



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOFARMACIA

**“EVALUACIÓN *IN SÍLICO* DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE
DERIVADOS DE ANTRAQUINONAS SOBRE LAS ENZIMAS
GLUTAMATO RACEMASA Y MEVALONATO DIFOSFATO
DESCARBOXILASA DE *Enterococcus faecalis*”.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE QUÍMICO/A FARMACEUTA**

**AUTORES: CABRERA PALOMEQUE MANUEL RENE
SÁNCHEZ LEÓN JOYCE LIZBETH**

DIRECTOR: Dr. CARPIO ARÉVALO JUAN MARCELO, PhD

CUENCA- ECUADOR

2022

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOFARMACIA

**“EVALUACIÓN *IN SÍLICO* DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE
DERIVADOS DE ANTRAQUINONAS SOBRE LAS ENZIMAS
GLUTAMATO RACEMASA Y MEVALONATO DIFOSFATO
DESCARBOXILASA DE *Enterococcus faecalis*”.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE QUÍMICO/A FARMACEUTAS**

AUTORES: CABRERA PALOMEQUE MANUEL RENE

SÁNCHEZ LEÓN JOYCE LIZBETH

DIRECTOR: Dr. CARPIO ARÉVALO JUAN MARCELO, PhD

CUENCA - ECUADOR

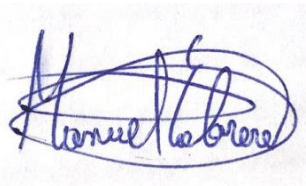
2022

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

MANUEL RENE CABRERA PALOMEQUE portador de la cédula de ciudadanía N° **1718618984**. Declaro ser el autor de la obra: **“EVALUACIÓN IN SÍLICO DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE DERIVADOS DE ANTRAQUINONAS SOBRE LAS ENZIMAS GLUTAMATO RACEMASA Y MEVALONATO DIFOSFATO DESCARBOXILASA DE *Enterococcus faecalis*”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **27 de septiembre del 2022**



MANUEL RENE CABRERA PALOMEQUE

C.I. 1718618984

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

JOYCE LIZBETH SÁNCHEZ LEÓN portadora de la cédula de ciudadanía N° **0704534569**. Declaro ser el autor de la obra: **“EVALUACIÓN IN SÍLICO DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE DERIVADOS DE ANTRAQUINONAS SOBRE LAS ENZIMAS GLUTAMATO RACEMASA Y MEVALONATO DIFOSFATO DESCARBOXILASA DE *Enterococcus faecalis*”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **27 de septiembre del 2022**



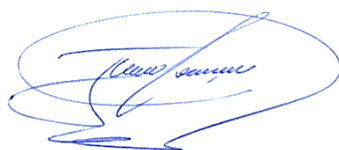
JOYCE LIZBETH SÁNCHEZ LEÓN

C.I. **0704534569**

CERTIFICACIÓN:

Certifico que el presente trabajo de titulación denominado “**EVALUACIÓN IN SÍLICO DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE DERIVADOS DE ANTRAQUINONAS SOBRE LAS ENZIMAS GLUTAMATO RACEMASA Y MEVALONATO DIFOSFATO DESCARBOXILASA DE *Enterococcus faecalis***”, realizado por **Manuel Rene Cabrera Palomeque y Joyce Lizbeth Sánchez León**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución bajo el asesoramiento permanente de mi persona en calidad de Tutor, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, 22 – 09 – 2022



Firma

Dr. Juan Marcelo Carpio Arévalo, PhD.

RESUMEN

Enterococcus faecalis etimológicamente es catalogado, como uno de los principales agentes causantes de infecciones en el tracto urinario. A nivel mundial la especie representa un problema de salud pública ya que desarrolló ampliamente el fenotipo de resistencia a algunos de los antibióticos más utilizados. Toda esta problemática genera la necesidad de investigar nuevos recursos terapéuticos. Las antraquinonas son moléculas que han presentado efectos antibacterianos y que no han sido evaluadas previamente sobre dos potenciales dianas terapéuticas de *Enterococcus faecalis*, como las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa.

OBJETIVO: Evaluar a través de ensayos *in silico* la capacidad inhibidora de derivados de antraquinonas frente a las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *Enterococcus faecalis*.

MATERIALES y MÉTODOS: La metodología empleada fue un estudio experimental *in silico*, evaluando y compararon las energías de unión y las interacciones de cien antraquinonas seleccionadas frente a las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *Enterococcus faecalis*.

