

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Bioactividad de péptidos antimicrobianos aislados de la secreción de ranas
ecuatorianas sobre diversos microorganismos**

Monografía previa a la obtención del título de Licenciado en Microbiología

EMILIO SANTIAGO GARRIDO SANTILLÁN

Quito, 2025

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía de microbiología, del Sr. Emilio Santiago Garrido Santillán ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Firma del tutor de la monografía
Mgtr. Sonia Margarita Estrella Vásquez
Quito, 8 de julio de 2025

DEDICATORIA

Gracias a mi padre, Hernán Garrido.

Gracias a mi madre, Ligia Santillán.

Por apoyarme y motivarme en mis estudios. Y ser ejemplo de padres.

TABLA DE CONTENIDO

1.	RESUMEN	1
2.	ABSTRACT	2
3.	INTRODUCCIÓN	3
4.	OBJETIVOS	10
4.1	OBJETIVO GENERAL	10
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
5.	DESARROLLO TEÓRICO	11
5.1	¿CUÁLES HAN SIDO LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS AISLADOS DE RANAS DESCUBIERTAS EN ECUADOR?	11
5.1.1	DESCUBRIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CRUIOSEPTINAS	11
5.1.2	DERMASEPTINAS Y PICTUSEPTINAS	12
5.1.3	PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS OBJETO DE ESTUDIO ACTUAL	12
5.1.4	METODOLOGÍA DE SÍNTESIS Y PURIFICACIÓN	14
5.1.5	CONTRIBUCIÓN A LA BIODIVERSIDAD MOLECULAR ECUATORIANA	14
5.1.6	ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA Y ANTIMICROBIANA	15
5.1.7	ACTIVIDAD CONTRA PROTOZOARIOS PARÁSITOS	15
5.1.8	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE AMPLIO ESPECTRO	16
5.1.9	SELECTIVIDAD Y SEGURIDAD	16
5.1.10	RELEVANCIA Y POTENCIAL TERAPÉUTICO	17
5.2	¿CUÁL ES EL MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AMPS SOBRE LOS MICROORGANISMOS?	18
5.2.1	INTERACCIÓN CON LA MEMBRANA CELULAR Y FORMACIÓN DE POROS 19	
5.2.2	ESPECIFICIDAD Y SELECTIVIDAD DEL MECANISMO	20
5.2.3	ACCIÓN SOBRE BACTERIAS Y HONGOS	21
5.2.4	INTERACCIÓN INICIAL Y RECONOCIMIENTO CELULAR	22
5.2.5	MECANISMOS DE ACCIÓN CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS	22
5.2.6	MODELOS DE PERMEABILIZACIÓN DE MEMBRANA	23
5.2.7	ESPECIFICIDAD HACIA <i>Candida albicans</i>	24
5.2.8	MECANISMOS DE ACCIÓN SOBRE PROTOZOARIOS PATÓGENOS	24
5.2.9	MECANISMO DE ACCIÓN BASADO EN MEMBRANA	25
5.3	¿CUÁL ES EL EFECTO CITOTÓXICO DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS? 27	
5.3.1	MECANISMOS SUBYACENTES A LA CITOTOXICIDAD DIFERENCIAL	29
5.3.2	ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PÉPTIDOS ECUATORIANOS FRENTE A ESTUDIOS EXTRANJEROS	30
5.3.3	IMPLICACIONES PARA EL DESARROLLO FARMACÉUTICO	32
5.4	¿SOBRE QUÉ MICROORGANISMOS HAN SIDO PROBADOS Y ESTUDIADOS? 34	
5.4.1	PROTOZOARIOS	34
5.4.2	BACTERIAS PATÓGENAS	35
5.4.3	HONGOS PATÓGENOS	36
5.4.4	PERSPECTIVAS EVOLUTIVAS Y DIVERSIDAD ESTRUCTURAL	36
5.5	¿CUÁLES SON LOS MEJORES PÉPTIDOS Y CUÁL ES EL PASO DESPUÉS DE TODOS ESTOS ESTUDIOS?	38
6	CONCLUSIONES	40
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

8	FIGURA	57
9	ANEXOS.....	64

1. RESUMEN

Los péptidos antimicrobianos, conocidos también como AMPs, son pequeñas cadenas de aminoácidos, generalmente formadas por entre 8 y 48 unidades. Estos compuestos destacan por su carga positiva, que suele variar entre +2 y +9, y por su alta proporción de aminoácidos hidrofóbicos. Gracias a estas propiedades, pueden adoptar una estructura de hélice alfa, lo que les permite interactuar con las membranas celulares de los microorganismos. Esta interacción, en la que la parte hidrofílica del péptido se une con los fosfolípidos de la membrana, puede ocasionar la formación de poros y, en consecuencia, la ruptura de la célula.

En los ecosistemas neotropicales, algunas ranas, como las que pertenecen a los géneros *Phyllomedusa*, *Agalychnis*, *Cruziohyla* y *Boana*, se han identificado como una importante fuente natural de estos péptidos. Específicamente, en Ecuador se han descrito varias especies que producen AMPs de interés. Por este motivo, en este trabajo se ha recopilado información sobre la actividad antimicrobiana de los péptidos aislados de la piel de ranas ecuatorianas. Se ha puesto especial énfasis en su acción frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, además de hongos como *Candida albicans* y protozoos como *Leishmania* spp. y *Trypanosoma cruzi*.

Para ello, se revisaron distintos estudios que analizan familias de péptidos como las magaininas, memporinas, dermaseptinas, filloseptinas, pictuseptinas y cruzioseptinas, prestando atención tanto a su eficacia antimicrobiana como a sus niveles de toxicidad. Los resultados sugieren que ciertos péptidos, como la Dermaseptina SP2 y la Cruzioseptina 1, tienen un efecto importante contra algunos protozoos. Por otro lado, las pictuseptinas y las temporinas mostraron una actividad destacada frente a bacterias Gram negativas y positivas.

Palabras clave: Anuros neotropicales, actividad antimicrobiana, bioactividad, péptidos antimicrobianos, secreción de piel de rana.

2. ABSTRACT

Antimicrobial peptides, also known as AMPs, are small chains of amino acids, generally composed of between 8 and 48 units. These compounds are notable for their positive charge, which typically ranges between +2 and +9, and their high proportion of hydrophobic amino acids. Due to these properties, they can adopt an alpha helix structure, allowing them to interact with the cell membranes of microorganisms. This interaction, where the hydrophilic part of the peptide binds to the membrane's phospholipids, can lead to pore formation and, consequently, cell rupture.

In Neotropical ecosystems, some frogs, such as those belonging to the genera *Phyllomedusa*, *Agalychnis*, *Cruziohyla*, and *Boana*, have been identified as a major natural source of these peptides. Specifically, several species that produce AMPs of interest have been described in Ecuador. For this reason, this study compiled information on the antimicrobial activity of peptides isolated from the skin of Ecuadorian frogs. Special emphasis was placed on their action against Gram-positive and Gram negative bacteria, as well as fungi such as *Candida albicans* and protozoa such as *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi*.

To this end, various studies analyzing peptide families such as magainins, temporins, dermaseptins, phylloseptins, pictuseptins, and cruzioseptins were reviewed, focusing on both their antimicrobial efficacy and toxicity levels. The results suggest that certain peptides, such as dermaseptin SP2 and cruzioseptin 1, have significant effects against some protozoa. Furthermore, pictuseptins and temporins demonstrated significant activity against both Gram-negative and Gram positive bacteria.

Keywords: Neotropical anurans, antimicrobial activity, bioactivity, antimicrobial peptides, frog skin secretion.

3. INTRODUCCIÓN

Los péptidos antimicrobianos (PAM), mencionados (AMP) del inglés a partir de aquí, son compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas y/o anticancerígenas, están compuestos por cadenas cortas de 12 a 60 aminoácidos con una carga neta positiva de +2 a +11 y residuos hidrofóbicos. Estos compuestos se encuentran de manera natural en la naturaleza como en plantas, mamíferos, insectos e incluso virus, donde forman parte de los sistemas de defensa del hospedador (Savitskaya et al., 2023). El mecanismo de acción depende de las características del péptido antimicrobiano como su carga, tamaño, hidrofobicidad, estructura secundaria, Alpha hélice y carácter anfipático, donde se pueden agrupar generalmente en dos tipos: daño no membranoso y daño de la membrana celular (Savitskaya et al., 2023; Zhang et al., 2022). El daño no membranoso, los AMP bloquean funciones esenciales como la replicación del ADN y el ARN o la síntesis de proteínas. Por el contrario, después de un daño en la membrana, los AMP alteran su integridad a través de modelos de acción como el barril, el anillo, la alfombra y el canal de agregación, lo que puede conducir a la lisis celular (Ho et al., 2016).

Algunos de los ejemplos de AMP incluyen las magaininas, que se encontraron inicialmente en la piel de la rana *Xenopus laevis* y que han demostrado tener una fuerte actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos y células cancerosas (Ahmed et al., 2019, citando a Chromek et al., 2006; Pretzel et al., 2013). Otro ejemplo es la colicina, producida por *Escherichia coli*, con actividad contra especies de *Salmonella*, *Shigella* y *Klebsiella*, miembros de la familia Enterobacteriaceae. De igual manera, las dermaseptinas, presentes en anfibios como *Phyllomedusa sauvagei*, inhiben la síntesis de proteínas e inducen la apoptosis, también presentan propiedades antivirales, antifúngicas y anticancerígenas (Bin Hafeez et al., 2021).

Los AMP se clasifican según su origen, estructura o modo de acción. Según su origen, los AMP son animales, vegetales y bacterianos. Los AMP de origen animal incluyen las defensinas de mamíferos y las magaininas de anfibios, mientras que los de origen vegetal

suelen ser ricos en cisteína con puentes disulfuro. Entre los AMP de origen bacteriano, destacan las bacteriocinas, como la gramicidina, que es activa contra bacterias grampositivas (Hernández Adame et al., 2022).

Según su estructura, los AMP se pueden clasificar en péptidos alfa-helicoidales, como las magaininas; péptidos beta-lámina, como las defensinas, que son estabilizadas con puentes disulfuro; péptidos extendidos, como las histatinas presentes en la saliva humana; y péptidos mixtos o en bucle, como la tanatina, un péptido antibacteriano y antifúngico. Por último, cabe mencionar su función y mecanismo de acción. Los AMP se clasifican en: formadores de poros, como la dermaseptina y la melitina; AMP interferentes intracelulares, como la bufirina II, que suprime la replicación del ADN; y AMP inmunomoduladores, como la LL-37, que modula la respuesta inmunitaria (Huan, Kong, Mou, y Yi, 2020).

La Figura 1 creada por Ramazi et al. (2022) muestra la distribución en porcentaje de las funciones biológicas de los péptidos registrados. La mayor proporción corresponde a los péptidos antibacterianos (35,62 %) y a otros péptidos (37,91 %), que agrupan funciones todavía no clasificadas. También destaca la presencia relevante de péptidos con actividad antifúngica (14,31 %) y en menor porcentaje péptidos con efectos anticancerígenos (6,01 %) y antivirales (5,07 %). Por otro lado, también añade péptidos con actividad tóxica (0,59 %) y antiparasitaria (0,49 %) que representan una fracción muy pequeña. En conjunto, el gráfico evidencia que la mayor parte de los péptidos tienen propiedades antimicrobianas, especialmente contra bacterias y hongos.

En el Ecuador, la fauna nativa ofrece un gran potencial para la investigación sobre AMP. Por ejemplo, la rana planeadora (*Agalychnis spurrelli*) secreta exudados con actividad antimicrobiana (Cuesta et al., 2019). Además, se han derivado sintéticamente AMP de anfibios ecuatorianos como las cruzioseptinas (*Cruziohyala calcarifer*), la dermaseptina-SP2 (*Agalychnis spurrelli*) y la pictuseptina-1 (*Boana picturata*). Se descubrió que estos AMP son activos contra bacterias (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), hongos (*Candida albicans*) y protozoos (*Leishmania mexicana*, *Plasmodium falciparum* y *Trypanosoma cruzi*) (Proaño-Bolaños et al., 2024).

El uso de AMP es una opción prometedora al problema actual y futuro de la resistencia a los antibióticos. Si bien las bacterias pueden desarrollar resistencia a los AMP mediante mecanismos como la degradación de proteasas, la secreción de proteínas inhibidoras o la alteración de la membrana celular, su capacidad para actuar sobre diversos componentes y procesos celulares los convierte en una herramienta altamente eficaz.

Por otra parte, los efectos del uso de fármacos como tratamiento para patologías se encuentran efectos secundarios y toxicidad. Varios pacientes que son hospitalizados debido a una reacción adversa a medicamentos (RAM), llegan a presentar efectos potencialmente mortales como arritmias, toxicidad hepática, insuficiencia renal aguda y acidosis láctica por la terapia antirretroviral (Palavecino, 2014). Así, las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, levaduras y parásitos despiertan gran interés en la investigación a nivel mundial debido a su alta tasa de mortalidad. Ikuta et al. en 2022 documentaron 13,7 millones de muertes causadas por infecciones en todo el mundo en 2019, de las cuales 7,7 millones fueron causadas por patógenos bacterianos. *Escherichia coli* encabeza la lista con 950 000 muertes al año, seguida de *Staphylococcus aureus* con 1,1 millones de muertes al año durante el mismo período, 2019 (Naghavi et al., 2024).

Este tipo de infecciones imponen importantes impactos en las naciones con sistemas de salud menos desarrollados, impactando la salud animal, la sanidad vegetal y a los seres humanos (ONE HEALTH, 2023). Este plan menciona la salud humana, animal y ambiental están interconectadas y que su propagación puede provocar pandemias devastadoras, desestabilizar la seguridad alimentaria y devastar ecosistemas clave, poniendo en peligro la salud mundial y la biodiversidad (OMS, 2024).

Las bacterias fueron responsables de 704 millones de muertes en 2019, según estimaciones del Grupo Central de Patógenos del IHM. *Escherichia coli*, es causante de infecciones gastrointestinales, infecciones del tracto urinario, síndrome hemolítico urémico, meningitis neonatal, sepsis, infecciones intestinales y colitis hemorrágica, registró 950 000 muertes ese año (Coll Cárdenas, 2017). *Staphylococcus aureus*, causó alrededor de 1,1 millones de muertes en todo el mundo (Naghavi et al., 2024). Las bacterias son

particularmente problemáticas debido a su capacidad de resistencia a los antimicrobianos, en gran parte debido al abuso de antibióticos. Por ejemplo, las cepas de *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son responsables del 5 % al 30 % de las muertes provocadas por procesos infecciosos, registradas en el 2020 (Lastours et al., 2020).

De igual manera, las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) causaron 9 000 muertes anuales en Estados Unidos (CDC, 2024), y el mismo autor afirma que las bacterias resistentes a los antimicrobianos causan 4,95 millones de muertes anuales. Las bacterias no son la única fuente de preocupación. Levaduras como *Candida* spp. y *Rhodotorula* spp. también causan infecciones graves. Por ejemplo, *Candida* spp. es responsable de la candidiasis sistémica, orofaríngea, vaginal y cutánea. Se proyecta que las infecciones invasivas por especies de *Candida* representan el 25 % de la mortalidad anual en Estados Unidos. Especies de *Candida* como lo son: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei* son responsables del 95 % de las infecciones del torrente sanguíneo (CDC, 2024).

A nivel mundial, las enfermedades fúngicas, precisamente las causadas por la levadura *Candida* spp., son responsables de aproximadamente 1,5 millones de muertes al año (Gómez y Escandón, 2023). La situación también se ha visto agravada por la creciente resistencia a los antifúngicos, que se evidenció en la pandemia de COVID-19 (Anón, 2022). Las infecciones fúngicas también son un problema de salud pública en Ecuador, como lo menciona Seipichincha, (2023) que afirma que aproximadamente el 3 % de la población está infectada, es decir, 433 856 personas. Entre las patologías más relevantes se encuentran la aspergilosis invasiva, que infecta a aproximadamente 748 pacientes, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), con una población estimada de 26 642 personas, así como el asma grave con sensibilización fúngica (SAFS), que infecta a 45 013 personas.

En la población con VIH/SIDA, alrededor de 10 000 personas están en riesgo, con altos porcentajes de infecciones fúngicas como histoplasmosis, meningitis criptocócica y neumonía por *Pneumocystis* spp. con 11,1 %, 7 % y 11 %, respectivamente (Sociedad Ecuatoriana de Infectología, 2023).

En Ecuador, las enfermedades parasitarias transmitidas por vectores, como la malaria, la enfermedad de Chagas y la leishmaniasis, siguen siendo un problema de salud pública, principalmente en las regiones amazónicas y rurales. La malaria, que causa alrededor de 608 000 muertes al año en todo el mundo (Gibson, 2023), registró 690 casos en Ecuador en 2023 y 197 casos confirmados en la semana 20 de 2024, localizados en provincias como Pastaza y Esmeraldas (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2024). La enfermedad de Chagas ha infectado a más de 7 millones de personas en Latinoamérica, causando entre 10 000 y 12 000 muertes al año (OMS, 2024; OPS, 2024), mientras que en Ecuador se registraron 118 casos en 2023 y 47 casos hasta la semana 20 de 2024 (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2024).

En contraste, la leishmaniasis, específicamente en su afectación cutánea, es un caso frecuente en comunidades amazónicas y rurales, con 1040 casos en 2023 y 366 hasta la semana 20 de 2024 en el país, lo que representa entre 20 000 y 30 000 muertes anuales causadas por esta enfermedad a nivel mundial (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2024; Gibson, 2023). Estas cifras revelan la alta prevalencia de este tipo de enfermedades parasitarias en Ecuador, así como la necesidad de mantener y fortalecer las medidas de vigilancia, prevención y control.

La Figura 2 muestra el mapa de distribución de enfermedades transmitidas por vectores entre las provincias del Ecuador, donde se muestra la proporción de casos de fiebre amarilla (verde), enfermedad de Chagas (rojo), dengue (naranja), leishmaniasis (azul) y malaria (rosa). El dengue predomina en la costa y Galápagos, mientras que la leishmaniasis predomina en la Amazonía. La enfermedad de Chagas predomina en la Sierra y la costa, mientras que la malaria se concentra principalmente en las provincias amazónicas según se observa en los datos del Ministerio de Salud Pública del Ecuador (2024). Esta variación epidemiológica genera una demanda de nuevas formas estrategias terapéuticas, como los péptidos antimicrobianos, para posiblemente actuar contra diversos patógenos de importancia regional.

