flavanona mejoró la actividad antibacteriana.

Cuadro 5. CMI reportada para naringina y hesperidina

Compuesto	Cepa	CMI	Referencia
Naringina	*S. aureus* (aislado clínico)	>1000 µg/mL	(Adamczak y col., 2019)
	P. aeruginosa (aislado clínico)	500 µg/mL	
Hesperidina	*S. aureus* ATCC 6538	125 µg/mL	(Kırcı y col., 2023)
	P. aeruginosa ATCC 27853	500 µg/mL	

La evaluación mostró que la concentración más baja (0.5 mg/mL) disminuye su actividad en presencia de *S. aureus* y resulta mucho más efectiva contra *P. aeruginosa*. La principal diferencia entre ambas cepas es que *S. aureus* es una bacteria Gram-positiva mientras que *P. aeruginosa* es Gram-negativa, es decir, sus envolturas celulares bacterianas son distintas a nivel estructural y de componentes. Las primeras presentan una gruesa pared de peptidoglicano y una delgada capa lipídica, mientras que las segundas poseen dos membranas lipídicas y, entre ellas, una fina pared de peptidoglicano (Silhavy y col., 2010). La monocapa interna de las Gram-negativas contiene fosfolípidos y la monocapa externa, lipopolisacáridos. Estas capas constituyen una barrera importante para el acceso de los fármacos al periplasma y citoplasma, donde se encuentran algunas de sus dianas farmacológicas (Lam y col., 2020). La entrada de los fármacos por medio de esta envoltura se encuentra limitada tanto por la baja velocidad de difusión a través de la membrana

externa como por la actividad de los sistemas de eflujo, los cuales están constituidos por transportadores de expulsión con funciones y estructuras diversas, como el bombeo de antibióticos a través de la membrana reduciendo su concentración en el citoplasma, mientras que otros expulsan los antibióticos hacia el medio externo desde el periplasma, asociándose con proteínas accesorias y formando complejos (Zgurskaya y col., 2015).

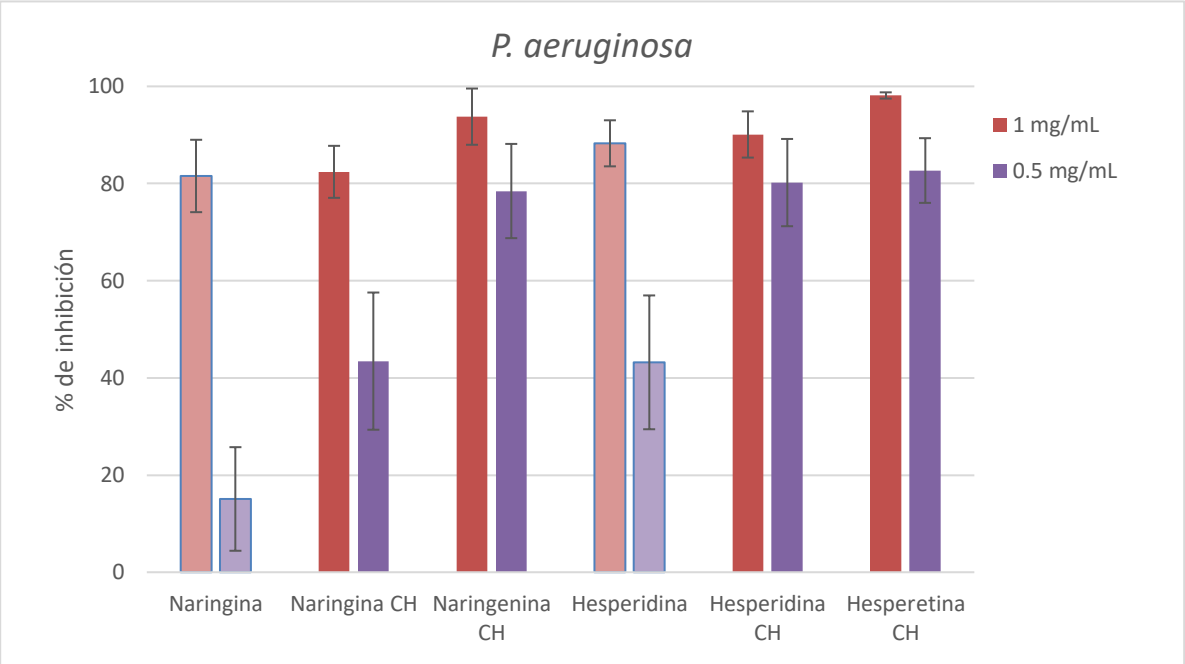

Figura 35. Porcentaje de inhibición de las chalconas frente a *Pseudomonas aeruginosa* a 1 hora de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar. n=3.