RESULTADOS: Se identificaron diez antraquinonas con mayor afinidad para cada una de las enzimas de este trabajo y además se estudiaron sus interacciones polares y no polares con aminoácidos de los centros activos de estas enzimas.

PALABRAS CLAVE: *Enterococcus faecalis*, antraquinonas, glutamato racemasa, mevalonato difosfato descarboxilasa, *in silico*.

ABSTRACT

Enterococcus faecalis is etymologically cataloged as one of the main agents that cause urinary tract infections. Globally, it represents a public health problem since it has widely developed a phenotype of resistance to some of the most commonly used antibiotics. All these issues have created an urgent need to research new therapeutic tools. Anthraquinones are molecules that have shown antibacterial effects and that have not been previously evaluated on two potential therapeutic targets of *Enterococcus faecalis*, such as the enzymes glutamate racemase and mevalonate diphosphate decarboxylase.

Objective: To evaluate through *in silico* assays the inhibitory capacity of anthraquinone derivatives versus glutamate racemase and mevalonate diphosphate decarboxylase enzymes of *Enterococcus faecalis*.

Materials y methods: The methodology applied was an *in silico* experimental study, evaluating and comparing the binding energies and interactions of 100 selected anthraquinones against glutamate racemase and mevalonate diphosphate decarboxylase enzymes from *Enterococcus faecalis*.

Results: Ten anthraquinones with the highest levels of affinity for each of the enzymes in this research were identified, and their polar and non-polar interactions with amino acids in their active centers were studied.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, anthraquinones, glutamate racemase, mevalonate diphosphate decarboxylase, *in silico*.

ÍNDICE

| | |
|---|---|
| RESUMEN | |
| ABSTRACT | |
| ABREVIATURAS | |
| DEDICATORIA | |
| DEDICATORIA | |
| AGRADECIMIENTOS | |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO I | 3 |
| PLANTEAMIENTO TEÓRICO. | 3 |
| 1.1 PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN. | 4 |
| 1.2 JUSTIFICACIÓN | 5 |
| 1.3 Significado o importancia de la solución del problema | 6 |
| 1.4 Aporte: teórico, metodológico, práctico; Novedad | 6 |
| 1.5 Beneficios: | 7 |
| 1.6 Beneficiarios directos e Indirectos | 7 |
| 2 Directos | 7 |
| 3 Indirectos | 7 |
| 3.1.1 PREGUNTA CIENTÍFICA | 7 |
| 3.2 OBJETIVOS | 7 |
| 3.2.1 Objetivo General: | 7 |

| | | |
|--------|---|----|
| 3.2.2 | Objetivos Específicos: | 8 |
| 3.2.3 | I.1. MARCO TEÓRICO | 8 |
| 3.2.4 | .- Antecedentes: | 8 |
| 3.2.5 | Marco referencial: | 10 |
| 3.2.6 | Enterococo faecalis | 10 |
| 3.2.7 | Generalidades | 10 |
| 3.2.8 | Taxonomía | 11 |
| 3.2.9 | Patogénesis y síndromes clínicos más frecuentes | 13 |
| 3.2.10 | Patogenia | 13 |
| 3.2.11 | Patología | 14 |
| 3.2.12 | Factores de Virulencia | 14 |
| 3.2.13 | Características de <i>Enterococcus faecalis</i> | 14 |
| 3.2.14 | Sustancia de agregación (AS) | 14 |
| 3.2.15 | Producción de Feromonas | 15 |
| 3.2.16 | Ácido lipoteicoico | 15 |
| 3.2.17 | Producción de bacteriocinas, enzimas y anión superóxido | 15 |
| 3.2.18 | Hemolisina | 15 |
| 3.2.19 | Gelatinasa | 16 |
| 3.2.20 | Epidemiología | 16 |
| 3.2.21 | Mecanismos de resistencia de <i>Enterococcus faecalis</i> frente a antibióticos | 17 |
| 3.2.22 | Antibióticos utilizados para tratar infecciones de <i>Enterococcus faecalis</i> | 18 |
| 3.2.23 | Principales antibióticos usados | 18 |