Por otro lado, es importante recalcar que, en Ecuador, casi la mitad de los aislamientos de *E. coli* como dice León Pineda et al., (2025), son productoras de BLEE, y su tratamiento complica las infecciones del tracto urinario y las septicemias. Mientras tanto, las infecciones por SARM siguen siendo un problema. En 2023, se confirmaron 1 200 casos en hospitales públicos del país y representaron un estimado de 121 000 muertes al año en 2022 según un informe publicado por Chan (2022) en el Instituto de Métricas y Evaluación en Salud (IHME). Mientras que a nivel mundial la mortalidad asociada a bacteriemia por SARM es de aproximadamente el 33 %, se estima que entre 360 y 400 personas habrían fallecido en el país durante el último año debido a este tipo de infecciones (Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2024; Thwaites et al., 2022).

En la región de América Latina y el Caribe, la resistencia a los antibióticos causa la muerte de más de 300 000 personas al año, por lo que el desarrollo de nuevos tratamientos y el uso racional de antibióticos son una necesidad (OPS, 2024). Como también es el caso de las levaduras, son otro problema que provoca un número alarmante de muertes a nivel mundial, con un estimado de 1 500 000 muertes anuales (Bongomin et al., 2017).

La especie más prevalente es *Candida albicans*, que infecta principalmente a pacientes inmunodeprimidos y constituye una gran preocupación en las unidades de cuidados intensivos debido a su resistencia a los antifúngicos. En Ecuador, aunque carecemos de datos precisos, las infecciones por hongos se están convirtiendo en un problema en el ámbito hospitalario, especialmente en pacientes críticos (OMS, 2022).

Los fármacos empleados en el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y parasitarias son tóxicos y de difícil acceso. Además de ser escasos, los tratamientos para *Candida* spp. Llegan a provocar efectos secundarios graves y resistencia a antimicrobianos.

Para enfermedades parasitarias como *T. cruzi*, los fármacos existentes, aunque son eficaces, son mal tolerados y presentan efectos secundarios graves, por lo que muchos pacientes abandonan el tratamiento. La enfermedad leishmaniasis no cuenta con opciones terapéuticas, y para la malaria, las epidemias han generado la necesidad de alternativas más económicas con menos efectos secundarios para la población afectada.

La terapia farmacológica para la enfermedad de Chagas consiste en compuestos nitroheterocíclicos como el benznidazol y nifurtimox. Estos son ciertamente útiles cuando la enfermedad está en la fase aguda, pero son cuestionados para la fase crónica debido a los efectos secundarios que se suman a los inducidos por la propia enfermedad (Salazar-Schettino et al., 2016; Apt et al., 2008; Castro et al., 2015). A pesar de ser un tratamiento de primera línea, sus efectos secundarios y la duración del tratamiento hacen que la mayoría de los pacientes utilicen estos fármacos como última opción.

En resumen, los péptidos antimicrobianos (PAM) son una alternativa útil para combatir la resistencia microbiana y las enfermedades infecciosas, especialmente debido a la creciente ineficacia de las terapias tradicionales. El objetivo de este trabajo es converger datos sobre la actividad antimicrobiana de los péptidos de ranas ecuatorianas para aislar aquellos con mayor impacto en bacterias clínicamente relevantes, así como comparar su actividad con péptidos internacionalmente aceptados. Este enfoque nos permitirá evaluar el potencial terapéutico de la biodiversidad local en el desarrollo de nuevas estrategias antimicrobianas.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

- Sintetizar información sobre la actividad antimicrobiana de péptidos aislados de la secreción de ranas ecuatorianas en diferentes microorganismos

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar el péptido antimicrobiano aislado de secreciones de ranas ecuatorianas con el mejor efecto sobre bacterias de interés clínico
- Comparar la actividad antimicrobiana de péptidos de ranas del Ecuador frente a péptidos descritos en la literatura científica

5. DESARROLLO TEÓRICO

5.1 ¿CUÁLES HAN SIDO LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS AISLADOS DE RANAS DESCUBIERTAS EN ECUADOR?

Los péptidos antimicrobianos aislados de ranas ecuatorianas incluyen tres familias principales identificadas en la última década. De *Cruziohyla calcarifer* se obtuvieron los cruzioseptinas, siendo el cruzioseptina-4 el más estudiado por sus propiedades antimicrobianas y leishmanicidas (Proaño-Bolaños et al., 2016; Mendes et al., 2020).

De *Agalychnis spurrelli* se extrajeron cuatro péptidos relacionados con dermaseptinas que muestran características estructurales distintivas (Cuesta et al., 2019). Finalmente, *Boana picturata* aportó dos familias completamente nuevas: picturinas y pictuseptinas, siendo el pictuseptin-1 particularmente relevante por su actividad antimicrobiana (Morán-Marcillo et al., 2022). Así, a continuación, se habla de cada familia mencionada para desarrollar las ideas de cada tema.

5.1.1 DESCUBRIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CRUZIOSEPTINAS

La investigación se originó a partir de la identificación de las cruzioseptinas, una familia de péptidos aislada de las secreciones cutáneas de *Cruziohyla calcarifer*, conocida como la "rana espléndida", típica de los bosques nubosos del Ecuador. Los estudios iniciales, que fueron desarrollados mediante técnicas peptidómicas y enfoques de clonación molecular, dieron lugar a una nueva familia de potentes péptidos antimicrobianos que posteriormente se denominarían cruzioseptinas (Proaño-Bolaños et al., 2016).

El primer paso para caracterizar las secreciones cutáneas consistió en una suave estimulación eléctrica de *C. calcarifer* para inducir la producción y extracción de secreciones, luego se separaron los componentes bioactivos y se identificó su estructura utilizando técnicas como la espectrometría de masas y secuenciación. Esta estrategia metodológica permitió aislar diversos péptidos con diversas actividades antimicrobianas, lo que abrió la puerta a estudios posteriores sobre su potencial terapéutico.

5.1.2 DERMASEPTINAS Y PICTUSEPTINAS

Se realizaron estudios adicionales en otras especies de anuros ecuatorianos para identificar otras familias de péptidos con propiedades bioactivas distintivas. Un estudio sobre *Agalychnis spurrelli*, llamada la rana planeadora ecuatoriana, aisló péptidos pertenecientes a la familia de AMP relacionada con la dermaseptina, un subgrupo de AMP previamente descubiertos en otras especies de sapos, pero con secuencias y propiedades novedosas en la especie ecuatoriana (Proaño-Bolaños et al., 2019).

Simultáneamente, la investigación sobre *Boana picturata*, o la rana del Chocó, reveló dos nuevas familias de péptidos antimicrobianos: picturinas y pictuseptinas. Los péptidos se caracterizaron mediante enfoques peptidómicos de alta resolución y transcriptómica, con características estructurales y funcionales distintivas que los separa de las familias de péptidos previamente descubiertas (Morán-Marcillo et al., 2022).

5.1.3 PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS OBJETO DE ESTUDIO ACTUAL

Las investigaciones más recientes de Proaño-Bolaños et al., (2024) se han centrado en el estudio sistemático de cinco péptidos individuales con un prometedor potencial terapéutico, cruzioseptina-1, cruzioseptina-4 (CZS-4) y cruzioseptina-16 de *Cruziohyala calcarifer*; dermaseptina-SP2 de *Agalychnis spurrelli*; y pictuseptina-1 de *Boana picturata* basándose en ensayos preliminares de actividad biológica.

En un análisis más detallado de los compuestos presentes, se seleccionaron cinco péptidos de interés para su estudio. Estos incluyen tres pertenecientes a la familia de las cruzioseptinas y dos correspondientes a las familias dermaseptina y pictuseptina. La actividad antimicrobiana de los péptidos se evaluó contra los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y una cepa de *S. aureus* resistente a la oxacilina; bacterias gramnegativas: *Escherichia coli* ATCC 25922, un aislado clínico de *Klebsiella pneumoniae*; y la levadura patógena oportunista *Candida albicans*.

La cruzioseptina-1 (CZS-1) es el péptido tipo de las cruzioseptinas, compuesto por 12 aminoácidos, con naturaleza anfipática y carga neta positiva. Este péptido, descrito inicialmente en 2016, ha servido como modelo para estudios de la relación estructura-actividad y ha mostrado una actividad antimicrobiana de amplio espectro contra bacterias grampositivas y gramnegativas (Proaño-Bolaños et al., 2016). La cruzioseptina-4 (CZS-4) fue el miembro más activo de la familia de las cruzioseptinas tras estudios comparativos de actividad biológica. Este péptido de 11 aminoácidos posee una secuencia que le confiere una actividad antimicrobiana y antiparasitaria, a la vez que reduce la citotoxicidad contra células de mamíferos. Los experimentos de modelado molecular, realizados por Cuesta et al. (2021), han demostrado que la CZS-4 posee una estructura secundaria estabilizada que le permite unirse a las membranas.

Cruzioseptin-16 (CZS-16) es un miembro estructural de la familia cruzioseptina que exhibe propiedades bioactivas únicas. Este péptido de 23 aminoácidos ha demostrado efecto antimicrobiano frente a protozoarios, pero exhibe una actividad selectiva contra células de mamífero (Proaño-Bolaños et al., 2024).

Dermaseptin-SP2 (DRS-SP2), derivado de *Agalychnis spurrelli*, es un péptido de 28 aminoácidos que posee características estructurales que lo diferencian de las dermaseptinas tradicionales, como alteraciones en áreas clave para la actividad antimicrobiana que proporcionan un perfil de bioactividad diferente (Cuesta et al., 2019).

Pictuseptin-1 (PTS-1) de *Boana picturata* es de la familia pictureptina recientemente descrita. Se ha demostrado que el péptido de 15 residuos de aminoácidos exhibe actividades antimicrobianas específicas contra *E. coli* y en menor medida contra protozoarios (Morán-Marcillo et al., 2022).

En varios estudios previos se ha analizado la actividad de péptidos antimicrobianos extraídos de secreciones cutáneas de diferentes anfibios, evaluando su efecto contra bacterias, hongos y parásitos de importancia clínica (Liu et al., 2019, 2020; Zhou et al., 2016; Wang et al., 2021; Pinto et al., 2013; Eggimann et al., 2015). Por ejemplo, la Dermaseptina-AC, proveniente de *Agalychnis callidryas*, mostró una buena capacidad para inhibir bacterias

grampositivas y gramnegativas con concentraciones mínimas inhibitorias entre 2 y 4 μM , aunque con cierta citotoxicidad moderada (Wang et al., 2021).

Por otro lado, las phylloseptinas, que se encuentran en especies del género *Phyllomedusa*, presentaron resultados variados: algunas, como la Phylloseptin-PHa2, lograron actividad antimicrobiana a bajas concentraciones (1–2 μM), mientras que otras mostraron poca o ninguna eficacia bajo las condiciones evaluadas (Liu et al., 2019, 2020; Zhou et al., 2016). Además, algunos péptidos demostraron un potencial importante contra parásitos, como es el caso de CZS-4, que mostró una potente actividad contra *Leishmania mexicana*

5.1.4 METODOLOGÍA DE SÍNTESIS Y PURIFICACIÓN

La valoración de estos cinco péptidos ha implicado el diseño de protocolos óptimos de síntesis química en fase sólida, para la construcción secuencial de las cadenas peptídicas. Los péptidos obtenidos se han purificado en procesos de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase inversa, alcanzando purezas superiores al 95 % necesarias para los estudios de actividad biológica (Proaño-Bolaños et al., 2024).

La caracterización de la estructura de los péptidos purificados se ha llevado a cabo por espectrometría de masas MALDI-TOF denominada en inglés "Matrix-Assisted Laser Desorción/Ionización Time-Of-Flight", en donde se validaron las masas moleculares esperadas y la ausencia de impurezas significativas. Por último, se han realizado estudios de modelado computacional para predecir las estructuras tridimensionales de estos péptidos y sus interacciones con las membranas microbianas, lo que permite comprender sus mecanismos de acción (Rengifo-Lema et al., 2024).

5.1.5 CONTRIBUCIÓN A LA BIODIVERSIDAD MOLECULAR ECUATORIANA

El descubrimiento y la caracterización de estos péptidos antimicrobianos constituyen una importante contribución al conocimiento de la biodiversidad molecular ecuatoriana, un país que posee una extraordinaria riqueza biológica. El descubrimiento de nuevas familias peptídicas como las cruzioseptinas, picturinas y pictuseptinas no solo aporta al conocimiento

de compuestos bioactivos para la investigación, sino que también destaca el potencial de los ecosistemas ecuatorianos como fuente de moléculas con posibles aplicaciones terapéuticas.

5.1.6 ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA Y ANTIMICROBIANA

Los estudios descritos a continuación, han indicado que los péptidos antimicrobianos de las secreciones de la piel de ranas ecuatorianas exhiben un espectro de bioactividad amplio contra diversos microorganismos patógenos. El análisis de estas moléculas ha revelado la presencia de patrones de actividad específicos que varían considerablemente en los péptidos aislados, lo que constituye una base para su evaluación como posibles compuestos terapéuticos. La actividad antimicrobiana se analizará más adelante en esta revisión.

5.1.7 ACTIVIDAD CONTRA PROTOZOARIOS PARÁSITOS

Se ha descrito la actividad antiparasitaria de estos péptidos mediante ensayos *in vitro* para evaluar su potencia contra los principales agentes etiológicos de enfermedades tropicales desatendidas. Específicamente, se ha observado una alta actividad contra *Trypanosoma cruzi*, con concentraciones inhibitorias medias (CI50), que es la concentración de un compuesto que se necesita para inhibir la actividad de un microorganismo en un 50 %, oscilan entre 2,3 y 8,7 μM , dependiendo según el péptido (Proaño-Bolaños et al., 2024). Esta eficacia tripanocida es particularmente relevante considerando que los tratamientos actuales contra la enfermedad de Chagas, como el benznidazol y el nifurtimox, presentan deficiencias significativas en términos de eficacia y tolerancia. Para la leishmaniasis, los péptidos mostraron acción leishmanicida contra *Leishmania mexicana*, destacando la cruzioseptina-4 (CZS-4) al mostrar un valor de CI50 de 1,8 μM contra promastigotes y 3,1 μM contra amastigotes intracelulares, formas parasitarias relevantes para la infección del huésped mamífero (Mendes et al., 2020). Esta doble actividad contra ambas especies del parásito es de alto interés terapéutico, especialmente cuando se compara con fármacos tradicionales como la anfotericina B, que posee una CI50 de aproximadamente 0,5 μM con una toxicidad sistémica grave. La actividad contra *Plasmodium falciparum* ha revelado que CZS-4 posee actividad antipalúdica con una CI50 de 4,2 μM contra las formas asexuales del parásito. Si

bien es superior a la de la cloroquina (0,02 μM), este valor es mejor considerando la buena seguridad del péptido y la resistencia generalizada a los antipalúdicos convencionales (Proaño-Bolaños et al., 2024)

5.1.8 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE AMPLIO ESPECTRO

Además de una actividad antiparasitaria, los péptidos han demostrado actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas gramnegativas y grampositivas. Como lo es CZS-4 ejerce una CMI de 8 μM contra *Escherichia coli*, una bacteria modelo gramnegativa, y de 4 μM contra *Staphylococcus aureus*, incluyendo SARM, lo que refleja su idoneidad para su uso contra infecciones bacterianas multirresistentes (Cuesta et al., 2021).

La actividad antifúngica de CZS-4 contra *Candida albicans* ha dado una CMI de 16 μM , un valor comparable al de antifúngicos convencionales como el fluconazol, especialmente considerando el creciente problema de la resistencia en el ámbito clínico.

5.1.9 SELECTIVIDAD Y SEGURIDAD

Las pruebas de citotoxicidad en líneas celulares de mamíferos mostraron que CZS-4 es un compuesto con una concentración citotóxica media (CC_{50}) superior a 128 μM en células HEK-293. Esto indica un índice de selectividad superior a 30, lo que significa que el compuesto es al menos 30 veces más tóxico para los microorganismos estudiados que para las células del organismo hospedador, lo cual sugiere que podría ser seguro para su uso terapéutico (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Leishmania mexicana* (forma promastigote), *Plasmodium falciparum* (estadio eritrocítico) y *Trypanosoma cruzi* (estadio mamífero) que para las células humanas, lo que resalta su potencial como agente terapéutico selectivo (Proaño-Bolaños et al., 2024). Esta selectividad diferencial constituye una clara ventaja terapéutica que podría reflejarse en una reducción de efectos adversos en futuras aplicaciones clínicas. La combinación de actividad antimicrobiana de amplio espectro, actividad antiparasitaria directa contra parásitos y especificidad para células patógenas identifica a CZS-4 como el candidato óptimo entre los péptidos investigados, lo que justifica su selección para estudios de desarrollo preclínico y optimización farmacológica.

5.1.10 RELEVANCIA Y POTENCIAL TERAPÉUTICO

Las enfermedades parasitarias tropicales endémicas, como la enfermedad de Chagas, producida por *Trypanosoma cruzi*, la leishmaniasis, producida por *Leishmania* spp., y la malaria, producida por *Plasmodium* spp., constituyen un problema de salud pública nacional e internacional que afecta especialmente a poblaciones extremadamente vulnerables de las regiones tropicales y subtropicales. Estas patologías representan uno de los mayores desafíos para el tratamiento debido a diversos factores que son limitantes como: la baja efectividad de los tratamientos farmacológicos actuales, la alta toxicidad de los fármacos convencionales y el creciente desarrollo de resistencia a los antiparasitarios de primera línea.

En este sentido, los péptidos antimicrobianos (AMP) provenientes de las secreciones cutáneas de anuros ecuatorianos se están convirtiendo en una nueva opción terapéutica que podría revolucionar el tratamiento de estas enfermedades. El interés por estas moléculas bioactivas radica en su mecanismo de acción claramente diferente al de antiparasitarios tradicionales y en la ventaja táctica de poder superar los mecanismos de resistencia desarrollados por los parásitos a la terapia tradicional con antiparasitarios. Además, la selectividad natural de estos péptidos por las membranas celulares parasitarias, en comparación con las membranas de los hospedadores mamíferos, ofrece un perfil de seguridad potencialmente mejorado que puede reducir significativamente los efectos secundarios de las terapias actuales.