Tanto las chalconas como las flavanonas mostraron una actividad bactericida superior al 80 % de inhibición a 1 mg/mL. Sin embargo, podemos observar en la Figura 35 que, al reducir la concentración a 0.5 mg/mL, las flavanonas disminuyen drásticamente su efecto, principalmente la naringina. Sus derivados presentan una eficacia similar a la de la concentración mayor; sin embargo, su efecto persiste

cuando la concentración disminuye, principalmente en el caso de la chalcona de naringenina. Para el caso de la hesperidina y sus derivados, el comportamiento es muy similar. La chalcona de hesperetina muestra un mayor efecto con una desviación estándar menor, por tanto, resultó ser la chalcona más potente de las cuatro, seguida de la chalcona de naringenina hasta donde se observa en estas evaluaciones preliminares. Ambas chalconas son agliconas, es decir, flavanonas que carecen de su glicósido. Algunos reportes sobre la evaluación de chalconas han demostrado tener actividad bactericida frente a *P. aeruginosa* dependiente de la dosis y también frenar o inhibir algunos factores de virulencia presentes en dicha bacteria (Ušjak y col., 2019). Las chalconas derivadas de agliconas presentan menor polaridad que aquellas que conservan residuos glucosídicos. Esta propiedad las hace más permeables a la membrana externa, rica en fosfolípidos y lipopolisacáridos, de las bacterias Gram-negativas. En Meleleo y col. (2023) se observó cómo las agliconas, al ser más lipofílicas que sus derivados glucosilados, presentaron una mayor afinidad por lípidos de un modelo de bicapa y se localizaron por debajo de cabezas polares de los fosfolípidos, mientras que sus derivados glucosilados permanecieron a nivel de las cabezas polares. Esta diferencia se atribuyó a la presencia del residuo glucosilado, modificando la distribución de los flavonoides en la membrana. En otro estudio, se utilizaron chalconas sintetizadas para evaluar su actividad antibacteriana mediante MIC frente a especies bacterianas, entre ellas *S. aureus* y *P. aeruginosa*. La exposición a las chalconas produjeron un incremento en la liberación de material intracelular acompañado de una disminución de viabilidad, también se utilizó microscopía electrónica de barrido para observar células deformadas y contraídas,

resultados que fueron más pronunciados al aumentar la concentración de las chalconas, lo cual evidenció la alteración de la integridad y permeabilización de la membrana bacteriana, en este estudio también se señaló que el carácter lipofílico de los compuestos favorecieron las interacciones con la membrana (Thebti y col., 2023). Zhai y col., (2022) evaluó el mecanismo de acción de la chalcona sanjuanolida frente a *S. aureus* CMMCC 26003. Para determinar la integridad de membrana, se utilizó carboxifluoresceína. Los autores observaron pérdida de fluorescencia al aumentar las concentraciones de la chalcona, además de observar células arrugadas, colapsadas y fragmentadas. También emplearon un colorante sensible al potencial de membrana $DiOC_2(3)$, cuya señal permite detectar cambios en la diferencia de cargas en el exterior e interior de la célula. Se observó disminución de la señal después del tratamiento lo que indica despolarización de la membrana dependiente de la concentración.