| | | |
|-------------|---|----|
| 3.2.24 | Resistencia de <i>Enterococcus faecalis</i> | 19 |
| 3.2.25 | Resistencia intrínseca | 19 |
| 3.2.26 | Resistencia de <i>Enterococcus faecalis</i> frente antibióticos | 19 |
| 3.2.27 | Resistencia a β -lactámicos | 20 |
| 3.2.28 | Resistencia a aminoglucósidos | 21 |
| 3.2.29 | Resistencia a fluoroquinolonas | 21 |
| 3.2.30 | Resistencia a oxazolidinonas | 21 |
| 3.2.31 | Glutamato racemasa | 22 |
| 3.2.32 | Conformación del glutamato racemasa | 22 |
| 3.2.33 | Mevalonato difosfato descarboxilasa | 22 |
| 3.2.34 | Conformación de la mevalonato difosfato descarboxilasa | 23 |
| 3.2.35 | Antraquinonas | 23 |
| 3.2.36 | Derivados de antraquinonas | 24 |
| 3.2.37 | Derivados antraquinónicos con propiedades laxantes | 24 |
| 3.2.38 | Antraquinonas con efecto antibacteriano frente a <i>E. faecalis</i> | 25 |
| 3.2.39 | Ensayos <i>in silico</i> en la búsqueda de nuevos fármacos | 25 |
| 3.2.40 | Ensayo <i>in silico</i> de nuevos fármacos | 25 |
| CAPÍTULO II | | 27 |
| METODOLOGÍA | | 27 |
| II.1. | Diseño de investigación | 28 |
| II.2. | Población y muestra | 28 |
| II.2.2. | Muestreo y muestra | 28 |
| II.2.3. | Definición y clasificación de las variables | 28 |

| | |
|---|----|
| II.3. Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos | 29 |
| II.4. Procedimientos estadísticos y análisis de datos | 31 |
| II.4.1. Aspectos Éticos | 32 |
| CAPÍTULO III | 33 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 33 |
| III. RESULTADOS | 34 |
| Análisis de las estructuras de las antraquinonas con mejor energía de unión con la enzima glutamato racemasa | 37 |
| Análisis de interacciones entre antraquinonas y la enzima glutamato racemasa. | 41 |
| Análisis de las estructuras de las antraquinonas con mejor energía de unión con la enzima mevalonato difosfato descarboxilasa | 47 |
| CAPÍTULO IV | 61 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 61 |
| IV. CONCLUSIONES | 62 |
| IV.1. RECOMENDACIONES | 63 |
| BIBLIOGRAFÍA | 64 |

DEDICATORIA

Con todo el cariño dedico este trabajo de titulación a mi hijo que ha sido mi motor, mi fuerza y mi principal motivación para salir adelante y cumplir todas mis metas.

A mis padres y hermana que son mi pilar fundamental de vida, por su paciencia, esfuerzo, amor, apoyo incondicional, creer en mí y no dejarme sola en este largo y duro camino.

A mi amiga María Carmen que ha estado en todo momento a mi lado apoyándome, aconsejándome y sobre todo ayudándome para que este trabajo se culminara de la mejor manera, y a todos lo que han estado a mi lado para superarme y ser una profesional en la vida.

Joyce Sánchez

DEDICATORIA

Con todo el amor dedico esta tesis a mis Padres que, a pesar de todos esos errores, problemas y adicciones siempre han estado conmigo apoyándome y guiándome, a mi hermana que de no ser por ella me hubiera hundido en el mundo del alcoholismo.

También quiero agradecer a Dios por darme otra oportunidad para poder vivir una vida sin las cadenas del alcoholismo, día a día es una prueba muy dura para mí, pero yo sé que con Dios todas las pruebas van a poder ser superadas.

Y por último a mi mejor amiga y colega Maru, por escucharme y ayudarme en todos los aspectos personales porque si yo caigo ella me levanta y si ella cae yo la levanto.

Manuel Cabrera.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a Dios por darnos la fuerza necesaria para lograr cada uno de nuestros propósitos de vida, por guiarnos en todo momento y sobre todo en esta etapa de la carrera universitaria e impulsarnos a ser mejores en lo que hacemos.

A nuestras familias que han sido nuestra fortaleza, apoyo y por ellos que estamos en donde estamos, que jamás dejaron de alentarnos y hacernos ver que podemos salir adelante y lograr todas y cada una de nuestras metas.

A nuestro tutor, Doctor Juan Carpio por su tiempo, dedicación, paciencia y esfuerzo. Gracias a él y a todos sus conocimientos a lo largo de la carrera y su apoyo en la elaboración de nuestra tesis, por ser un gran ser humano, una excelente persona y ser parte de nuestra vida profesional.