Los estudios realizados por Proaño-Bolaños et al., (2024) y Rengifo-Lema et al., (2024) han dado como resultado la identificación y caracterización molecular de cinco péptidos antimicrobianos aislados de especies nativas de ranas tropicales, que han mostrado actividad antiparasitaria específica contra los principales agentes etiológicos de las enfermedades tropicales desatendidas. De estas moléculas, la cruzioseptina-4 (CZS-4) destaca por su desempeñado equilibrio entre una potente actividad antiparasitaria y una baja citotoxicidad en células de mamíferos, características que la posicionan entre las principales candidatas para su incorporación en evaluaciones preclínicas y desarrollo de fármacos (Mendes et al., 2020). Esta selectividad terapéutica para el lado positivo significa que la CZS-4 podría ser una

plantilla molecular para la evolución racional de nuevos fármacos antiparasitarios con perfiles de seguridad mejorados.

Estos resultados no solo tienen un impacto farmacológico, sino que también enriquecen el conocimiento sobre la biodiversidad bioactiva del Ecuador y promueven nuevas alternativas terapéuticas para enfermedades que afectan a más de mil millones de personas en el mundo. Esta relación entre la conservación de los recursos naturales y la investigación biomédica representa un claro ejemplo de cómo la bioprospección puede ser una herramienta efectiva para enfrentar los desafíos de la salud global, especialmente en enfermedades que históricamente han sido poco atendidas.

5.2 ¿CUÁL ES EL MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AMPS SOBRE LOS MICROORGANISMOS?

El mecanismo de los AMPs contra microorganismos infecciosos se caracteriza por un mecanismo multifásico centrado principalmente en la alteración de la integridad de la membrana celular. Este mecanismo es altamente efectivo contra diversos tipos de microorganismos, como la bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus*, la bacteria gramnegativa *Escherichia coli*, el hongo levaduriforme *Candida albicans* y los protozoos parásitos *Leishmania mexicana* y *Trypanosoma cruzi* (Proaño-Bolaños et al., 2024). La selectividad de estos péptidos hacia las células microbianas se debe, principalmente, a la diferencia en la composición de la membrana celular y la carga eléctrica de las células procariotas, fúngicas y parasitarias con respecto a las de las células hospedadoras eucariotas. Mientras que las membranas de los microorganismos patógenos presentan un mayor porcentaje de fosfolípidos aniónicos que confieren una carga negativa a la superficie celular, las membranas celulares de los mamíferos aún presentan una distribución asimétrica de fosfolípidos, con la mayoría de las moléculas neutras en la superficie externa (Cuesta et al., 2021). Esta composición permite que los AMP, con sitios catiónicos, induzcan uniones preferenciales con las membranas microbianas y, por lo tanto, limiten la toxicidad hacia las células hospedadoras.

La actividad antimicrobiana comienza con el reconocimiento y la unión del péptido a la superficie de la membrana microbiana, su inserción en la bicapa lipídica y la formación final de poros o cambios estructurales que comprometen la viabilidad celular del patógeno (Mendes et al., 2020).

5.2.1 INTERACCIÓN CON LA MEMBRANA CELULAR Y FORMACIÓN DE POROS

Los AMPs como la cruzioseptina-4 (CZS-4), dermaseptina-SP2 y pictuseptina-1, exhiben una arquitectura molecular anfipática caracterizada por la presencia simultánea de regiones hidrofílicas e hidrofóbicas que facilita su interacción específica con las membranas lipídicas de diversos microorganismos patógenos. Esta peculiaridad estructural constituye el fundamento de su mecanismo de acción antimicrobiana, permitiendo que estos péptidos establezcan interacciones electrostáticas iniciales con los componentes fosfolipídicos de la membrana plasmática microbiana, seguidas de una inserción progresiva en la bicapa lipídica.

Los estudios computacionales y de modelado molecular han demostrado que la bioactividad de estos AMPs se fundamenta en su capacidad para formar poros, como se observa en la Figura 3. adaptada de Matsuzaki et al. (2009), donde se evidencia la formación de poros en vesículas de lípidos inducida por magainina. Durante el proceso de inserción, las interacciones electrostáticas entre las regiones cargadas positivamente de los péptidos antimicrobianos (AMPs) y las regiones cargadas negativamente de los fosfolípidos de la membrana celular generan cavidades que comprometen su integridad estructural (Cuesta et al., 2021).

Durante el proceso de inserción, las interacciones electrostáticas entre las regiones cargadas positivamente de los péptidos antimicrobianos (AMPs) y las regiones cargadas negativamente de los fosfolípidos de la membrana celular generan cavidades que comprometen su integridad estructural (Cuesta et al., 2021). Esta permeabilización de la membrana plasmática desencadena una cascada de eventos letales para el microorganismo, iniciando con la disrupción de los gradientes iónicos transmembranales esenciales para la

homeostasis celular. Posteriormente, se produce la pérdida masiva de componentes intracelulares críticos, culminando en el colapso osmótico y la lisis celular del patógeno. Este mecanismo es efectivo contra bacterias Gram negativas y positivas, hongos y protozoarios (Proaño-Bolaños et al., 2024).

5.2.2 ESPECIFICIDAD Y SELECTIVIDAD DEL MECANISMO

Uno de los aspectos más interesantes del mecanismo de acción de los péptidos antimicrobianos es su selectividad por las membranas microbianas, a la vez que presentan una baja toxicidad para las células de mamíferos. Sin embargo, esto no es casualidad, sino que se debe a las grandes diferencias composicionales entre las distintas membranas celulares (Zhang et al., 2021).

No obstante, para comprender completamente esta forma de acción de los AMP, primero es necesario examinar la composición molecular de las membranas bacterianas. Estas membranas presentan una composición lipídica muy particular, siendo los fosfolípidos con carga negativa los más destacados. De hecho, la fosfatidiletanolamina constituye aproximadamente tres cuartas partes de los fosfolípidos totales, mientras que el fosfatidilglicerol representa una quinta parte del contenido total. La cardiolipina, aunque no es tan común, con tan solo un 5 %, desempeña un papel crucial en la estabilización de la membrana (Sohlenkamp y Geiger, 2016).

Esta forma tiene repercusiones electrostáticas inmediatas. Dado que la mayoría de los péptidos antimicrobianos tienen carga neta positiva, la superficie bacteriana, que tiene carga negativa, actúa como un imán molecular y atrae al péptido en su aproximación inicial. Posteriormente, tras este contacto inicial, el péptido puede insertarse en la bicapa lipídica y comprometer la integridad estructural de la membrana (Kumar et al., 2018).

Las membranas celulares de mamíferos difieren significativamente de las bacterianas, ya que están compuestas principalmente por fosfolípidos zwitteriónicos como la fosfatidilcolina y la esfingomielina, en lugar de fosfolípidos aniónicos. Además, la alta proporción de colesterol (hasta un 40 % del contenido lipídico) modifica las propiedades biofísicas de la membrana,

haciéndola más rígida y menos permeable (Mahlpuu et al., 2016). Estas diferencias estructurales contribuyen a que los péptidos antimicrobianos interactúen preferentemente con las membranas microbianas, minimizando su efecto sobre las células mamíferas.

El colesterol, en particular, induce rigidez estructural y altera el empaquetamiento de los fosfolípidos vecinos. Estas alteraciones no solo reducen la fluidez general de la membrana, sino que también interfieren con la capacidad de los péptidos antimicrobianos para insertarse eficientemente en la bicapa. En consecuencia, la actividad lítica disminuye significativamente (Greber et al., 2019). Desde un punto de vista terapéutico, varios AMP presentan cierta actividad prometedora contra las membranas de mamíferos y, por lo tanto, sus aplicaciones clínicas son limitadas, el desarrollo de compuestos específicos es una prioridad en la investigación farmacológica en curso (Cardoso et al., 2024). Precisamente en este contexto, los péptidos de las secreciones de anfibios ecuatorianos estudiados por Proaño-Bolaños y coautores cobran especial relevancia, ya que han presentado buenos perfiles de selectividad hacia diversos patógenos con baja toxicidad para la célula huésped (Proaño-Bolaños et al., 2024).

5.2.3 ACCIÓN SOBRE BACTERIAS Y HONGOS

Los AMP son una clase diversa de péptidos bioactivos que se han convertido en un componente esencial del sistema inmunitario innato. Los AMP poseen mecanismos de acción complejos que van más allá de la simple disrupción de la membrana, con múltiples mecanismos moleculares involucrados para determinar su especificidad y eficacia antimicrobiana (Proaño-Bolaños et al., 2016). Una comprensión profunda de estos mecanismos es importante para el diseño de nuevos fármacos terapéuticos que utilicen péptidos naturales de la biodiversidad ecuatoriana. Como destacan Proaño-Bolaños et al. (2016) "estos péptidos inhiben el crecimiento de numerosos microorganismos patógenos, incluyendo virus con envoltura, bacterias grampositivas y gramnegativas, protozoos y hongos".

5.2.4 INTERACCIÓN INICIAL Y RECONOCIMIENTO CELULAR

El mecanismo de acción de los AMP comienza con el reconocimiento selectivo de las membranas microbianas, proceso que depende en gran medida de las propiedades fisicoquímica tanto del péptido como de la superficie celular diana. La selectividad se debe a las diferencias naturales en la composición lipídica de las membranas entre las células microbianas y las células eucariotas hospedadoras. En particular, las capas externas de las membranas eucariotas contienen una mayor proporción de fosfolípidos con carga negativa (aniónicos) (Cuesta et al., 2019). Los péptidos catiónicos inician las interacciones electrostáticas con estos componentes con carga negativa, mientras que sus porciones hidrofóbicas facilitan una mayor penetración en la bicapa lipídica.

Las cruzioseptinas y pictuseptinas de ranas ecuatorianas como *Cruziohyla calcarifer* y *Boana picturata* demuestran esta especificidad al adoptar su conformación anfipática típica (Proaño-Bolaños et al., 2016; Morán-Marcillo et al., 2022). Estos péptidos poseen dominios hidrofílicos catiónicos que facilitan el contacto inicial con los componentes aniónicos de la membrana microbiana, y sus porciones hidrofóbicas facilitan la inserción posterior en la bicapa lipídica (Cuesta et al., 2021). Esta dualidad estructural es vital en la actividad antimicrobiana, ya que facilita tanto el reconocimiento especial como la penetración efectiva de la membrana para determinar qué "conduce a la formación de canales aniónicos y la penetración de la membrana que permite la salida de OH⁻ y el desacoplamiento de la respiración" (Proaño-Bolaños et al., 2021; Cuesta et al., 2021).

5.2.5 MECANISMOS DE ACCIÓN CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS

En el caso de bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, los AMP se encuentran con una pared celular compuesta principalmente por peptidoglicano y ácido teicoico. Los polímeros aniónicos, que son ácidos teicoicos, poseen sitios de unión específicos para péptidos catiónicos (Proaño-Bolaños et al., 2019). Tras el contacto inicial, los AMP deben atravesar la gruesa capa de peptidoglicano para alcanzar la membrana citoplasmática, donde

ejercen su principal acción lítica. Las cruzioseptinas han demostrado una eficacia específica contra este tipo de bacterias, lo que implica que su estructura es adecuada para una penetración efectiva de la pared celular grampositiva (Mendes et al., 2020).

Por otro lado, las bacterias gramnegativas, como *Escherichia coli*, poseen una organización estructural más compleja que incluye una membrana externa enriquecida con lipopolisacáridos (LPS). Los LPS constituyen la primera barrera que los AMP deben atravesar, creando interacciones específicas con cadenas de oligosacáridos con carga negativa (Cuesta et al., 2021). La naturaleza anfipática de los péptidos les permite no solo unirse a los LPS, sino también desestabilizar la membrana externa intercalando sus porciones hidrofóbicas entre las cadenas de acilo de los fosfolípidos. Este primer paso permite la entrada al espacio periplásmico y, finalmente, a la membrana citoplasmática interna, donde se produce una perturbación letal de la integridad celular.

5.2.6 MODELOS DE PERMEABILIZACIÓN DE MEMBRANA

La formación de poros es uno de los modos de acción mejor detallados, pues se ha demostrado su presencia en múltiples modelos coexistentes, dependiendo de la concentración de péptidos y el tipo de membrana diana (Rengifo-Lema et al., 2024). Otro modelo, el de poro de barril, los péptidos se insertan en ángulo recto en la membrana para formar canales llenos de agua, se ha sugerido como el modo de acción de ciertas cruzioseptinas (Proaño-Bolaños et al., 2016). En este modelo, la alineación de varias moléculas peptídicas crea estructuras cilíndricas a través de las cuales se produce el movimiento irregular de iones y moléculas pequeñas en la membrana. Se puede visualizar los distintos modelos de acción de los AMP en la Figura 4.

Por otro lado, el modelo de alfombra describe un proceso mediante el cual los péptidos se agrupan en la superficie de la membrana hasta alcanzar la concentración crítica, lo que desencadena una solubilización de la bicapa lipídica similar a la de un detergente. El proceso parece ser particularmente relevante para las pictuseptinas de *Boana picturata*, cuya conformación y características fisicoquímicas favorecen la formación de complejos péptido-

lípidos que desestabilizan la organización estructural de la membrana (Morán-Marcillo et al., 2022).

El modelado molecular confirma el modo de acción de las cruzioseptinas, que se basan en la desorganización de la membrana celular mediante interacciones electrostáticas entre los residuos de aminoácidos catiónicos del péptido y los grupos fosfato aniónicos de la membrana celular del patógeno (Cuesta et al., 2021), lo que valida estos modelos teóricos mediante evidencia experimental.

5.2.7 ESPECIFICIDAD HACIA *Candida albicans*

La actividad antifúngica de los AMPs posee características distintivas relacionadas con la peculiar estructura de las membranas fúngicas levaduriformes. *Candida albicans*, como célula eucariota, posee membranas ricas en ergosterol, un esteroide muy distinto del colesterol presente en las células de mamíferos (Proaño-Bolaños et al., 2024). Esta diferencia en la composición proporciona una ventana terapéutica que los AMP pueden aprovechar para exhibir toxicidad selectiva sobre las células fúngicas.

Los péptidos antimicrobianos se unen preferentemente al ergosterol debido a la estructura del dominio lipídico y a las variaciones en la fluidez de la membrana (Cuesta et al., 2019). Mencionado según Proaño-Bolaños et al., 2024 se sabe que la presencia de ergosterol modifica la estructura y la dinámica de la bicapa lipídica, creando microambientes propicios para la inserción y agregación de péptidos anfipáticos. Por lo tanto, la interacción del péptido con el ergosterol induce defectos estructurales y la fuga de iones esenciales como el potasio y el magnesio, así como de metabolitos necesarios para la supervivencia celular.

5.2.8 MECANISMOS DE ACCIÓN SOBRE PROTOZOARIOS PATÓGENOS

La membrana plasmática de los promastigotes de *Leishmania* spp. posee características específicas, incluyendo la presencia de glicoconjugados específicos como el lipofosfoglicano (LPG) y la glicoproteína de superficie gp63, que influyen en la interacción con los AMP (Mendes et al., 2020). Las cruzioseptinas han demostrado la capacidad de superar estas barreras moleculares, induciendo a los promastigotes a experimentar alteraciones

morfológicas extremas, incluyendo la pérdida del flagelo, el cambio en la forma celular y, finalmente, la lisis celular (Mendes et al., 2020). Estas acciones muestran que la acción de los péptidos no se limita a la disrupción de la membrana plasmática únicamente y puede implicar la interferencia con estructuras especializadas como el cinetoplasto y el aparato flagelar. En *Trypanosoma cruzi*, la complejidad morfológica del parásito añade niveles adicionales de especificidad a la acción de los AMP (Proaño-Bolaños et al., 2024). Los estadios tripomastigotes, responsables de la transmisión de huésped a huésped, presentan una membrana ondulada y un flagelo que emerge de una invaginación de la membrana plasmática denominada saco flagelar. Se ha demostrado que los AMP son activos tanto contra los estadios tripomastigotes como contra los amastigotes intracelulares, lo que sugiere mecanismos de acción independientes de las disparidades morfológicas entre estas etapas del ciclo parasitario (Proaño-Bolaños et al., 2024).

La evidencia experimental muestra que los péptidos antimicrobianos inducen cambios rápidos en la permeabilidad de la membrana del tripomastigote de *Trypanosoma cruzi*, evidenciados por la entrada incontrolada de colorantes vitales y la liberación de contenido citoplasmático (Proaño-Bolaños et al., 2024). Además, estudios ultraestructurales revelan que su acción no se limita a la membrana, sino que también provoca alteraciones en orgánulos especializados como el cinetoplasto, un orgánulo mitocondrial que contiene el ADN del parásito y es crucial para su supervivencia y replicación (Mendes et al., 2020).

5.2.9 MECANISMO DE ACCIÓN BASADO EN MEMBRANA

Según García-Olivares et al. (2019), el mecanismo de acción de los péptidos antimicrobianos implica la interacción electrostática con la membrana celular de los microorganismos, formando así poros que causan lisis. Esta característica, como señalan Martínez et al. (2021) y Ramírez et al. (2023), esta característica les otorga ventajas frente a antimicrobianos tradicionales, como es el caso de tener menos probabilidades de generar resistencia.

La primera interacción de los AMP con los componentes de la membrana es un proceso altamente selectivo basado en las variaciones de composición entre células procariotas y eucariotas. Los péptidos antimicrobianos operan mediante mecanismos físicos, que incluyen interacciones electrostáticas e hidrofóbicas con las estructuras lipídicas de la membrana, permitiéndoles así penetrar las membranas celulares y alterar su integridad (Gordon et al., 2024). Esta diferencia en la manera en que actúan los péptidos se debe a que las membranas de las bacterias tienen muchos fosfolípidos con carga negativa, como el fosfatidilglicerol y la cardiolipina. En cambio, las membranas de las células eucariotas (como las humanas) están hechas principalmente de fosfolípidos que tienen cargas positivas y negativas que se equilibran, como la fosfatidiletanolamina, la fosfatidilcolina y la esfingomielina, por lo que su carga total es neutra (Luong et al., 2020).