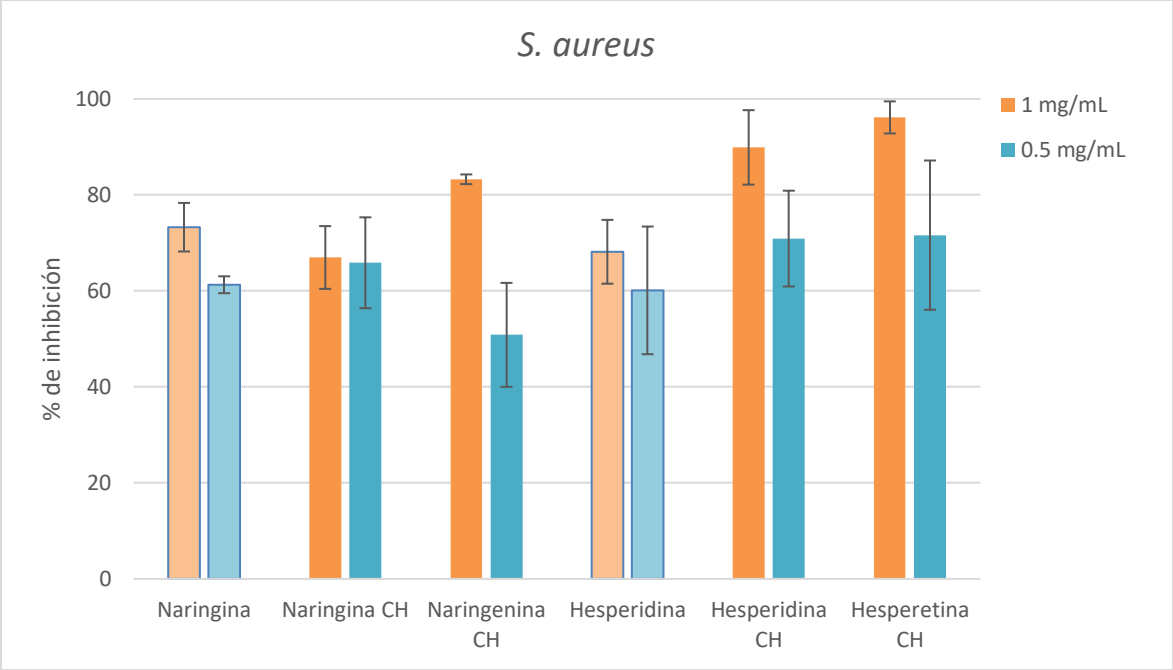

Figura 36. Porcentaje de inhibición de las chalconas frente a *S. aureus* a 1 hora de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar. n=3.

La actividad antibacteriana de las flavanonas y chalconas frente a *S. aureus* resultó menos potente en comparación con *P. aeruginosa*, no obstante, mostraron una tendencia similar en cuanto al efecto bactericida. Las chalconas derivadas de hesperidina y hesperetina mostraron el mejor efecto a las concentraciones evaluadas, mientras que las chalconas derivadas de naringina y naringenina resultaron menos potentes. La chalcona de naringina mostró una actividad bactericida cercana al 70 % para ambas concentraciones (Figura 36). Esta chalcona es más polar que la chalcona de naringenina y la chalcona de hesperetina debido a que conserva su glucósido y también es ligeramente más polar que la chalcona de hesperidina, debido a la ausencia de un metoxilo en el anillo B. Algunas chalconas han demostrado ejercer su efecto antibacteriano por medio de la disrupción de la membrana al alterar su fluidez (Farhadi y col., 2018). En un estudio comparativo de flavonoides en sus formas de aglicona y glucósido, se observó, que la lipofilia de los glucósidos fue menor a la de sus correspondientes agliconas debido a la presencia de azúcar, en particular la naringenina, que presentó un coeficiente de partición (log P) de 3.21 ± 0.04, mientras que la naringina presentó un valor de 0.15 ± 0.04, lo que indica un marcado incremento de carácter hidrofílico debido al residuo glucídico (Chuang y col., 2017). Al incrementar la polaridad de la molécula, disminuye su capacidad para intercalarse con los fosfolípidos. En el caso de las bacterias Gram-positivas, como lo es *S. aureus,* que posee una capa de peptidoglicano (abundante en ácidos teicoicos), las chalconas polares pueden formar numerosos puentes de

hidrógeno y quedar atrapadas en una red, lo que impide que alcancen su concentración efectiva en la superficie de la membrana (da Silva y col., 2023). En Lam y col. (2020) demostraron que la interacción de agentes permeabilizantes con componentes aniónicos de la envoltura, como los ácidos teicoicos de *S.aureus* y el lipopolisacárido de *P.aeruginosa*, favorecieron la entrada de compuestos mediante interacciones diferentes con sus envolturas. Mientras que las chalconas derivadas de la hesperidina alcanzan un mayor efecto bactericida.