A todos nuestros docentes de la facultad de Biofarmacia por todas y cada una de sus enseñanzas a lo largo de este camino de formación profesional.

Manuel y Joyce.

INTRODUCCIÓN

La OMS (Organización Mundial de la Salud) considera que, en su mayoría, muchos de los medicamentos son suministrados de manera innecesaria generando un aumento de la resistencia bacteriana. Entre las especies bacterianas que presentan fenotipo de resistencia se encuentra *Enterococcus faecalis*. Esta especie constituye uno de los patógenos más comunes de infecciones del tracto urinario, siendo causa también de endocarditis, entre otras enfermedades hospitalarias y adquiridas en la comunidad (1).

Ahora bien, se ha encontrado soluciones innovadoras entre ellas la evaluación de nuevos compuestos de origen vegetal llamados antraquinonas y sus derivados que ayudan al control de infecciones enterocócicas. Entre las principales clases de compuestos naturales se destacan las antraquinonas, estas moléculas presentan una alta actividad biológicas que han sido demostradas, estas incluyen actividades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes y anticancerígenas sobre patógenos que afectan al hombre (2). Las antraquinonas están presentes principalmente en ciertos géneros de plantas y algunas de ellas han mostrado actividad antibacteriana. Entre los microorganismos que muestran sensibilidad a varias antraquinonas se destacan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, etc. Algunas de las antraquinonas con mayor actividad antibacteriana son: la 1,8-dihidroxi-antraquinona, la 6-metil-1,3,8-trihidroxi-antraquinona, las cuales han mostrado diferentes mecanismos de acción incluyendo su capacidad de alterar las características de las membranas bacterianas, inducción de la formación de especies reactivas de oxígeno, alteración de la transcripción, entre otras (3). Sin embargo, en otros casos no está claro exactamente cuáles podrían ser las dianas terapéuticas de estos compuestos y algunos trabajos *in silico* han evaluado su capacidad de inhibir otras dianas como la ADN girasa B bacteriana (4).

De lo que conocemos hasta el momento sobre el estudio de antraquinonas, ya sea *in vivo* o *in vitro* sobre *E. faecalis*, existe limitada información, de hecho, no existen estudios realizados *in silico*, que evalúen la actividad de antraquinonas sobre las

enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*. Considerando lo anterior, el presente trabajo empleó herramientas computacionales para presentar información novedosa sobre el potencial de estas moléculas para inhibir a estas enzimas (3,4).

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.

1.1 PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.

La capacidad de resistencia de esta bacteria es una manifestación creciente caracterizada por la fuerza total o parcial de los microorganismos frente a antibióticos. Entre las causas destacan el uso irracional e indiscriminado de medicamentos, que han provocado el surgimiento de bacterias resistentes y multirresistentes que pueden generar incluso la muerte de algunos pacientes.

En publicaciones recientes desarrolladas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), detalla que alrededor del 50% de antibióticos suelen ser suministrados de forma errónea conduciendo a un aumento acelerado de la resistencia bacteriana por parte de *E. faecalis*. Este patógeno se constituye en la comunidad microbiológica como un microorganismo común presente en las infecciones del tracto urinario, de enfermedades hospitalarias como la endocarditis. Por ende, la infección por esta bacteria es un problema mundial debido a que cada día aumenta la morbilidad y la mortalidad (5).

El alto nivel de resistencia a los antibióticos que presenta *E. faecalis*, se debe a la reproducción de enzimas consideradas “pasivas” que hacen ineficaz el efecto sinérgico del agente activo sobre la pared celular, y a su vez presenta un alto índice de resistencia a los distintos antibióticos manipulados para su tratamiento (5).

Frente a la carencia de hallar efectivas opciones para la revisión de inoculación de bacterias, se ha recurrido a nuevas estrategias, entre ellas, la búsqueda de nuevas moléculas de origen natural, como las antraquinonas, para evaluar su potencial antibacteriano (5).