El complejo mecanismo de acción constituye una ventaja contra los patógenos resistentes. Los AMP pueden interferir con las membranas microbianas de diversas maneras, como lo es en el modelo de duelas de barril, que forma poros transmembrana; el modelo de poros toroidales, que forma poros cooperativos péptido-lípido; y el modelo de alfombra, que induce la lisis superficial (Sadeeq et al., 2025). Esta variedad de mecanismos contrasta directamente con los antibióticos tradicionales, que suelen dirigirse a dianas moleculares y, por lo tanto, facilitan el desarrollo de los correspondientes mecanismos de resistencia específicos (Barrantes Jiménez, Chacón Jiménez, y Arias Andrés, 2022). Además, la capacidad de los AMP para mantener su actividad contra diversos microorganismos es una propiedad llamativa para el contexto clínico actual, más aún al ser eficaces contra cepas resistentes sin que se las mismas desarrollen farmacorresistencia. Gracias a este amplio espectro, un solo fármaco puede actuar contra varios patógenos al mismo tiempo, evitando recurrir a terapias combinadas y disminuye los riesgos relacionados con el uso de múltiples medicamentos.

La menor capacidad al desarrollo de resistencia microbiana es quizás la ventaja más significativa de los AMP. Si bien la bibliografía, como lo detallan Arora et al. (2018), han definido ciertos mecanismos de resistencia bacteriana, como la producción de proteasas, la

modificación de la carga superficial celular, cambios en la fluidez de la membrana y la activación de bombas de eflujo, estos requieren modificaciones estructurales complejas y metabólicamente costosas para el microorganismo. La membrana celular es una estructura crítica cuya alteración repentina puede inviabilizar la célula y, por lo tanto, limitar las vías para el desarrollo de resistencia. Esta característica se asemeja mucho más a la resistencia a los antibióticos clásicos, donde una mutación puntual puede ser suficiente para inducir una resistencia absoluta al fármaco. Los mecanismos de acción dirigidos a la membrana presentan el reto de que los microorganismos tengan que realizar varias adaptaciones simultáneas para mantener la función celular mientras escapan a la acción del péptido, un desafío evolutivo mucho mayor.

Además, el modo de acción no lítico de algunos AMP, al permitir la eliminación de células bacterianas sin desencadenar otros mecanismos de lisis, amplía aún más su rango de acción y reduce el riesgo de desarrollo de resistencia (Lin et al., 2024). Esta diversidad de mecanismos respalda la posición de los AMP como opciones terapéuticas clave ante la pandemia actual de resistencia a los antimicrobianos.

5.3 ¿CUÁL ES EL EFECTO CITOTÓXICO DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS?

La citotoxicidad de los péptidos antimicrobianos (AMPs) es un parámetro crítico para evaluar su viabilidad terapéutica, ya que determina la ventana entre su eficacia antimicrobiana y la toxicidad hacia las células del huésped. Esta citotoxicidad se fundamenta en la hipótesis de selectividad diferencial, que explica cómo los AMPs pueden eliminar microorganismos patógenos sin dañar significativamente las células eucariotas. Esta selectividad se debe principalmente a las diferencias en la composición de las membranas celulares: las bacterianas contienen una alta proporción de fosfolípidos aniónicos como fosfatidilglicerol y cardiolipina, mientras que las membranas de células mamíferas están compuestas principalmente por fosfolípidos zwitteriónicos, como fosfatidilcolina y esfingomiolina, con carga neta neutra (Luong et al., 2020). Estas diferencias bioquímicas permiten que los AMPs

interactúen preferentemente con las membranas microbianas, lo que explica su eficacia y baja toxicidad hacia las células del huésped.

Para cuantificar la seguridad de los AMPs, se utiliza el índice terapéutico, que relaciona la concentración citotóxica (CC_{50}) en células de mamíferos con la concentración mínima inhibitoria (CMI) contra microorganismos patógenos. Un índice terapéutico alto indica un mayor margen de seguridad clínica. Estudios han demostrado que la optimización estructural de los AMPs puede incrementar este índice significativamente (Han et al., 2021; Ghosh et al., 2019).

Las propiedades estructurales y fisicoquímicas de los AMPs, como la hidrofobicidad y la anfipaticidad, son esenciales para su acción antimicrobiana, pero también pueden aumentar la citotoxicidad hacia células eucariotas (Aparicio-Blanco et al., 2025). Por ello, el diseño terapéutico requiere un equilibrio delicado para maximizar la selectividad y minimizar efectos adversos.

Investigaciones con péptidos derivados de anfibios ecuatorianos han mostrado patrones de citotoxicidad diferencial favorables, donde ciertos péptidos como las cruzioseptinas exhiben alta actividad antimicrobiana con baja toxicidad en células de mamíferos (Cuesta et al., 2021; Morán-Marcillo et al., 2022). Además, la susceptibilidad a la citotoxicidad varía entre tipos celulares, siendo algunas células más vulnerables que otras (Pappalardo et al., 2019).

La actividad hemolítica es otro parámetro complementario para evaluar la citotoxicidad, utilizando eritrocitos como modelo sencillo. Sin embargo, la hemólisis no siempre correlaciona con la toxicidad en otros tipos celulares, por lo que se requieren análisis complementarios (Rességuier et al., 2020).

En base a los estudios de Proaño-Bolaños et al. (2019) en la Figura 5. se correlaciona la actividad hemolítica de las Dermaseptinas SP2–SP5 y de la Filoseptina SP-1 sobre eritrocitos a diferentes concentraciones de los cinco péptidos antimicrobianos, expresada como porcentaje de hemólisis en comparación con la lisis completa con Triton X-100. El péptido más tóxico fue la Filoseptina SP-1, que causó una hemólisis cercana al 100 % a

concentraciones de 512 y 256 mg/L, y mantuvo una alta actividad hemolítica (~40 %) a 64 mg/L. Por otro lado, los péptidos dermaseptina fueron mucho menos hemolíticos: a 512 mg/L, SP3 y SP4 presentaron una hemólisis del 45 % al 60 %, mientras que SP2, y especialmente SP5, fueron considerablemente menos tóxicos (menos del 30 %). A una concentración de 64 mg/L o inferior, todos los péptidos similares a la dermaseptina causaron menos del 5 % de hemólisis, un perfil más seguro que el de la filoseptina SP-1. En general, la dermaseptina SP-2 es óptima entre los péptidos con baja toxicidad hemolítica y potencial actividad antimicrobiana, lo que la hace ideal por su alto índice terapéutico (Cuesta et al., 2019).

En el caso de péptidos con actividad antiparasitaria, como los dirigidos contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania mexicana*, se ha observado una citotoxicidad mínima en células mamíferas, lo que es crucial para preservar la viabilidad celular huésped (Proaño-Bolaños et al., 2024). Para minimizar la citotoxicidad sin comprometer la potencia antimicrobiana, se emplean estrategias como la modificación anfipática, incorporación de aminoácidos D-enantioméricos, ciclización de péptidos y optimización de la carga neta, que maximizan la selectividad hacia membranas microbianas (Yepez et al., 2022). Estos hallazgos refuerzan el potencial terapéutico de los AMPs derivados de fuentes naturales, especialmente de anfibios, y sientan las bases para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos con perfiles de seguridad y eficacia mejorados.

5.3.1 MECANISMOS SUBYACENTES A LA CITOTOXICIDAD DIFERENCIAL

Los péptidos antimicrobianos provenientes de las secreciones cutáneas de los anfibios presentan una citotoxicidad diferencial, un mecanismo extremadamente sofisticado para combatir patógenos, a la vez que preservan la integridad celular del organismo huésped. La especificidad del efecto antimicrobiano se basa en las diferencias estructurales y composicionales que distinguen las membranas celulares de los microbios patógenos de las de las células eucariotas superiores (Proaño-Bolaños et al., 2024).

Los estudios de Proaño-Bolaños et al. (2024) y Mendes et al. (2020) realizados con cruzioseptinas, en particular la CZS-4, demostraron que estas estos AMPS pueden exhibir

una potente actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, actividad leishmanicida contra *Leishmania mexicana* y actividad tripanocida contra *Trypanosoma cruzi*, además de presentar baja citotoxicidad contra células de mamíferos. Esta selectividad terapéutica se ha atribuido no solo a las diferencias en la composición lipídica de la membrana, sino también al potencial transmembrana y a la variación estructural de la arquitectura de la membrana celular.

El mecanismo de acción propuesto para estos péptidos implica el reconocimiento inicial y la unión a la superficie celular, seguido de la inserción en la bicapa lipídica y el establecimiento de poros o canales que alteran la permeabilidad selectiva de la membrana (Rengifo-Lema et al., 2024). El proceso provoca la disipación del gradiente electroquímico, el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y, finalmente, la muerte celular por colapso energético. La naturaleza anfipática de los fármacos peptídicos, en relación con la segregación espacial de residuos hidrofóbicos e hidrofílicos, les permite interactuar con las interfaces lipídicas y reorganizarse estructuralmente al unirse a las estructuras de permeabilización (Cuesta et al., 2019).

Un conocimiento profundo de estos procesos moleculares no solo dilucida los mecanismos de la acción antimicrobiana selectiva, sino que también proporciona una base racional para el diseño y la optimización de análogos peptídicos con mayor eficacia terapéutica, una estrategia prometedora para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos contra la amenaza emergente de la resistencia microbiana.

5.3.2 ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PÉPTIDOS ECUATORIANOS FRENTE A ESTUDIOS EXTRANJEROS

El análisis sistemático de la actividad antimicrobiana de los péptidos descubiertos por Proaño-Bolaños et al. (2024) como las cruzioseptinas, pictuseptinas y dermaseptinas ecuatorianas, permite evaluar su competitividad en comparación con estudios recientes de Gao et al. (2020) y Liu et al. (2019) sobre filoseptinas, así como Chen et al. (2021) sobre dermaseptinas optimizadas. La comparación de los valores de concentración mínima

inhibitoria (CMI) revela diferencias significativas en la actividad antimicrobiana entre los péptidos ecuatorianos y aquellos estudiados en la última década.

En cuanto a la actividad frente a *Escherichia coli*, la cruzioseptina-1 exhibe una CMI de 3,77 μM , mientras que la cruzioseptina-4 presenta una CMI de 13,09 μM (Proaño-Bolaños et al., 2024). La dermaseptina-SP2 muestra actividad con un valor de 2,68 μM (Proaño-Bolaños et al., 2019), y la dermaseptina-AC de *Agalychnis callidryas* tiene una CMI entre 2 y 4 μM (Chen et al., 2021). Por otro lado, la filoseptina-PV1 presenta una actividad menor con una CMI de 32 μM (Liu et al., 2020). La pictuseptina-1 tiene una CMI de 54,64 μM (Morán-Marcillo et al., 2022). En esta comparación, la cruzioseptina-1 y la dermaseptina-SP2 son claramente más potentes que la mayoría de filoseptinas frente a *Escherichia coli*.

Respecto a *Staphylococcus aureus*, la cruzioseptina-1 tiene una CMI de 3,77 μM y la cruzioseptina-4 de 26,18 μM (Proaño-Bolaños et al., 2024). La dermaseptina-SP2 exhibe una CMI de 2,68 μM (Proaño-Bolaños et al., 2019), y la dermaseptina-AC presenta una CMI de aproximadamente 2 μM (Chen et al., 2021). La filoseptina-PV1 muestra valores entre 2 y 4 μM (Liu et al., 2020). La pictuseptina-1 también muestra selectividad y mejor eficacia contra *S. aureus* que contra *E. coli* (Morán-Marcillo et al., 2022). En general, la filoseptina-PT2 es la más potente frente a *S. aureus* con una CMI de 8 μM (equivalente a 16 mg/L contra *Candida albicans*), seguida por dermaseptinas y cruzioseptinas.

En la actividad antifúngica contra *Candida albicans*, la cruzioseptina-1 presenta una CMI de 8,0 μM , mientras que la pictuseptina-1 es menos activa con 54,64 μM (Proaño-Bolaños et al., 2024). La filoseptina-PV1 tiene una CMI de 8 μM (Liu et al., 2020), similar a la cruzioseptina-1 y significativamente más potente que la pictuseptina-1. La dermaseptina-AC exhibe la mayor potencia antifúngica con valores entre 2 y 4 μM (Chen et al., 2021). La filoseptina-PHa muestra una actividad moderada con 32 μM , mientras que su análogo filoseptina-PHa2 mejora esta actividad con 8 μM (Liu et al., 2019).

Finalmente, en la actividad antiprotozoaria, los péptidos ecuatorianos destacan frente a *Leishmania mexicana*. La cruzioseptina-1 tiene un CI50 de 0,54 μM , la cruzioseptina-4 de

0,09 μM , la cruzioseptina-16 de 6,46 μM , la dermaseptina-SP2 de 0,61 μM y la pictuseptina-1 de 0,10 μM (Proaño-Bolaños et al., 2024). Estos valores reflejan una potencia notable, especialmente para cruzioseptina-4 y pictuseptina-1 con valores submicromolares. Pinto et al. (2013) reportaron actividad contra *Trypanosoma cruzi* con IC50 entre 0,25 y 0,68 μM para dermaseptinas 1 y 4, comparables a los valores de cruzioseptina-1 (2,87 μM), cruzioseptina-4 (1,55 μM) y pictuseptina-1 (1,42 μM) contra tripomastigotes (Proaño-Bolaños et al., 2024). La dermaseptina-4 requiere 0,25 μM para ser efectiva contra *T. cruzi*, mientras que la filoseptina-7 necesita concentraciones diez veces mayores (10 μM) para actuar contra *L. infantum* (Pinto et al., 2013). La temporina-A requiere entre 15 y 25 μM para actividad contra *Leishmania* (Eggimann et al., 2015). Estas diferencias evidencian la alta eficacia antiparasitaria de los péptidos ecuatorianos, posicionándolos por encima de otros péptidos descritos en la literatura.

En base a estos datos, se procedió a realizar un gráfico de barras (Figura 6) que exhibe la comparación de la actividad antimicrobiana de los péptidos frente a los microorganismos evaluados. En el eje horizontal están los microorganismos y en el vertical, la concentración mínima inhibitoria (MIC del inglés) en micromolar (μM), usando una escala logarítmica. La interpretación es, mientras más baja es la barra, mayor es la potencia del péptido, porque necesita menos concentración para inhibir el crecimiento. Las barras más altas, en cambio, indican menor eficacia. Cada péptido tiene un color distinto, lo que facilita su comparación y su actividad contra cada microorganismo.

Por consiguiente, también se realizó una tabla comparativa de los distintos AMP frente a distintos patógenos para representar la información descrita tabulada frente a una tabla comparativa.

5.3.3 IMPLICACIONES PARA EL DESARROLLO FARMACÉUTICO

Los péptidos antimicrobianos, a pesar de su efectividad, todavía presentan varios problemas para ser usados como medicamentos, lo que limita su comercialización. Zhang (2024) indica que, hasta octubre de 2024, la Administración de Alimentos y Medicamentos de

los Estados Unidos (FDA) había autorizado la comercialización de menos de 30 péptidos antimicrobianos, lo que refleja desafíos en su desarrollo farmacéutico. Entre los pocos ejemplos comercialmente viables se encuentra la nisina, una bacteriocina de *Lactococcus lactis* aprobada por la FDA como conservante alimentario en más de 80 países y el único péptido antimicrobiano aprobado por ley como bioconservante (Moretta et al., 2021). La nisina también se está explorando en ensayos clínicos para el tratamiento del carcinoma escamocelular de la cavidad oral, lo que demuestra que la transición de alimentos a fármacos ha sido factible.

Un desafío presente es la degradación proteolítica, que es el principal desafío técnico, ya que los péptidos antimicrobianos son susceptibles a las enzimas que los degradan rápidamente *in vivo*, lo que reduce significativamente su farmacocinética (el tiempo que el fármaco permanece activo en el organismo y cómo se distribuye, degrada y elimina) (Valarezo, 2022). Según Zhang (2024) esta degradación enzimática limita significativamente la eficacia terapéutica, lo que explica por qué el 70 % de los péptidos antimicrobianos disponibles en el mercado son cíclicos. La ciclización es la forma de enlaces intramoleculares que estabilizan la estructura del péptido, reduciendo la solvatación (proceso el cual las moléculas de disolvente rodean y estabilizan las partículas disueltas) (Valarezo, 2022) y aumenta la permeabilidad de la membrana dando una mayor resistencia a la degradación proteolítica, lo que permite que estos péptidos sobrevivan más tiempo en el organismo.

A esto se suma la complejidad de la formulación farmacéutica. Chen et al. (2022) describen que los péptidos antimicrobianos requieren excipientes únicos, condiciones de almacenamiento rigurosas y largos procedimientos de purificación para mantener la estabilidad y la actividad biológica, y el coste de la expresión recombinante es de 250 000 € por gramo, mientras que la síntesis química es aún mayor (Zhang, 2024). Además, debe utilizarse la administración parenteral (por inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea) porque los péptidos antimicrobianos no pueden administrarse por vía oral con ninguna eficacia. Según Deshayes et al. (2022), la biodisponibilidad oral de los péptidos suele ser inferior al 1-2 % debido a que son degradados por enzimas gastrointestinales en el estómago

y el intestino y tienen una permeabilidad muy baja a través de la mucosa intestinal. Esto resta valor a las vías de administración orales como píldoras o cápsulas, requiriendo inyecciones que son menos convenientes, más dolorosas, costosas y requieren personal médico capacitado (Mahato et al., 2003).

5.4 ¿SOBRE QUÉ MICROORGANISMOS HAN SIDO PROBADOS Y ESTUDIADOS?

La investigación de péptidos antimicrobianos (AMP) procedentes de secreción cutáneas de anuros ecuatorianos ha demostrado un rango de actividad amplio contra una diversa variedad de patógenos con significación clínica. Los estudios realizados por Proaño-Bolaños y colaboradores (2016) han establecido la base sistemática para la valoración de los compuestos bioactivos, dirigida principalmente contra microorganismos de gran importancia a nivel global como patógenos y enfermedades tropicales desconocidas.