En la evaluación realizada a las 24 h de contacto directo, el recuento en las placas de agar no evidenció la formación de unidades formadoras de colonias (0 UFC/mL) para ninguno de los seis compuestos evaluados frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa* (Figura 37). Este hallazgo es importante, ya que permite distinguir entre una actividad puramente bacteriostática (inhibición temporal del crecimiento) y una actividad bactericida completa. Mientras que tras 1 h de exposición los compuestos mostraron una inhibición parcial o moderada, la extensión del tiempo de contacto a 24 h condujo a una pérdida irreversible de la viabilidad celular en la totalidad de la población inoculada.

La diferencia observada entre ambos tiempos de incubación sugiere que la actividad bactericida tanto de las chalconas sintetizadas como de los compuestos de partida, exhiben una cinética de muerte dependiente del tiempo. Este comportamiento se asocia frecuentemente con el mecanismo de acción de compuestos polifenólicos, los cuales inducen alteraciones estructurales graduales en la membrana y la pared celular, así como la interferencia progresiva en la homeostasis del microorganismo,

requiriendo un periodo de exposición sostenido para acumular un daño celular irreversible (Cushnie y Lamb, 2011).

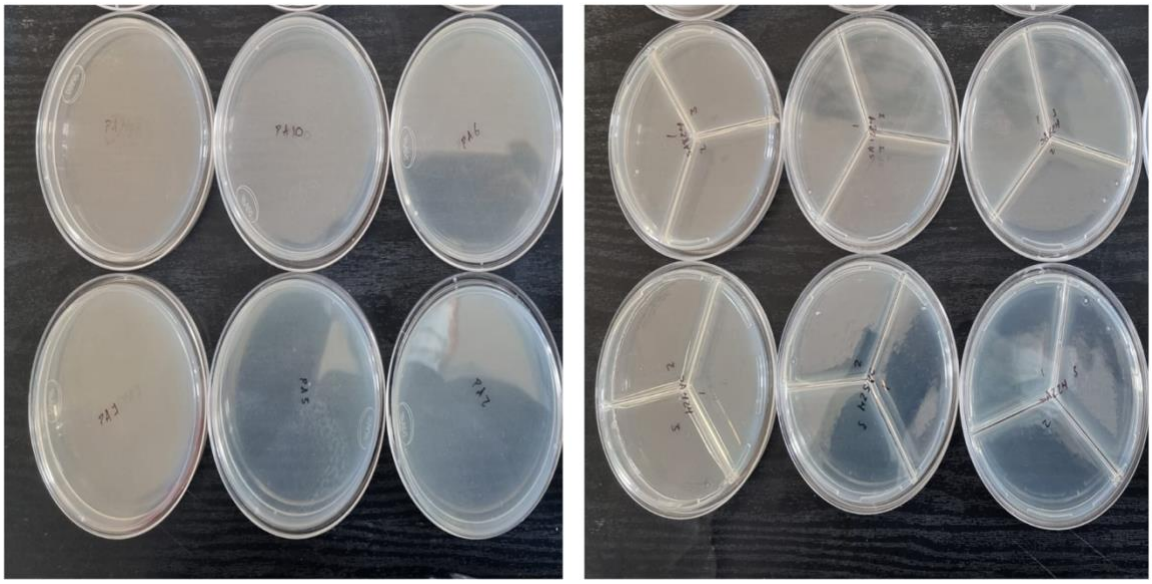

Figura 37. Cultivos a 24 h de contacto con los compuestos. Izq. *P. aeruginosa*. Der. *S. aureus*

Ambas cepas representan un riesgo para la salud humana, sin embargo, estos ensayos preliminares muestran que tanto *P. aeruginosa* como *S. aureus* muestran sensibilidad ante las chalconas obtenidas mediante semisíntesis, a dosis relativamente bajas. Es necesario seguir explorando concentraciones menores y determinar la CIM y la CMB para cada compuesto; asimismo, comparar con un antibiótico comercial y en combinación con el mismo para determinar algún posible efecto de sinergismo. Por último, indagar más en los mecanismos de acción, así como en la influencia de las diferencias estructurales entre cada chalcona y su efecto.