5.4.1 PROTOZOARIOS

Los péptidos antimicrobianos han demostrado actividad positiva contra protozoos causantes de enfermedades tropicales endémicas en el país. Proaño-Bolaños et al. (2024) evaluaron péptidos de *Cruziohyla calcarifer*, *Agalychnis spurrelli* y *Boana picturata* contra tres especies de protozoos patógenos de interés local. *Trypanosoma cruzi*, endémico del Ecuador es causante de la enfermedad de Chagas, se evaluó con la cepa *Tulahuen*, productora de β -galactosidasa, lo que permite una cuantificación precisa de la viabilidad del parásito mediante ensayos colorimétricos en células LLC-MK2 infectadas (Proaño-Bolaños et al., 2024). Los resultados revelaron que varios péptidos de la familia cruzioseptina son extremadamente tripanocidas, lo que presenta una opción como agentes terapéuticos. Estos hallazgos concuerdan con las investigaciones de Pinto et al. (2013) que demuestran la actividad antiparasitaria de péptidos anfibios, como las dermaseptinas aisladas de *Pithecopus nordestinus* contra *T. cruzi*, con una CI50 de entre 0,25 y 0,68 μ M.

El potencial leishmanicida de estos péptidos se evaluó contra promastigotes de *Leishmania mexicana* utilizando cultivos axénicos en medio de Schneider suplementados con

suero fetal bovino. Mendes et al. (2020) informan que las cruzioseptinas exhiben una inhibición significativa del crecimiento parasitario, lo cual se determina mediante ensayos de reducción de MTT “Methyl Thiazolyl Tetrazolium”. Esta actividad es particularmente notable considerando la aparición de resistencia de *Leishmania* spp. a terapias convencionales como los antimoniales pentavalentes y la anfotericina B (Torres-Guerrero et al., 2017), donde urgente la necesidad de nuevos tratamientos contra la leishmaniasis cutánea y visceral (Burza et al., 2018).

También se utilizó *Plasmodium falciparum*, el parásito que causa la forma más peligrosa de malaria en humanos. Para los experimentos, se usaron dos tipos de clones: uno sensible al medicamento cloroquina (NF54) y otro que es resistente a varios medicamentos (TM90C2B). Las pruebas de fluorescencia SYBR Green I permitieron realizar pruebas de susceptibilidad, a la vez que permitieron la cuantificación *in vitro* del crecimiento parasitario (Johnson et al., 2007), y algunos péptidos mostraron actividad antimalárica independientemente del nivel de resistencia del parásito (Proaño-Bolaños et al., 2024).

5.4.2 BACTERIAS PATÓGENAS

Los ensayos antibacterianos de péptidos ecuatorianos, incluyeron a los principales grupos bacterianos. Se empleó la bacteria Gram negativa de referencia *Escherichia coli* ATCC 25922 para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los resultados indicaron que los péptidos como cruzioseptina-4 y dermaseptina-2 exhiben una excelente actividad bactericida, con CMI comparables a las de los antibióticos convencionales (Cuesta et al., 2021; Proaño-Bolaños et al., 2019). Estos hallazgos se contrastan con Mechkarska et al., (2010) donde CPF-B1 de *Xenopus borealis* presentó una CMI de 5 μ M contra *E. coli*, y brevinina-2MP de *Microhyla pulchra* exhibió actividad bactericida mediante permeabilización de membrana contra esta bacteria gramnegativa (Tian et al., 2021). Por parte de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, una bacteria grampositiva clínicamente relevante, también se analizó sistemáticamente. Rengifo-Lema et al. (2024) y Cuesta et al. (2021) por medio de un modelado computacional y ensayos *in vitro*, confirmaron la actividad bactericida

de la cruzioseptina-4 contra dicho patógeno, postulando mecanismos de acción basados en la permeabilización de las membranas celulares bacterianas. Los mismos resultados se han reportado en el extranjero, donde la filoseptina-PV1 de *Phyllomedusa vaillantii* mostró una alta actividad contra *S. aureus* y SARM mediante permeabilización de membranas (Liu et al. (2020)) y la brevinina-GR23 de *Hylarana guentheri* mostró actividad antimicrobiana y antibiofilm contra *S. aureus* mediante mecanismos de tipo "alfombra" (Zhong et al., 2020).

5.4.3 HONGOS PATÓGENOS

Las investigaciones realizadas en Ecuador sobre péptidos antimicrobianos, utilizó la levadura oportunista *Candida albicans* ATCC 10231, de gran importancia clínica, para evaluar la actividad antifúngica. En base a Morán-Marcillo et al. (2022) mencionaron que las familias de péptidos: pictuseptina y picturina, extraídas de *Boana picturata*, exhiben una inhibición significativa del crecimiento fúngico. La concentración mínima inhibitoria (CMI) determinó que la cruzioseptina-4 posee propiedades antifúngicas a concentraciones relativamente bajas, ampliando así el rango de aplicación terapéutica de estos péptidos. Esto también tiene sentido, como se reliza con estudios internacionales que han confirmado la eficacia antifúngica de péptidos anfibios y otros compuestos naturales. Por ejemplo, Gao et al. (2020) describieron la actividad de la filoseptina-PV1 contra *Candida albicans*, y la investigación científica con aceites esenciales y extractos de plantas en Ecuador ya ha demostrado la susceptibilidad de la cepa ATCC 10231 a diversos agentes antifúngicos y la eficacia del modelo utilizado (Reinoso et al., 2017; Cuasés Tetamuez, 2020). En conjunto, estos hallazgos resaltan la promesa de los péptidos antimicrobianos ecuatorianos como posibles alternativas para el tratamiento de infecciones fúngicas oportunistas.

5.4.4 PERSPECTIVAS EVOLUTIVAS Y DIVERSIDAD ESTRUCTURAL

Los AMP de los anuros ecuatorianos son un modelo de evolución convergente hacia la defensa antimicrobiana, respaldado por Proaño-Bolaños et al. (2016, 2019, 2024) mediante análisis filogenéticos. La diversidad estructural entre las familias cruzioseptina, dermaseptina, pictuseptina y picturina está vinculada con una adaptación a nichos ecológicos específicos y

fuerzas microbianas selectivas. La diversidad estructural también se correlaciona directamente con el ancho del espectro antimicrobiano encontrado, y cada una de las familias de péptidos tiene perfiles de actividad únicos pero complementarios.

Proaño-Bolaños et al. (2019) demostraron que las secreciones cutáneas de péptidos multiisoforma exhiben una cierta actividad antimicrobiana innata. Esta redundancia demuestra que los anuros ecuatorianos han desarrollado un arsenal químico polifilético para combatir la diversidad de microorganismos patógenos de su ambiente tropical. Los protocolos experimentales establecidos por Valdivieso-Rivera et al. (2022) normalizaron la evaluación de los péptidos para poder alcanzar resultados reproducibles y comparar entre diferentes especies de anuros.

Valdivieso-Rivera, Almeida y Proaño-Bolaños (2022) planean un procedimiento experimental de clonación de ADN y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el objetivo proporcionar un esquema experimental simple y efectivo para la amplificación y clonación de fragmentos génicos, comienza con la extracción de ADN de muestras biológicas utilizando métodos de lisis celular y precipitación para la purificación del material genético. Luego se juzga la calidad y el tamaño del ADN en electroforesis en gel de agarosa mediante tinciones que permiten la observación en luz ultravioleta. Este proceso se esquematiza en la Figura 7.

La bacteria *Escherichia coli* competente se convierte después a través de transformación bacteriana, se le inyecta un plásmido del gen de interés mediante choque térmico. Las bacterias después se reclutan en medios antibióticos, garantizando así la incorporación exitosa del plásmido. Por último, se garantiza la expresión del gen inserto mediante observación de la fluorescencia con luz ultravioleta. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de péptidos sintéticos se cuantificó según el protocolo presentado por Proaño-Bolaños et al. (2019). El protocolo describe sobre los péptidos antimicrobianos disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO) y la prepararon varias diluciones, con el fin de obtener diferentes concentraciones para las pruebas. Al mismo tiempo, las bacterias y levaduras fueron cultivadas hasta alcanzar su fase de crecimiento activo y luego se ajustaron para

obtener suspensiones estandarizadas. Una vez listas las suspensiones, se procedió a realizar los ensayos en placas de 96 pocillos, donde se mezclaron pequeñas cantidades de los microorganismos con las diluciones de péptidos. Las pruebas se realizaron en varias réplicas para garantizar resultados consistentes. Luego, las placas se incubaron y se midió el crecimiento microbiano mediante espectrofotometría, que permite detectar cambios en la turbidez del cultivo. Finalmente, se identificó la concentración mínima del péptido capaz de inhibir al menos el 95 % del crecimiento de los microorganismos, lo que se reportó como la concentración mínima inhibitoria (CMI), siguiendo el método descrito por Proaño-Bolaños y colaboradores en 2019.

5.5 ¿CUÁLES SON LOS MEJORES PÉPTIDOS Y CUÁL ES EL PASO DESPUÉS DE TODOS ESTOS ESTUDIOS?

Una investigación exhaustiva de los péptidos antimicrobianos de ranas ecuatorianas, identificaron a la cruzioseptina-4 (CZS-4) como uno de los fármacos candidatos más prometedores. Este péptido se caracteriza por presentar una intensa actividad antimicrobiana con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* de 13,09 μM y 26,18 μM , respectivamente, y por presentar una excelente actividad antiparasitaria contra *Leishmania mexicana* con una concentración inhibitoria promedio (CI50) de 0,09 μM . Todo esto se acompaña de una baja citotoxicidad en células eucariotas, presentando un buen perfil de seguridad (Proaño-Bolaños et al., 2024). Además, la cruzioseptina-1 (CZS-1) presenta un perfil equilibrado, con una actividad significativa contra bacterias (CMI 3,77 μM), hongos como *Candida albicans* (CMI 8,0 μM) y parásitos (CI50 0,54 μM contra *L. mexicana*), siendo un péptido multifuncional con un amplio espectro antimicrobiano (Proaño-Bolaños et al., 2024).

La dermaseptina-SP2 (DRS-SP2) también ha demostrado una potente actividad antimicrobiana, con CMI de 2,68 μM contra *S. aureus* y *E. coli*, además de su alta actividad antiparasitaria (CI50 de 0,61 μM contra *L. mexicana*). Su caracterización estructural ha establecido propiedades fisicoquímicas que favorecen su interacción con las membranas

microbianas y parasitarias, lo que explica su eficacia biológica (Cuesta et al., 2019; Proaño-Bolaños et al., 2024). Finalmente, la pictuseptina-1 (PTS-1), perteneciente a una nueva familia identificada en *Boana picturata*, destaca por su potente selectividad antiparasitaria (CI50 de 0,10 μ M contra *L. mexicana*) y moderada actividad antifúngica (CMI de 54,64 μ M contra *C. albicans*), con grandes perspectivas para el tratamiento específico de la leishmaniasis (Morán-Marcillo et al., 2022; Proaño-Bolaños et al., 2024).

Estos experimentos *in vitro*, incluyen pruebas de citotoxicidad y eficacia, que se complementan con ensayos preclínicos en modelos animales para validar la actividad terapéutica y la seguridad en un sistema biológico multifacético. Es importante optimizar la formulación y la administración, teniendo en cuenta que la vía parenteral es la más adecuada para estos péptidos, ya que la administración oral suele verse comprometida por la degradación enzimática gastrointestinal, lo que reduce su biodisponibilidad (Muttenthaler et al., 2021). Al mismo tiempo, se debe desarrollar la producción biotecnológica a gran escala utilizando síntesis química o expresión recombinante para la producción reproducible y económica de péptidos con alta actividad biológica y pureza.

6 CONCLUSIONES

1. Se identificaron cinco familias de péptidos antimicrobianos (cruzioseptinas, pictuseptinas, picturinas, dermaseptinas y filoseptinas) en tres especies de ranas ecuatorianas.
2. Estos péptidos demostraron eficacia contra bacterias grampositivas, gramnegativas, hongos patógenos y parásitos tropicales.
3. El mecanismo de acción de los AMP se da por la formación de poros transmembranales (modelo toroidal) y la interacción con enzimas bacterianas, provocando una lisis celular.
4. Presentan baja citotoxicidad y actividad hemolítica los péptidos nacionales, lo que indica un perfil teóricamente seguro para su desarrollo en terapias antimicrobianas.
5. DRS-SP2 mostró una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 2,68 μM contra *E. coli* y *S. aureus*, sin toxicidad detectable.
6. La Dermaseptina-AC presentó una mayor potencia antifúngica contra *Candida albicans* (CMI entre 2 y 4 μM) y una eficacia comparable a DRS-SP2 contra *E. coli* y *S. aureus*.
7. Cruzioseptina-1, filoseptina-PHa y filoseptina-PV1 exhibieron igual actividad antifúngica contra *Candida albicans* con una CMI de 8 μM .
8. CZS-1 mostró selectividad superior frente a *Candida albicans* (CMI 8 μM), lo que indica menor toxicidad hacia células del hospedero, aunque con menor potencia antifúngica que dermaseptina-AC.
9. CZS-4 destacó por su potencia excepcional con un CI_{50} de 0,09 μM contra *Leishmania mexicana*.
10. Los péptidos ecuatorianos son muy eficaces en su bioactividad, tan buenos que llegan a ser mejores, incluso que otros péptidos antimicrobianos de comparación.

11. Los péptidos del Ecuador presentan una mayor selectividad y menor toxicidad en comparación con péptidos de estudios externos.

12. Los péptidos aisladores a partir de anuros del Ecuador presentan una eficacia significativamente superior contra *Leishmania mexicana* en comparación con péptidos internacionales.

13. En conjunto, estos péptidos nacionales reúnen simultáneamente alta potencia antimicrobiana, un perfil de seguridad mejorado y una actividad antiparasitaria excelente y características que superan las limitaciones comunes de otros péptidos antimicrobianos descritos globalmente.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arora, S., Sharma, P., Irchhaiya, R., Khatkar, A., Singh, N., Gagoria, J. y Nagpal, K. (2018). Antimicrobial peptides: Features, action, and their resistance mechanisms in bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 24(5), 590-603. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0392>
- Amlabu, W. E., Antwi, C. A., Awandare, G., y Gwira, T. M. (2020). Elucidating the possible mechanism of action of some pathogen box compounds against *Leishmania donovani*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008188>
- Apt, B., Werner, G., Heitmann, I., Jercic, M. I., Jofré, L. M., Muñoz, P. V. y Zulantay, I. (2008). Guías clínicas de la enfermedad de Chagas 2006: Parte VI. Tratamiento antiparasitario de la enfermedad de Chagas. *Revista Chilena de Infectología*, 25(5), 384-389. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182008000500013>
- Bayram, Y., Maden, S. y Yetkin, M. A. (2020). Advances in antifungal peptides and new drug development. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 15(10), 1153-1168. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1797283>
- Bin Hafeez, A., Jiang, X., Bergen, P. J. y Zhu, Y. (2021). Antimicrobial peptides: An update on classifications and databases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11691. <https://doi.org/10.3390/ijms222111691>
- Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R. O. y Denning, D. W. (2017). Global and multi-national prevalence of fungal diseases-estimate precision. *Journal of Fungi (Basel)*, 3(4), 57. <https://doi.org/10.3390/jof3040057>
- Chan, A. (2022, 16 de noviembre). *Entre las superbacterias, el SARM está a la vanguardia de la resistencia a los antimicrobianos*. Institute for Health Metrics and Evaluation. <https://www.healthdata.org/news-events/insights-blog/acting-data/among-superbugs-mrsa-forefront-antimicrobial-resistance>
- Cardoso, P., Glossop, H. y Meikle, T. G. (2024). Deep mutational scanning and machine learning for the analysis of antimicrobial-peptide features driving membrane selectivity.

Nature Biomedical Engineering, 8(7), 774-792. <https://doi.org/10.1038/s41551-024-01243-1>

- Castro, J. A. (2014). Efectos tóxicos de los fármacos utilizados para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Ciencia e Investigación*, 64(5), 78-92. Recuperado de <https://aargentinapciencias.org/wp-content/uploads/2018/01/RevistasCel/tomo64-5/Rev-cei64-5-7.pdf>
- Coll Cárdenas, F. J. (2017). Enfermedades producidas por *Escherichia coli*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/161034>
- Collier, L., Balows, A., Sussman, M. et al. (1998). *Microbiology and microbial infections: Pathogenicity and clinical manifestations* (10a ed.). London: Arnold.
- Cuesta, S., Gallegos, F., Arias, J., Pilaquinga, F., Blasco-Zúñiga, A., Proaño-Bolaños, C., Rivera, M. y Meneses, L. (2019). Molecular modeling of four dermaseptin-related peptides of the gliding tree frog *Agalychnis spurrelli*. *Journal of Molecular Modeling*, 25(9). <https://doi.org/10.1007/s00894-019-4141-1>
- Cuesta, S., Gallegos, F., Proaño-Bolaños, C., Blasco-Zúñiga, A., Rivera, M. y Meneses, L. (2019). Modelamiento molecular de la dermaseptina SP2 extraída de *Agalychnis spurrelli*. *infoANALÍTICA*, 7(1), 41. <https://doi.org/10.26807/ia.v7i1.95>
- Cuesta, S. A., Reinoso, C., Morales, F., Pilaquinga, F., Morán-Marcillo, G., Proaño-Bolaños, C., Blasco-Zúñiga, A., Rivera, M. y Meneses, L. (2021). Novel antimicrobial cruzioseptin peptides extracted from the splendid leaf frog, *Cruziohyla calcarifer*. *Amino Acids*, 53(6), 853-868. <https://doi.org/10.1007/s00726-021-02986-w>
- Cuesta, S., Arias de P., J., Gallegos P., F., Proaño-Bolaños, C., Blasco Zúñiga, A., Rivera I., M., y Meneses, L. (2019). Modelamiento molecular de la dermaseptina SP2 extraída de *Agalychnis spurrelli*. *infoANALÍTICA*, 7(1), 41-56.

- Chaudhary, S., Ali, Z., y Mahfouz, M. (2024). Molecular farming for sustainable production of clinical-grade antimicrobial peptides. *Plant biotechnology journal*, 22(8), 2282–2300. <https://doi.org/10.1111/pbi.14344>
- Chen, X., Liu, S., Fang, J., Zheng, S., Wang, Z., Jiao, Y., Xia, P., Wu, H., Ma, Z., y Hao, L. (2022). Peptides Isolated from Amphibian Skin Secretions with Emphasis on Antimicrobial Peptides. *Toxins*, 14(10), 722. <https://doi.org/10.3390/toxins14100722>
- Chen, J., Hao, D., Mei, K., Li, X., Li, T., Ma, C., Xi, X., Li, L., Wang, L., Zhou, M., Chen, T., Liu, J., y Wu, Q. (2021). In vitro and in vivo studies on the antibacterial activity and safety of a new antimicrobial peptide Dermaseptin-AC. *Microbiology Spectrum*, 9(3), e01318-21. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.01318-21>
- Conlon, J. M., Sonnevend, A., Patel, M., Davidson, C., Nielsen, P. F., Pál, T., y Rollins-Smith, L. A. (2003). Isolation of peptides of the brevinin-1 family with potent candidacidal activity from the skin secretions of the frog *Rana boylii*. *The journal of peptide research : official journal of the American Peptide Society*, 62(5), 207–213. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3011.2003.00090.x>
- Cuasés Tetamuez, C. (2020). Evaluación de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Piper imperiale* (Miq.) C. DC. sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Repositorio Institucional Universidad Politécnica Salesiana. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/27702/1/UPS-GT005166.pdf>
- CDC. (2024a, abril 18). Infection Control Guidance: Preventing Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Healthcare Facilities. Recuperado de <https://www.cdc.gov/mrsa/hcp/infection-control/index.html>
- CDC. (2024b, junio 11). Data and statistics on candidemia. Recuperado de <https://www.cdc.gov/candidiasis/data-research/facts-stats/index.html>
- CDC. (2024c, julio 16). Antimicrobial resistance facts and stats. Recuperado de <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data-research/facts-stats/index.html>
- CDC. (2024d, agosto 26). Data and statistics on fungal diseases. Recuperado de <https://www.cdc.gov/fungal/data-research/facts-stats/index.html>

- Deshayes, C., Arafath, M. N., Apaire-Marchais, V., y Roger, E. (2022). Drug Delivery Systems for the Oral Administration of Antimicrobial Peptides: Promising Tools to Treat Infectious Diseases. *Frontiers in medical technology*, 3, 778645. <https://doi.org/10.3389/fmedt.2021.778645>
- D'Auria, F. D., Casciaro, B., De Angelis, M., Marcocci, M. E., Palamara, A. T., Nencioni, L., y Mangoni, M. L. (2022). Antifungal Activity of the Frog Skin Peptide Temporin G and Its Effect on *Candida albicans* Virulence Factors. *International journal of molecular sciences*, 23(11), 6345. <https://doi.org/10.3390/ijms23116345>
- Eggimann, G. A., Sweeney, K., Bolt, H. L., Rozatian, N., Cobb, S. L., y Denny, P. W. (2015). *El papel de los fosfoglicanos en la susceptibilidad de Leishmania mexicana a la familia de péptidos antimicrobianos Temporin. Molecules*, 20(2), 2775–2785. <https://doi.org/10.3390/molecules20022775>
- ECDC. (2022). Antimicrobial resistance surveillance in Europe. Annual epidemiological report for 2022. Recuperado de <https://www.ecdc.europa.eu/en/annual-epidemiological-reports>
- Felício, M. R., Silva, O. N., Gonçalves, S., Santos, N. C. y Franco, O. L. (2017). Peptides with dual antimicrobial and anticancer activities. *Frontiers in Chemistry*, 5, 5.
- Fonseca Yopez, S., Alva Murillo, P. N., Cuellar Mata, H. P., y Reyes Cortés, R. (2022). Péptidos antimicrobianos: un panorama general contra la tricomoniasis. *Naturaleza y Tecnología*, (septiembre-diciembre). Universidad de Guanajuato. ISSN 2007-672X.
- Gao, Y., Wu, D., Xi, X., Wu, Y., Ma, C., Zhou, M., Wang, L., Yang, M., Chen, T., y Shaw, C. (2020). A novel amphibian antimicrobial peptide, phylloseptin-PV1, exhibits effective anti-staphylococcal activity without inducing either hepatic or renal toxicity in mice. *Frontiers in Microbiology*, 11, 565158. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.565158>
- Gómez, B. L. y Escandón, P. (2023). Fungal infections: A growing threat. *Biomédica: Revista del Instituto Nacional de Salud*, 43(Sp. 1), 11-16. <https://doi.org/10.7705/biomedica.7214>

- Gibson, L. (2023, diciembre 4). World Malaria Report 2023: Key findings from the report. Recuperado de <https://targetmalaria.org/latest/news/world-malaria-report-2023-key-findings-from-the-report/>
- Ghosh, C., Manjunath, G. B., Akkapeddi, P., Yarlagadda, V., Hoque, J., Uppu, D. S., Konai, M. M. y Haldar, J. (2019). Enhanced therapeutic index of an antimicrobial peptide in mice by increasing safety and activity against multidrug-resistant bacteria. *Science Advances*, 5(10), eaay6817. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aay6817>
- Gordon, Y. J., Romanowski, E. G. y McDermott, A. M. (2024). Synergistic action of antimicrobial peptides and antibiotics: Current understanding and future directions. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1390765. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1390765>
- Greber, K. E., Dawgul, M., Kamysz, W., Sawicki, W., Łukasiak, J. y Barańska-Rybak, W. (2019). Biological and surface-active properties of double-chain cationic amino acid-based surfactants. *Amino Acids*, 51(2), 227-236. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2676-0>
- Greco, I., Hansen, F. C., Alvarez-Amor, L., Ruzza, P., Marchesan, S., Willars, G. B., Ladram, A., Castanho, M. A. R. B., Heegaard, P. M. H. y Dall'Olmo, L. (2020). Correlation between hemolytic activity, cytotoxicity and systemic in vivo toxicity of synthetic antimicrobial peptides. *Scientific Reports*, 10(1), 13206.
- García, F. A., Fuentes, T. F., Alonso, I. P., Bosch, R. A., Brunetti, A. E., y Lopes, N. P. (2024). A Comprehensive Review of Patented Antimicrobial Peptides from Amphibian Anurans. *Journal of natural products*, 87(3), 600–616. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.3c01040>
- Global Malaria Research. (2023). World Malaria Report 2023. Recuperado de <https://globalmaliaresearch.tghn.org/articles/world-malaria-report-2023/>
- Global Malaria Research. (s. f.). World Malaria Report 2023. Recuperado 18 de noviembre de 2024, de <https://globalmaliaresearch.tghn.org/articles/world-malaria-report-2023/>
- Helmerhorst, E. J., Reijnders, I. M., van't Hof, W., Simoons-Smit, I., Veerman, E. C., y Amerongen, A. V. (1999). Amphotericin B- and fluconazole-resistant *Candida* spp.,

- Aspergillus fumigatus*, and other newly emerging pathogenic fungi are susceptible to basic antifungal peptides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43(3), 702–704. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.3.702>
- Ho, Y. H., Shah, P., Chen, Y. W., y Chen, C. S. (2016). Systematic Analysis of Intracellular-targeting Antimicrobial Peptides, Bactenecin 7, Hybrid of Pleurocidin and Dermaseptin, Proline-Arginine-rich Peptide, and Lactoferricin B, by Using *Escherichia coli* Proteome Microarrays. *Molecular y cellular proteomics: MCP*, 15(6), 1837–1847. <https://doi.org/10.1074/mcp.M115.054999>
- Han, M., Mei, Y., Khant, H., y Ludtke, S. J. (2009). Characterization of antibiotic peptide pores using cryo-EM and comparison to neutron scattering. *Biophysical journal*, 97(1), 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.04.039>
- Hernández Adame, P. L., Bertrand, B., Morales- Martínez, A., & Muñoz- Garay, C. (2022, julio). ¿Qué son los péptidos antimicrobianos? *Revista Hypatia*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/362342708_Que_son_los_peptidos_antimicrobianos
- Huan, Y., Kong, Q., Mou, H., y Yi, H. (2020). Antimicrobial peptides: Classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in Microbiology*, 11, 582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>
- Lastours, V., Laouénan, C., Royer, G., Carbonnelle, E., Lepeule, R., Esposito-Farèse, M., Lefort, A. et al. (2020). Mortality in *Escherichia coli* bloodstream infections: Antibiotic resistance still does not make it. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(8), 2334–2343. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa161>
- León Pineda, C. F., Unigarro Segarra, J. A., Ordóñez Acosta, G. Y., y Figueroa Benavides, N. D. (2025). Uso inapropiado de antibióticos en la atención primaria en Ecuador. *Polímeros en la Ciencia y Tecnología*, 10(1), 2394-2410.
- Liu, Y., Shi, D., Wang, J., Chen, X., Zhou, M., Xi, X., Cheng, J., Ma, C., Chen, T., Shaw, C., y Wang, L. (2020). A Novel Amphibian Antimicrobial Peptide, Phylloseptin-PV1, Exhibits Effective Anti-staphylococcal Activity Without Inducing Either Hepatic or Renal Toxicity

in Mice. *Frontiers in microbiology*, 11, 565158.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.565158>

Kumar, P., Kizhakkedathu, J. N. y Straus, S. K. (2018). Antimicrobial peptides: Diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo. *Biomolecules*, 8(1), 4. <https://doi.org/10.3390/biom8010004>

Kakar, A., Holzknrecht, J., Dubrac, S., Gelmi, M. L., Romanelli, A., y Marx, F. (2021). New Perspectives in the Antimicrobial Activity of the Amphibian Temporin B: Peptide Analogs Are Effective Inhibitors of *Candida albicans* Growth. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(6), 457. <https://doi.org/10.3390/jof7060457>

Kumari, S., Kumar, V., Tiwari, R. K., Ravidas, V., Pandey, K., y Kumar, A. (2022). Amphotericin B: A drug of choice for Visceral Leishmaniasis. *Acta tropica*, 235, 106661. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106661>

Lei, J., Sun, L., Huang, S., Zhu, C., Li, P., He, J., Mackey, V., Coy, D. H., & He, Q. (2019). *The antimicrobial peptides and their potential clinical applications. American Journal of Translational Research*, 11(7), 3919–3931.

Lin, T., Huang, Y., Zhang, H., Wang, M., Wu, X., Chen, L. y Liu, Y. (2024). Unveiling mechanisms of antimicrobial peptide: Actions beyond the membranes disruption. *Heliyon*, 10(18), e37079. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37079>

Liu, Y., Shi, J., Chen, X., Li, M., Ma, Q., Yang, Z. y Fan, H. (2022). Antimicrobial mechanisms and clinical application prospects of antimicrobial peptides. *Molecules*, 27(9), 2675. <https://doi.org/10.3390/molecules27092675>

Liu, H., Lei, M., Du, C., Wang, L., Harrison, P. L., Zhou, M., Chen, T., Shaw, C. y Wang, H. (2019). Relación estructuraactividad de un péptido antimicrobiano, phylloseptinPHa: El equilibrio entre hidrofobicidad y carga determina la selectividad de las bioactividades. *Drug Design, Development and Therapy*, 13, 447–458. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S190803>

Liu, Y., Shi, D., Wang, J., Chen, X., Zhou, M., Xi, X., Cheng, J., Ma, C., Chen, T., Shaw, C., y Wang, L. (2020). A Novel Amphibian Antimicrobial Peptide, Phylloseptin-PV1, Exhibits

- Effective Anti-staphylococcal Activity Without Inducing Either Hepatic or Renal Toxicity in Mice. *Frontiers in microbiology*, 11, 565158. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.565158>
- Leidenberger, M., Voigtländer, C., Simon, N., y Kappes, B. (2017). SYBR® Green I-Based Fluorescence Assay to Assess Cell Viability of Malaria Parasites for Routine Use in Compound Screening. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1601, 97–110. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6960-9_9
- Mahlapuu, M., Håkansson, J., Ringstad, L. y Björn, C. (2016). Antimicrobial peptides: An emerging category of therapeutic agents. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6, 194. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00194>
- Mendes, B., Proaño-Bolaños, C., Gadelha, F. R., Almeida, J. R. y Miguel, D. C. (2020). Cruzioseptins, antibacterial peptides from *Cruziophyla calcarifer* skin, as promising leishmanicidal agents. *Pathogens and Disease*, 78(6). <https://doi.org/10.1093/femspd/ftaa053>
- Mihaylova-Garnizova, R., Davidova, S., Hodzhev, Y. y Satchanska, G. (2024). Antimicrobial peptides derived from bacteria: Classification, sources, and mechanism of action against multidrug-resistant bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10788.
- Morán-Marcillo, G., Sánchez Hinojosa, V., Espinosa de Los Monteros Silva, N., Blasco-Zúñiga, A., Rivera, M., Naranjo, R. E., Almeida, J. R., Chen, T., Shaw, C. y Proaño-Bolaños, C. (2022). Picturins and pictuseptins, two novel antimicrobial peptide families from the skin secretions of the Chachi treefrog, *Boana picturata*. *Journal of Proteomics*, 264, 104633. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104633>
- Mechkarska, M., Ahmed, E., Coquet, L., Leprince, J., Jouenne, T., Vaudry, H., King, J. D., y Conlon, J. M. (2010). Antimicrobial peptides with therapeutic potential from skin secretions of the Marsabit clawed frog *Xenopus borealis* (Pipidae). *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology y pharmacology : CBP*, 152(4), 467–472. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.07.007>

- Mahato, R. I., Narang, A. S., Thoma, L., y Miller, D. D. (2003). Emerging trends in oral delivery of peptide and protein drugs. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*, 20(2-3), 153–214. <https://doi.org/10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v20.i23.30>
- Moretta, A., Scieuzo, C., Petrone, A. M., Salvia, R., Manniello, M. D., Franco, A., Lucchetti, D., Vassallo, A., Vogel, H., Sgambato, A., y Falabella, P. (2021). Antimicrobial Peptides: A New Hope in Biomedical and Pharmaceutical Fields. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 668632. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.668632>
- Muttenthaler, M., King, G. F., Adams, D. J., y Alewood, P. F. (2021). Trends in peptide drug discovery. *Nature reviews. Drug discovery*, 20(4), 309–325. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00135-8>
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2024). Informe de vigilancia epidemiológica: infecciones asociadas a la atención en salud y resistencia bacteriana, SE 1 a SE 20. <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2024/06/EventosVectoriales-SE-20-.pdf>
- Naghavi, M., Mestrovic, T., Gray, A., Hayoon, A. G., Swetschinski, L. R., Aguilar, G. R. et al. (2024). Global burden associated with 85 pathogens in 2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Infectious Diseases*, 24(8), 868-895. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(24\)00158-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(24)00158-0)
- OMS. (s. f.). Non-communicable diseases. Recuperado de <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2024). Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Recuperado de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2024, noviembre 14). Enfermedad de Chagas. Recuperado de <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2024). OPS y GARDP colaborarán para hacer frente a la resistencia a antibióticos en América

Latina. <https://www.paho.org/es/noticias/26-9-2024-ops-gardp-colaboraran-para-hacer-frente-resistencia-antibioticos-america-latina>

- Palavecino, C. M. (2014). Toxicidad de antibacterianos: farmacocinética-farmacodinamia: prevención y manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 25(3), 445-456. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(14\)70061-6](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(14)70061-6)
- Pappalardo, M., Lesch, S., Niehoff, A., Herbst, V., Fuchs, S., Weise, C., Lehrach, H., Präscher, J. y Regitz-Zagrosek, V. (2019). Protegrin-1 cytotoxicity towards mammalian cells positively correlates with the magnitude of conformational changes of the unfolded form upon cell interaction. *Scientific Reports*, 9(1), 11282. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47955-2>
- Pérez, C., Prados, J. y Melguizo, C. (2018). Diseño de péptidos antimicrobianos basados en estudios bioinformáticos. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 230-240. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.02.006>
- Proaño-Bolaños, C., Blasco-Zúñiga, A., Almeida, J. R., Wang, L., Llumiquinga, M. A., Rivera, M., Zhou, M., Chen, T. y Shaw, C. (2019). Unravelling the skin secretion peptides of the gliding leaf frog, *Agalychnis spurrelli* (Hylidae). *Biomolecules*, 9(11), 667. <https://doi.org/10.3390/biom9110667>
- Proaño-Bolaños, C., Morán-Marcillo, G., Espinosa de Los Monteros Silva, N., Bermúdez Puga, S., Salazar, M. A., Blasco-Zúñiga, A., Cuesta, S., Rivera, M., Meneses, L., Naranjo, R. E., Almeida, J. R. y Chen, T. (2024). Bioactivity of synthetic peptides from Ecuadorian frog skin secretions against *Leishmania mexicana*, *Plasmodium falciparum* y *Trypanosoma cruzi*. *Microbiology Spectrum*, 12(8). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03339-23>
- Proaño-Bolaños, C., Zhou, M., Wang, L., Coloma, L. A., Chen, T. y Shaw, C. (2016). Peptidomic approach identifies cruzioseptins, a new family of potent antimicrobial peptides in the splendid leaf frog, *Cruziohyla calcarifer*. *Journal of Proteomics*, 146, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.06.017>

- Pinto, E. G., Pimenta, D. C., Antoniazzi, M. M., Jared, C. y Tempone, A. G. (2013). Péptidos antimicrobianos aislados de *Phyllomedusa* nordestina (Amphibia) alteran la permeabilidad de la membrana plasmática de *Leishmania* y *Trypanosoma cruzi*. *Experimental Parasitology*, 135(4), 655–660. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.09.016>
- Perez-Rodriguez, A., Eraso, E., Quindós, G., y Mateo, E. (2022). Antimicrobial Peptides with Anti-Candida Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9264. <https://doi.org/10.3390/ijms23169264>
- Rengifo-Lema, M. J., Proaño-Bolaños, C., Cuesta, S. y Meneses, L. (2024). Computational modelling of the antimicrobial peptides Cruzioseptin-4 extracted from the frog *Cruziohyala calcarifer* and Pictuseptin-1 extracted from the frog *Boana picturata*. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55171-w>
- Rességuier, J., Dalzini, A., Le Griel, P., Duchambon, P., Bouchet, A. M., Corbier, C., Brasseur, R., Nylander, T., Henriques, S. T., Fargeas, C. y Deleu, M. (2020). Correlation between hemolytic activity, cytotoxicity and systemic in vivo toxicity of synthetic antimicrobial peptides. *Scientific Reports*, 10(1), 13206. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69995-9>
- RoblesLoaiza, A. A., PinosTamayo, E. A., Mendes, B., Teixeira, C., Alves, C., Gomes, P. y Almeida, J. R. (2021). Péptidos para combatir la leishmaniasis: estado actual y direcciones futuras. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4400. <https://doi.org/10.3390/ijms2209440>
- Reinoso, S., Salazar, J., y Rodríguez, M. (2017). Actividad antifúngica in vitro de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* sobre *Candida albicans* cepa ATCC 10231. Repositorio Institucional Universidad Nacional de Chimborazo. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/4482>
- Ramazi, S., Mohammadi, N., Allahverdi, A., Khalili, E., y Abdolmaleki, P. (2022). A review on antimicrobial peptides databases and the computational tools. *Database : the journal of biological databases and curation*, 2022. <https://doi.org/10.1093/database/baac011>

- Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Cabrera-Bravo, M. et al. (2016). Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 59(3), 6-16.
- Savitskaya, A., Masso-Silva, J., Haddaoui, I. y Enany, S. (2023). Exploring the arsenal of antimicrobial peptides: Mechanisms, diversity, and applications. *Biochimie*, 214(Pt B), 216-227. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.07.016>
- Schmelcher, M., Donovan, D. M. y Loessner, M. J. (2012). Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Future Microbiology*, 7(10), 1147-1171. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.97>
- Sadeeq, M., Li, Y., Wang, C., Hou, F., Zuo, J. y Xiong, P. (2025). *Unlocking the power of antimicrobial peptides: advances in production, optimization, and therapeutics*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1528583. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1528583>
- Seipichincha. (2023, enero 20). *Infecciones fúngicas graves en Ecuador*. Recuperado de <https://seipichincha.com/2023/01/20/infecciones-fungicas-graves-en-ecuador/>
- Téllez, G. A. y Castaño, J. C. (2010). Péptidos antimicrobianos. *Infection*, 14(1), 55-67. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(10\)70093-X](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70093-X)
- The Transporter Classification Database (TCDB). (s. f.). 1.C.52 - Dermaseptin family. Recuperado de <https://www.tcdb.org/search/result.php?tc=1.C.52>
- Thwaites, G. E., et al. (2022). All-cause and infection-related mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia: a prospective cohort study. *Open Forum Infectious Diseases*, 9(12), ofac653. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofac653>
- Tian, M., Liu, J., Chai, J., Wu, J., y Xu, X. (2021). Antimicrobial and anti-inflammatory effects of a novel peptide from the skin of frog *Microhyla pulchra*. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 783108.
- Cabrera Valarezo, J. V. (2022). *Caracterización funcional del péptido dermaseptina CC1 de la secreción de la piel de la rana espléndida *Cruziohyla calcarifer** (Tesis de título, Universidad Regional Amazónica Ikiam). Repositorio Digital IKIAM.

http://repositorio.ikiam.edu.ec/jspui/bitstream/RD_IKIAM/702/1/TT-BT-IKIAM-000039.pdf

- Valdivieso-Rivera, F., Almeida, J. R. y Proaño-Bolaños, C. (2022). An experimental protocol for molecular biology lab at an Amazonian university. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 50(3), 326–333. <https://doi.org/10.1002/bmb.21612>
- Waghu, F. H. y Idicula- Thomas, S. (2020). Collection of antimicrobial peptides database and its derivatives: Applications and beyond. *Protein Science*, 29(1), 36-42. <https://doi.org/10.1002/pro.3714>
- Weinstock, G. M. y Norris, S. J. (2002). Virulence factors of pathogenic spirochetes: A primer. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2(68).
- WHO. (2022). First-ever list of health-threatening fungi: WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Recuperado de <https://www.who.int/publications-detail/fungal-priority-pathogens-list>
- Wang, C., Zhou, Y., Li, S., Li, H., Tian, L., Wang, H., Jin, F. y Yao, B. (2021). *Estudios in vitro e in vivo sobre la actividad antibacteriana y la seguridad de un nuevo péptido antimicrobiano dermaseptinAC*. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(24), e0131421. <https://doi.org/10.1128/AEM.01314-21>
- Zhang, Q. Y., Yan, Z. B., Meng, Y. M., Hong, X. Y., Shao, G., Ma, J. J., Cheng, X. R., Liu, J., Kang, J. y Fu, C. Y. (2021). Antimicrobial peptides: Mechanism of action, activity and clinical potential. *Military Medical Research*, 8(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s40779-021-00343-2>
- Zhang, Q. (2024). Antimicrobial peptides: From discovery to developmental applications. *Applied and Environmental Microbiology*, 90(2), e02115-24. <https://doi.org/10.1128/aem.02115-24>
- Zhong, H., Xie, Z., Zhang, S., Wei, H., Song, Y., Zhang, Y., et al. (2020). Brevinin-GR23 from frog *Hylarana guentheri* with antimicrobial and antibiofilm activities against *Staphylococcus aureus*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 84(1), 143-153.

Zhou, M. (2025). Antimicrobial peptide biological activity, delivery systems and clinical translation status and challenges. *Journal of Translational Medicine*, 23(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s12967-025-06321-9>

Zheng, S., Tu, Y., Li, B., Li, Y., Liu, Z., Zhang, C., Zhang, X., Sun, Z., Wang, Y., y Zhou, M. (2025). Antimicrobial peptide biological activity, delivery systems and clinical translation status and challenges. *Journal of Translational Medicine*, 23(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s12967-025-06321-9>

8 FIGURAS

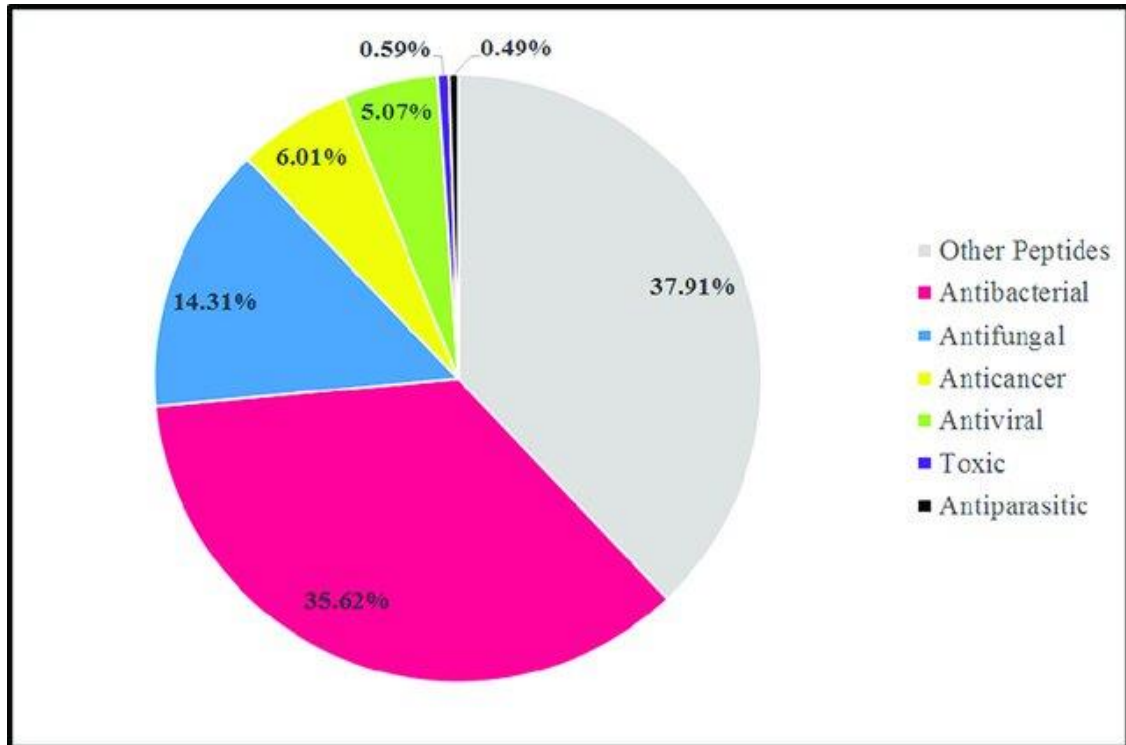


Figura 1. Fuentes de representación gráfica de AMP en la base de datos de péptidos antimicrobianos (dbAMP 2.0) en 2022 (2022).

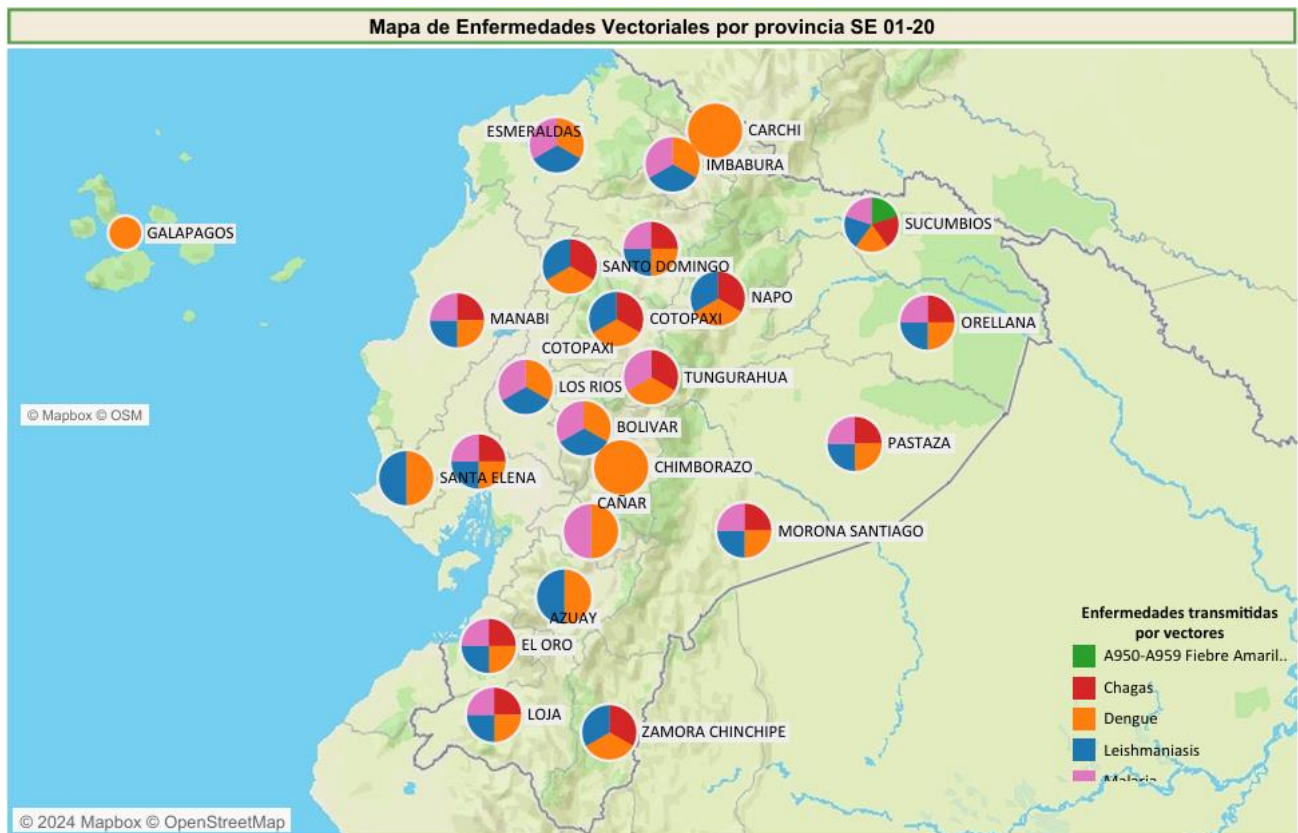


Figura 2. Mapa de enfermedades vectoriales por provincia en Ecuador, semanas epidemiológicas 01 a 20 del año 2024.

Fuente: Reproducida de Mapa de Enfermedades Vectoriales por provincia SE 01–20 (p. 3), en *Eventos de notificación obligatoria por arbovirosis. Semana epidemiológica 20*, por Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2024, <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2024/06/EventosVectoriales-SE-20-.pdf>. © Ministerio de Salud Pública del Ecuador.

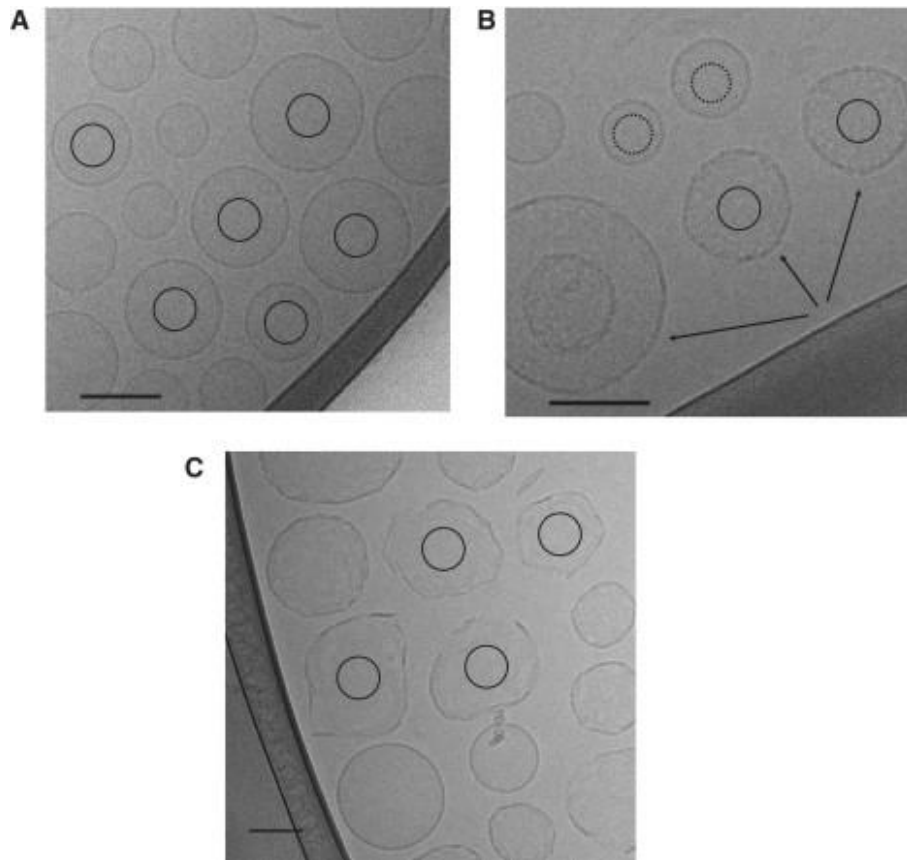


Figura 3. Formación de poros en vesículas de lípidos inducida por el péptido magainina 2, observada mediante microscopía electrónica. Adaptado de Matsuzaki et al. (2009). *Translocation of an antimicrobial peptide, magainin 2, across lipid bilayers by forming a pore*, *Biophysical Journal*, 97(5), p. 1389. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.06.003>

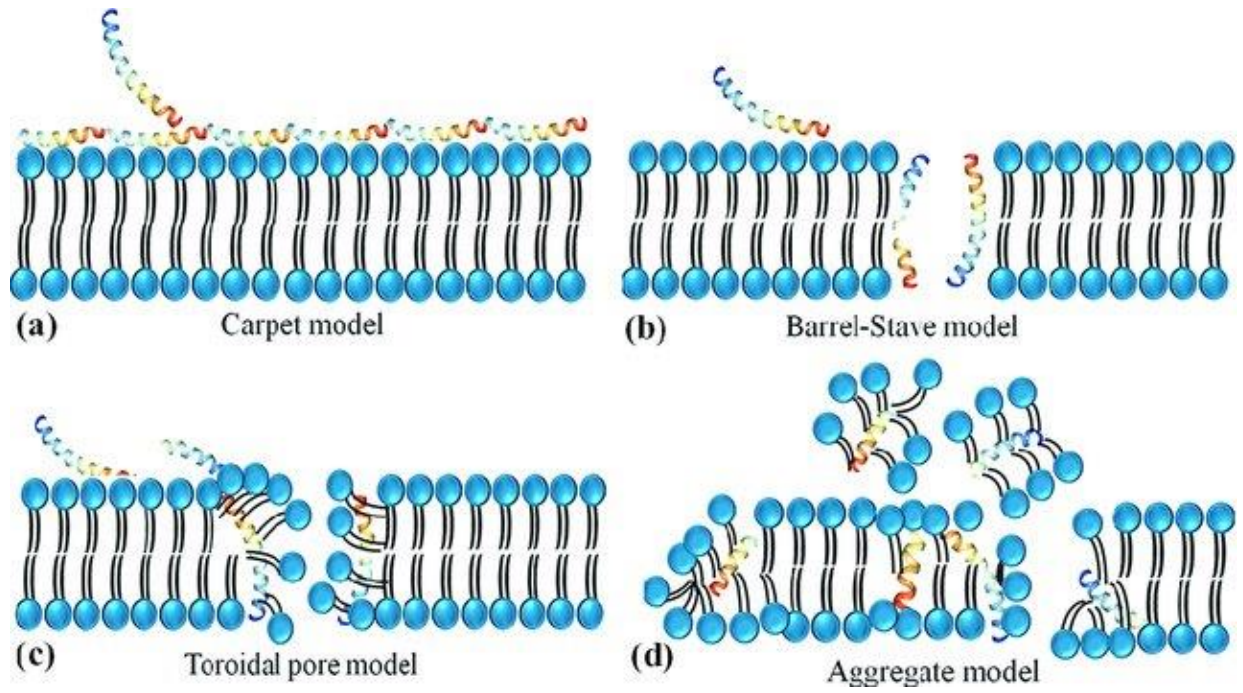


Figura 4. Modelos de acción de AMPs sobre la membrana bacteriana: *carpet*, *barrel-stave*, *toroidal* y *aggregate*. Modificado de Ramazi et al. (2022).