VI. CONCLUSIONES

1.- Se obtuvieron, mediante semisíntesis, las chalconas de naringina, naringenina, hesperidina y hesperetina con porcentajes de conversión de buenos a moderados, entre el 50 y el 99 %.

2.- Se confirmó la estructura química de los compuestos obtenidos mediante el análisis de sus espectros de RMN de ^{1}H y ^{13}C.

3.- Se evaluó el efecto antibacteriano de las cuatro chalconas sintetizadas. El compuesto con la mayor actividad antibacteriana fue la chalcona de hesperetina tanto para la cepa de *P. aeruginosa* y *S. aureus*, con un % de inhibición entre el 95 y 99 % en las 3 concentraciones evaluadas. La chalcona menos potente resultó ser la de naringina, al evaluarla a una concentración de 0.5 mg/mL en la cepa *S. aureus*, con un porcentaje de inhibición cercano al 50 %.

VII. REFERENCIAS

Adamczak, A., Ożarowski, M., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial Activity of Some Flavonoids and Organic Acids Widely Distributed in Plants. *Journal Of Clinical Medicine*, *9*(1), 109.

Adhikari, S., Nath, P., Deb, V. K., Das, N., Banerjee, A., Pathak, S., & Duttaroy, A. K. (2025). Pharmacological potential of natural chalcones: a recent studies and future perspective. Frontiers In Pharmacology, 16.

Agrawal, P. K., Agrawal, C., & Blunden, G. (2021). Pharmacological Significance of Hesperidin and Hesperetin, Two Citrus Flavonoids, as Promising Antiviral Compounds for Prophylaxis Against and Combating COVID-19. Natural Product Communications, 16(10).

Cassidy, A., & Minihane, A. (2017). The role of metabolism (and microbiome) in defining the clinical efficacy of dietary flavonoids. American Journal of Clinical Nutrition, 105(1), 10-22.

Cetinkaya, A., Yayla, S., Hurkul, M. M., & Ozkan, S. A. (2025). Comprehensive review on chromatographic analysis of flavonoids in fruits. Journal Of Chromatography Open, 7, 100209.

Chen, R., Qi, Q., Wang, M., & Li, Q. (2016). Therapeutic potential of naringin: an overview. Pharmaceutical Biology, 54(12), 3203-3210. https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1216131

Choi, S., Lee, S., & Lee, K. (2022). A Comparative Study of Hesperetin, Hesperidin and Hesperidin Glucoside: Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antibacterial Activities In Vitro. Antioxidants, 11(8), 1618.

Chuang, S., Lin, Y., Lin, C., Wang, P., Chen, E., & Fang, J. (2017). Elucidating the Skin Delivery of Aglycone and Glycoside Flavonoids: How the Structures Affect Cutaneous Absorption. *Nutrients*, *9*(12), 1304.

Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal Of Antimicrobial Agents*, *38*(2), 99-107.

Csuti, A., Sik, B., & Ajtony, Z. (2022). Measurement of Naringin from Citrus Fruits by High-Performance Liquid Chromatography – a Review. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 54(3), 473–486.

da Silva, L., Donato, I. A., Gonçalves, C. A. C., Scherf, J. R., dos Santos, H. S., Mori, E., Coutinho, H. D. M., & da Cunha, F. A. B. (2023). Antibacterial potential of chalcones and its derivatives against Staphylococcus aureus. *3 Biotech*, 13(1), 1.

De Cássia Ortiz, A., Fideles, S. o. M., Reis, C. H. B., Bellini, M. Z., De Souza Bastos Mazuqueli Pereira, E., Pilon, J. P. G., De Marchi, M. Â., Detregiachi, C. R. P., Flato, U. A. P., De Moraes Trazzi, B. F., Pagani, B. T., Ponce, J. B., Gardizani, T. P., De Souza Veronez, F., Buchaim, D. V., & Buchaim, R. L. (2022). Therapeutic Effects of Citrus Flavonoids Neohesperidin, Hesperidin and Its Aglycone, Hesperetin on Bone Health. Biomolecules, 12(5), 626.

Dhaliwal, J. S., Moshawih, S., Goh, K. W., Loy, M. J., Hossain, M. S., Hermansyah, A., Kotra, V., Kifli, N., Goh, H. P., Dhaliwal, S. K. S., Yassin, H., & Ming, L. C. (2022). Pharmacotherapeutics Applications and Chemistry of Chalcone Derivatives. Molecules, 27(20), 7062.

Días, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. Molecules, 26(17), 5377.

Duda-Madej, A., Stecko, J., Sobieraj, J., Szymańska, N., & Kozłowska, J. (2022). Naringenin and Its Derivatives—Health-Promoting Phytobiotic against Resistant Bacteria and Fungi in Humans. Antibiotics, 11(11), 1628.

Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M., & Iranshahy, M. (2018). Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. Phytotherapy Research, 33(1), 13-40.

Flores-Pérez, O., Flores-Sosa, Á. R., Báez, J. E., López-Fitz, D., Rodríguez-Ontiveros, A., Bah, M., Nuñez-Vilchis, A., Escobar-Cabrera, J., & Rodríguez-deLeón, E. (2026). A Green Approach for Optimizing Naringin Extraction from the Fresh Albedo of the Main Three Grapefruit (Citrus paradisi) Varieties Cultivated in Mexico. Chemistry, 8(7), 95.

González, A., Casado, J., & Lanas, Á. (2021). Fighting the Antibiotic Crisis: Flavonoids as Promising Antibacterial Drugs Against Helicobacter Pylori Infection. Frontiers In Cellular and Infection Microbiology, 11.

Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2018). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. Phytochemistry Reviews, 18(1), 241-272.

Gu, S., Wang, L., Tian, Y., Zhou, Z., Tang, J., Liu, X., Jiang, H., & Shen, Y. (2020). Enhanced water solubility, antioxidant activity, and oral absorption of hesperetin by D-α-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate and phosphatidylcholine. Journal Of Zhejiang University SCIENCE B, 20(3), 273-281.

Guiance, S. N. H., Marino, L., Isern, D. M., Coria, I. D., & Irurzun, I. M. (2019). Flavonoides: aplicaciones medicinales e industriales. Invenio: Revista de Investigación Académica, 40, 11-27.

Hu, L., Luo, Y., Yang, J., & Cheng, C. (2025). Botanical Flavonoids: Efficacy, Absorption, Metabolism and Advanced Pharmaceutical Technology for Improving Bioavailability. Molecules, 30(5), 1184.

Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., & Bazzaz, B. S. F. (2019). Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. Antimicrobial Resistance And Infection Control, 8(1), 118.

Kim, H. W., Woo, H. J., Yang, J. Y., Kim, J.-B., & Kim, S.-H. (2021). Hesperetin Inhibits Expression of Virulence Factors and Growth of Helicobacter pylori. International Journal of Molecular Sciences, 22(18), 10035.

Kırcı, D., Demirci, F., & Demirci, B. (2023). Microbial Transformation of Hesperidin

and Biological Evaluation. *ACS Omega*, *8*(45), 42610-42621.

Lam, A. K., Panlilio, H., Pusavat, J., Wouters, C. L., Moen, E. L., Brennan, R. E., & Rice, C. V. (2020). Expanding the Spectrum of Antibiotics Capable of Killing Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. *ChemMedChem*, *15*(15), 1421-1428.

Lee, K. A., Moon, S., Lee, J., Kim, K., Park, Y., & Paik, H. (2013). Antibacterial activity of a novel flavonoid, 7-O-butyl naringenin, against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Food Science and Biotechnology, 22(6), 1725-1728. https://doi.org/10.1007/s10068-013-0272-9

Li, S., & Jin, H. (2025). Synthesis, Antibacterial Evaluation and Molecular Modeling of Novel Chalcone Derivatives Incorporating the Diphenyl Ether Moiety. Molecules, 30(12), 2575.

Lobo, C. L., Prabhu, P. P., Dubey, A., Shetty, A., & Mahadev, M. (2024). Exploring the Potential of Hesperidin and Synergistic Formulations in Breast Cancer Management: A Comprehensive Review. International Journal of Pharmaceutical Investigation, 14(4), 1122–1130.