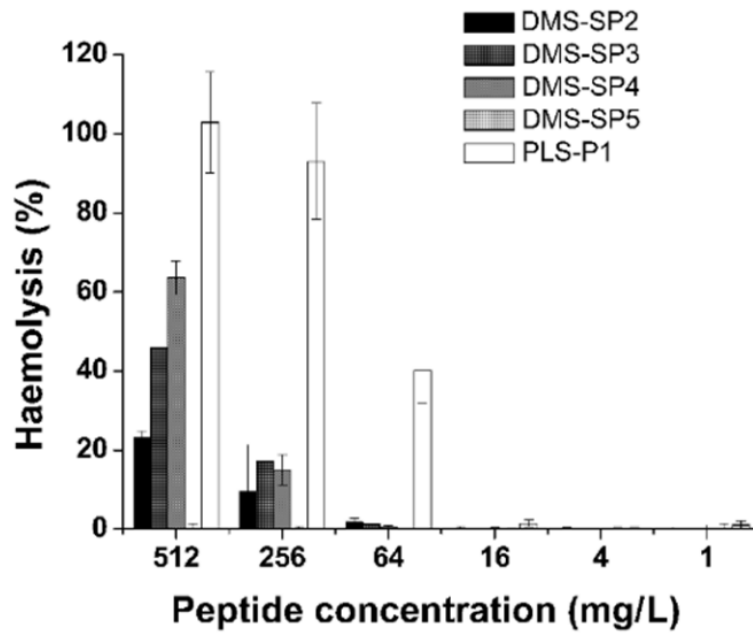


Figura 5. Actividad hemolítica de las Dermaseptinas SP2–SP5 y de la Filoseptina SP-1 sobre eritrocitos a diferentes concentraciones. Tomada de Proaño-Bolaños et al. (2019), *Biomolecules*, 9(11), 667. <https://doi.org/10.3390/biom9110667>

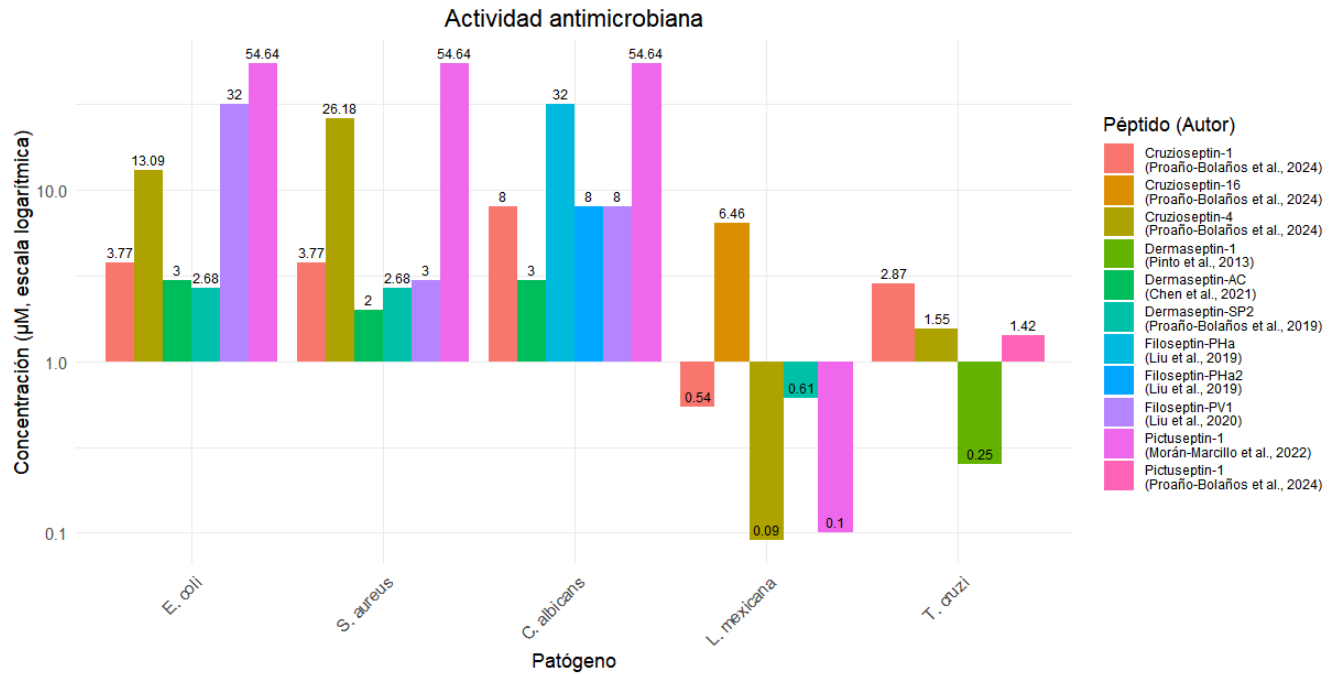


Figura 6. Gráfico elaborado por el autor a partir de datos publicados por Proaño-Bolaños et al. (2024), Chen et al. (2021), Liu et al. (2020) y Morán-Marcillo et al. (2022) de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de diferentes péptidos antimicrobianos frente a varios patógenos, expresadas en micromolar (μM) en escala logarítmica.

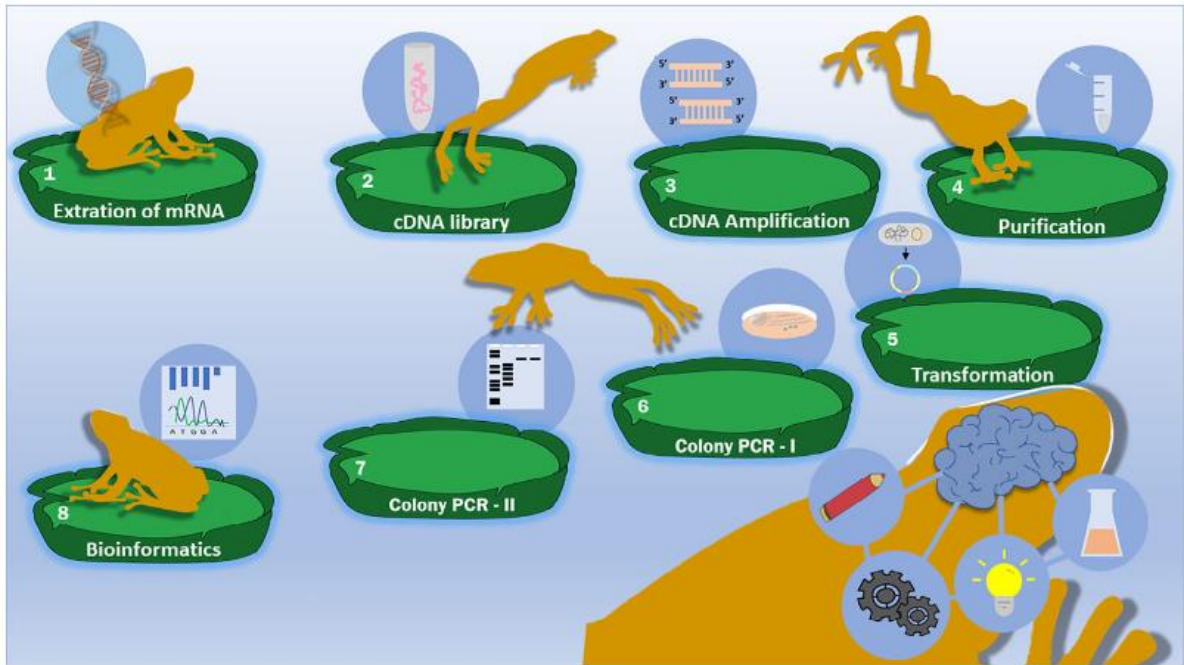


Figura 7. Resumen de las sesiones experimentales de biología molecular implementadas en la Universidad Regional Amazónica Ikiám (Ecuador). Tomado de Moreno-Pérez, D. A., Villacís, R. A., y Barragán, V. (2023). Teaching molecular biology and bioinformatics in Ecuador's Amazon region. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 51(6), 478–483. <https://doi.org/10.1002/bmb.21612>

9 ANEXOS

Synthetic Peptide.	Sequence	MIC μ M (mg/L)					
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> Oxacillin Resistant (ORSA Strain 20)	<i>K. pneumoniae</i> Clinical Isolate	<i>C. albicans</i>	Accession Number
Dermaseptin-SP2	ASWKVFLKNIGKAAGKAVLNSVTDVMVNO-NH2	2.68 (8) *	2.68 (8) *	2.68 (8)	10.71 (32)	10.71 (32) *	MK532480
Dermaseptin-SP3	SLWSSIKDMAAAAGRAALNAVNGIVNP-NH2	47.50 (128) *	189.98 (512) *	ND	>189.98 (>512)	>189.98 (>512) *	MK532481
Dermaseptin-SP4	SLWSSIKDMAAAAGRAALNAVNGILNP-NH2	47.25 (128) *	189.00 (512) *	ND	189.00 (512)	>189.00 (>512) *	MK532482
Dermaseptin-SP5	SLRSSIKDMAAAAGRAALNAVNGIVNP-NH2	96.06 (256) *	>192.12 (>512) *	ND	>189.00 (>512)	384.24 (1024) *	MK532483
Dermaseptin-B4	ALWKDILKNVGAAGKAVLNTVTDVMVNO-NH2	5.00 **	3.00 **	ND	ND	ND	P81486
Dermaseptin-S1	ALWKTMLKKGTMALHAGKAAALGAAADTISQGTQ	46.00 **	60.00 **	ND	ND	ND	AJ564794.1
Phyloseptin-SP1	FLSLPHVISAIPHVVNALSNL-NH2	>217.69 (>512)	>217.69 (>512)	ND	>189.00 (>512)	>217.69 (>512)	MK532479
Phyloseptin-S1	FLSLPHIVSGVASIAKHFG	70.00 ***	6.25 ***	ND	ND	ND	AM903077.1
Ampicillin		6.0 ****	0.1 ****				
Dermaseptin-SP2	ASWKVFLKNIGKAAGKAVLNSVTDVMVNO-NH2	2.68 (8) *	2.68 (8) *	2.68 (8)	10.71 (32)	10.71 (32) *	MK532480

ND = not determined, * Cuesta et al., 2019 (41), ** Charpantier, et al., 1998 (39), *** Raja et al., 2013 (40), **** Reimer et al., 1981 (42).

Tabla 1. Contenido secundario y conformación de los péptidos identificados en secreciones cutáneas de *Agalychnis spurrelli*.

Nota. Reproducida de *Unravelling the Skin Secretion Peptides of the Gliding Leaf Frog, Agalychnis spurrelli (Hylidae)*, por ProañoBolaños, C., BlascoZúñiga, A., Almeida, J. R., Wang, L., Llumiquinga, M. A., Rivera, M., Zhou, M., Chen, T., y Shaw, C., 2019, *Biomolecules*, 9(11), artículo 667. <https://doi.org/10.3390/biom9110667>. © 2019 autor(es), distribuido bajo licencia CC BY 4.0

Familia Peptídica	Péptido	Especie de Origen	Propiedades Estructurales	<i>E. coli</i> ATCC 25922 MIC (μ M)	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 MIC (μ M)	<i>C. albicans</i> ATCC 10231 MIC (μ M)	<i>K. pneumoniae</i> MIC (μ M)	Actividad Antiparasitaria IC ₅₀ (μ M)	Hemólisis (%)	Referencia
Cruzioseptinas	CZS-1	<i>Cruziohyia calcarifer</i>	21 aa +4.00	3.77	3.77	2-16 μ g/mL	n/d	<i>L. mex</i> : 0.54 <i>T. cruzi</i> : 2.87 <i>P. falc</i> : 16.76	n/d	Proaño-Bolaños et al., 2016/2024
Cruzioseptinas	CZS-4	<i>Cruziohyia calcarifer</i>	23 aa +3.22	13.09	26.18	52.36	n/d	<i>L. mex</i> : 0.09 <i>T. cruzi</i> : 1.55 <i>P. falc</i> : 4.87	<9.1% @MIC	Proaño-Bolaños et al., 2024
Cruzioseptinas	CZS-16	<i>Cruziohyia calcarifer</i>	23 aa +3.11	27.5	27.5	55.1	n/d	<i>L. mex</i> : 6.46 <i>T. cruzi</i> : 18.70 <i>P. falc</i> : 34.41	6.3-9.7%	Cuesta et al., 2021/Proaño-Bolaños et al., 2024
Cruzioseptinas	CZS-17	<i>Cruziohyia calcarifer</i>	23 aa +3.11	55.5	111.0	222.0	n/d	n/d	0.7-11.6%	Cuesta et al., 2021
Dermaseptinas	DRS-SP2	<i>Agalychnis spurrelli</i>	28 aa +4.00	2.68	2.68	10.71	10.71	<i>L. mex</i> : 0.61 <i>P. falc</i> : 12.06	No hemolítico	Proaño-Bolaños et al., 2019/2024
Dermaseptinas	DRS-SP3	<i>Agalychnis spurrelli</i>	27 aa n/d	47.50	189.98	>189.98	189.98	n/d	No hemolítico	Proaño-Bolaños et al., 2019
Dermaseptinas	DRS-SP4	<i>Agalychnis spurrelli</i>	27 aa n/d	47.25	189.00	>189.00	189.00	n/d	No hemolítico	Proaño-Bolaños et al., 2019
Dermaseptinas	DRS-SP5	<i>Agalychnis spurrelli</i>	27 aa n/d	96.06	>192.12	384.24	>189.00	n/d	No hemolítico	Proaño-Bolaños et al., 2019
Phyloseptinas	PLS-SP1	<i>Agalychnis spurrelli</i>	n/d n/d	>217.69	>217.69	>217.69	>189.00	n/d	n/d	Proaño-Bolaños et al., 2019
Pictuseptinas	PTS-1	<i>Boana picturata</i>	22 aa +3.00	6.83	27.32	54.64	n/d	<i>L. mex</i> : 0.10 <i>T. cruzi</i> : 1.42 <i>P. falc</i> : 24.87	1.7%	Morán-Marcillo et al., 2022/Proaño-Bolaños et al., 2024
Pictuseptinas	PTS-2	<i>Boana picturata</i>	22 aa +2.00	14.24	57.05	114.1	n/d	n/d	1.0-15%	Morán-Marcillo et al., 2022
Pictuseptinas	PTS-3	<i>Boana picturata</i>	26 aa +3.00	11.79	23.58	47.16	n/d	n/d	0.1-4%	Morán-Marcillo et al., 2022
Picturinas	PTR-1	<i>Boana picturata</i>	25 aa +3.00	24.8	>198.3	>198.3	n/d	n/d	0%	Morán-Marcillo et al., 2022
Picturinas	PTR-2	<i>Boana picturata</i>	25 aa +3.00	48.95	>195.8	>195.8	n/d	n/d	1.4%	Morán-Marcillo et al., 2022
Picturinas	PTR-3	<i>Boana picturata</i>	25 aa +2.00	48.98	97.95	195.91	n/d	n/d	0%	Morán-Marcillo et al., 2022

Tabla 2. comparativa entre familia de péptidos y actividad antimicrobiana frente a distintos microorganismos. Nota: tabla elaborada con base en datos de investigaciones de Liu et al., (2019); (2020), Zhou et al., (2016), Wang et al., (2021), Pinto et al., (2013) y Eggimann et al., (2015).

Péptido	Especie / Origen	Propiedades Estructurales	Actividad Antimicrobiana - MIC (µM)				Actividad Antiparasitaria - IC ₅₀ (µM)			Toxicidad		Referencia
			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	MRSA	<i>L. mexicana</i> / <i>L. infantum</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>P. falciparum</i>	CC ₅₀ Células (µM)	Hemólisis HC ₅₀ (µM)	
Phylloseptin-PV1	<i>Phyllomedusa vaillantii</i>	20 aa +4	16	4	4	2	n/d	n/d	n/d	>100	>100	Liu et al., 2020
Phylloseptin-PHa	<i>Phyllomedusa hypochondrialis</i>	20 aa +3	Inactivo	8-16	8	8	n/d	n/d	n/d	32	32	Liu et al., 2019
Phylloseptin-PHa1	<i>P. hypochondrialis</i> (análogo +carga)	20 aa +4	4	2	2	2	n/d	n/d	n/d	16	16	Liu et al., 2019
Phylloseptin-PHa2	<i>P. hypochondrialis</i> (análogo ++carga)	20 aa +5	2	1	1	1	n/d	n/d	n/d	8	8	Liu et al., 2019
Phylloseptin-PT	<i>Phyllomedusa tarsius</i>	20 aa +3	Inactivo	32	16	n/d	n/d	n/d	n/d	64	64	Zhou et al., 2016
Phylloseptin-PT1	<i>P. tarsius</i> (análogo +carga)	20 aa +4	4	8	4	n/d	n/d	n/d	n/d	16	16	Zhou et al., 2016
Phylloseptin-PT2	<i>P. tarsius</i> (análogo ++carga)	20 aa +5	1	0.5	8-16	n/d	n/d	n/d	n/d	2	2	Zhou et al., 2016
Dermaseptina-AC	<i>Agalychnis callidryas</i>	28 aa +5	2-4	2-4	n/d	2-4	n/d	n/d	n/d	50-100*	76.55	Wang et al., 2021
Dermaseptina-1	<i>Phyllomedusa nordestina</i>	n/d n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	0.25	n/d	Bajo**	n/d	Pinto et al., 2013
Dermaseptina-4	<i>Phyllomedusa nordestina</i>	n/d n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	0.68	n/d	Bajo**	n/d	Pinto et al., 2013
Phylloseptin-7	<i>Phyllomedusa nordestina</i>	n/d n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	10	n/d	n/d	34	n/d	Pinto et al., 2013
Temporina-A	<i>Rana temporaria</i>	13 aa +3	Inactivo	8-16	n/d	n/d	15-25***	n/d	n/d	50-100	50	Eggimann et al., 2015

Tabla 3. comparativa entre familias de péptidos y actividad antimicrobiana frente a distintos microorganismos. Nota: Tabla elaborada con base en datos de investigaciones de Carolina Proaño-Bolaños: cruzioseptinas (Proaño-Bolaños et al., 2016; 2024), dermaseptinas (Proaño-Bolaños et al., 2019), pictuseptinas y picturinas (Morán-Marcillo et al., 2022), cruzioseptinas adicionales (Cuesta et al., 2021).