Maiti, K., Mukherjee, K., Murugan, V., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2009). Exploring the Effect of Hesperetin–HSPC Complex—A Novel Drug Delivery System on the In Vitro Release, Therapeutic Efficacy and Pharmacokinetics. AAPS PharmSciTech, 10(3).

Meleleo, D., Avato, P., Conforti, F., Argentieri, M. P., Messina, G., Cibelli, G., & Mallamaci, R. (2023). Interaction of Quercetin, Cyanidin, and Their O-Glucosides with Planar Lipid Models: Implications for Their Biological Effects. *Membranes*, *13*(6), 600.

Nawaz, T., Tajammal, A., Qurashi, A. W., Nisa, M., Binjawhar, D. N., & Iqbal, M. (2024). Synthesis, antibacterial, antibiofilm, and docking studies of chalcones against multidrug resistance pathogens. Heliyon, 10(13), e30618.

Nepomuceno, F. C. L., De Fátima Formiga Melo Diniz, M., Filho, J. M. B., Lima, Z.

N., Barbosa, F. P. T., Nunes, M. K. D. S., & De Luna Freire Pessôa, H. (2023). Efeitos biológicos da naringenina e naringina: uma revisão de bioensaios. Research Society and Development, 12(3), e17112339232.

Okolo, E. N., Ugwu, D. I., Ezema, B. E., Ndefo, J. C., Eze, F. U., Ezema, C. G., Ezugwu, J. A., & Ujam, O. T. (2021). New chalcone derivatives as potential antimicrobial and antioxidant agent. Scientific Reports, 11(1), 21781.

Pyrzynska, K. (2022). Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. Nutrients, 14(12), 2387.

Rocha, J. E., De Freitas, T. S., Da Cunha Xavier, J., Pereira, R. L. S., Pereira, F. N., Junior, Nogueira, C. E. S., Marinho, M. M., Bandeira, P. N., De Oliveira, M. R., Marinho, E. S., Teixeira, A. M. R., Santos, H. S. D., & Coutinho, H. D. M. (2021). Antibacterial and antibiotic modifying activity, ADMET study and molecular docking of synthetic chalcone (E)-1-(2-hydroxyphenyl)-3-(2,4-dimethoxy-3-methylphenyl) prop-2-en-1-one in strains of Staphylococcus aureus carrying NorA and MepA efflux pumps. Biomedicine & Pharmacotherapy, 140, 111768.

Rudrapal, M., Khan, J., Dukhyil, A. A. B., Alarousy, R. M. I. I., Attah, E. I., Sharma, T., Khairnar, S. J., & Bendale, A. R. (2021). Chalcone Scaffolds, Bioprecursors of Flavonoids: Chemistry, Bioactivities, and Pharmacokinetics. Molecules, 26(23), 7177.

Rui Chen, Qiao-Ling Qi, Meng-Ting Wang & Qi-Yan Li (2016) Therapeutic potential of naringin: an overview, Pharmaceutical Biology, 54:12, 3203-3210

Salehi, B., Fokou, P. V. T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N., & Sharifi-Rad, J. (2019). The Therapeutic Potential of Naringenin: A Review of Clinical Trials. Pharmaceuticals, 12(1), 11.

Sánchez-Villamil, J. P., Manosalva, M. A., Llamosa, D., Montero, J. M., Morales, D. A., Cristancho, A. L., Rendón, H. F. P., Tyrka, M., & Galán, J. P. M. (2025). Effect of the Combinatorial use of Naringin and Silver Nanoparticles on Enterococcus Faecalis. The Open Biotechnology Journal, 19(1).

Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414.

Song, B., Hao, M., Zhang, S., Niu, W., Li, Y., Chen, Q., Li, S., & Tong, C. (2024). Comprehensive review of Hesperetin: Advancements in pharmacokinetics, pharmacological effects, and novel formulations. Fitoterapia, 179, 106206.

Sridhar, V., Sandeep, M. S., Babu, P. R., & Babu, K. N. (2014). Evaluation of First-Pass Cytochrome P4503A (CYP3A) and P-glycoprotein Activities Using Felodipine and Hesperetin in Combination in Wistar Rats and Everted Rat Gut Sacs in Vitro. Phytotherapy Research, 28(5), 699-705.

Steinbruch, M., Nunes, C., Gama, R., Kaufman, R., Gama, G., Neto, M. S., Nigri, R., Cytrynbaum, N., Oliveira, L. B., Bertaina, I., Verrière, F., & Geller, M. (2020). Is Nonmicronized Diosmin 600 mg as Effective as Micronized Diosmin 900 mg plus Hesperidin 100 mg on Chronic Venous Disease Symptoms? Results of a Noninferiority Study. International Journal Of Vascular Medicine, 2020, 1-9.

Sudto, K., Pornpakakul, S. and Wanichwecharungruang, S. (2009), An efficient method for the large-scale isolation of naringin from pomelo (Citrus grandis) peel. International Journal of Food Science & Technology, 44: 1737-1742.

Thebti, A., Meddeb, A., Salem, I. B., Bakary, C., Ayari, S., Rezgui, F., Essafi-Benkhadir, K., Boudabous, A., & Ouzari, H. (2023). Antimicrobial Activities and Mode of Flavonoid Actions. *Antibiotics*, *12*(2), 225.

Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D., & Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. Food Chemistry, 104(2), 466-479.

Trung, H. T., Huynh, H. T. T., Thuy, L. N. T., Van Minh, H. N., Nguyen, M. N. T., & Thi, M. N. L. (2020). Growth-inhibiting, bactericidal, antibiofilm, and urease inhibitory activities of Hibiscus rosa sinensis L. flower constituents toward antibiotic sensitive- and resistant-strains of Helicobacter pylori. ACS omega, 5(32), 20080.

Ušjak, D., Ivković, B., Božić, D. D., Bošković, L., & Milenković, M. (2019). Antimicrobial activity of novel chalcones and modulation of virulence factors in hospital strains of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa. *Microbial Pathogenesis*, 131, 186-196.

Yi, L., Ma, S., & Ren, D. (2017). Phytochemistry and bioactivity of Citrus flavonoids: a focus on antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and cardiovascular protection activities. Phytochemistry Reviews, 16(3), 479-511.

Yue, J., Yang, H., Liu, S., Song, F., Guo, J., & Huang, C. (2018). Influence of naringenin on the biofilm formation of Streptococcus mutans. Journal Of Dentistry, 76, 24-31.

Zengin, G., Menghini, L., Di Sotto, A., Mancinelli, R., Sisto, F., Carradori, S., & Grande, R. (2018). Chromatographic analyses, in vitro biological activities, and cytotoxicity of Cannabis sativa L. essential oil: Multidisciplinary.

Zgurskaya, H. I., López, C. A., & Gnanakaran, S. (2015). Permeability Barrier of Gram-Negative Cell Envelopes and Approaches To Bypass It. *ACS Infectious Diseases*, *1*(11), 512-522.

Zhai, J., Li, S., Fu, L., Li, C., Sun, B., Sang, F., & Liu, H. (2022). Structural modification and antibacterial property studies of natural chalcone sanjuanolide. *Frontiers In Chemistry*, *10*, 959250.

Zhang, Y., Wang, J., Dong, J., Wei, J., Wang, Y., Dai, X., Wang, X., Luo, M., Tan, W., Deng, X., & Niu, X. (2013). Inhibition of α-toxin production by subinhibitory concentrations of naringenin controls Staphylococcus aureus pneumonia. Fitoterapia, 86, 92-99.

Zheng, X., Zhang, X., & Zeng, F. (2025). Biological Functions and Health Benefits of Flavonoids in Fruits and Vegetables: A Contemporary Review. Foods, 14(2), 155.

Zulkefli, N., Zahari, C. N. M. C., Sayuti, N. H., Kamarudin, A. A., Saad, N., Hamezah, H. S., Bunawan, H., Baharum, S. N., Mediani, A., Ahmed, Q. U., Ismail, A. F. H., &

Sarian, M. N. (2023). Flavonoids as Potential Wound-Healing Molecules: Emphasis on Pathways Perspective. International Journal Of Molecular Sciences, 24(5), 4607.