Las antraquinonas son compuestos orgánicos aromáticos relacionados químicamente con el antraceno. Son moléculas presentes principalmente en ciertos géneros de plantas y algunas de ellas han mostrado actividad antibacteriana. Por ejemplo, los extractos de *Aloe vera*, planta que contiene en su látex antraquinonas, ha demostrado efecto antibacteriano contra bacterias Gram positivas entre ellas *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* y contra Gram negativas como

Escherichia coli, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* y *Helicobacter pylori* (5). Además, extractos de *Morinda royoc L*, ricos en antraquinonas bioactivas, han mostrado también efectos contra bacterias como *Bacillus licheniformis* y *Stenotrophomonas maltophilia* presentando un 50% de susceptibilidad, tanto a las 24 y 48 horas de exposición con concentraciones de 150 y 450 μg respectivamente (6).

Las antraquinonas aisladas han demostrado ser bactericidas frente a bacterias Gram positivas (*Bacillus cereus*, *Listeria* y *Staphylococcus aureus*) y Gram negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella Enteritidis*). De hecho, la 3-geraniloxiemodina es bactericida contra tres bacterias Gram positivas, mientras que la 3-metoxiemodina solo es activa contra *Staphylococcus aureus*, y su actividad disminuye con el pH. En cambio, la 2-isoprenil-3--metoxiemodina solo fue eficaz a un pH 7 frente a *Staphylococcus aureus*.

Los mecanismos antibacterianos de las antraquinonas son diversos, incluyendo la simple desestabilización de la pared celular, alteraciones de rutas metabólicas, de forma directa o indirecta. Debido a ello los derivados de antraquinonas pueden tener múltiples mecanismos de acción lo que permite la efectividad al momento de estudiar la resistencia que desarrolla *E. faecalis* (6).

1.2 JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con la revisión en literatura, se puede afirmar que existen pocos estudios referentes con la evaluación de la sensibilidad de *E. faecalis* frente a nuevos compuestos como las antraquinonas, por lo cual, el desarrollo de esta investigación será novedosa en la zona. Por otra parte, nos permitirá adquirir el conocimiento, destrezas, y habilidades para investigar, además nos brindará los créditos académicos necesarios para la obtención del título profesional de Químico Farmaceuta.

El descubrimiento de antibióticos en el tratamiento de enfermedades bacterianas constituyó un hecho sin precedentes, debido a la importancia de patologías relacionadas con estos microorganismos. Actualmente se estima que

aproximadamente el 40% de pacientes atendidos en establecimientos de salud, reciben terapia antibiótica y el uso indiscriminado de los mismos, ha conllevado a la resistencia bacteriana, por lo que se requiere la búsqueda de nuevos medicamentos (7). *E. faecalis*, produce infecciones en vías urinarias a su vez es conocido comúnmente por las fuertes bacteriemias que causa. La endocarditis es otra de las principales enfermedades que produce este patógeno. Otra causa muy común que acarrea este patógeno en el área hospitalaria es la presencia de abscesos abdominales (8).

Algunos de los principales ejemplos de antraquinonas incluyen a los heterósidos antraquinónicos encontrados en *Aloe vera* L y *Aloe barbadensis miller* (sábila), los cuales llegan a ser utilizados como laxantes, además están incluidos en las importantes farmacopeas, debido a sus beneficios y propiedades terapéuticas. Teniendo en cuenta estos antecedentes, en este estudio se utilizó un enfoque computacional para evaluar y seleccionar mediante acoplamiento molecular antraquinonas que puedan inhibir las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis* (9).

Los resultados obtenidos de este estudio serán utilizados como antecedentes para que otros expertos interesados en estudios *in vitro* e *in vivo*, basados en la forma estructural de las antraquinonas.

1.3 Significado o importancia de la solución del problema

Con esta investigación *in silico* se pretende evaluar el potencial de antraquinonas actuando como posibles inhibidores de las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa.

Estos resultados pueden servir como información de base para posteriores investigaciones dirigidas al desarrollo de antibióticos contra *E. faecalis*.

1.4 Aporte: teórico, metodológico, práctico; Novedad

Se aportará con información novedosa que permitirá ampliar el conocimiento del potencial antibacteriano de moléculas ya conocidas como las antraquinonas, pero

actuando sobre dianas que aún no han sido lo suficientemente explotadas en el desarrollo de nuevos fármacos.

1.5 Beneficios:

La información generada en la presente investigación podría servir para el inicio de investigaciones en el área del descubrimiento y diseño racional de fármacos antibacterianos. Además, en el desarrollo de la misma, los autores ampliarán y afirmarán sus conocimientos de microbiología, farmacología y desarrollarán habilidades en el manejo de algunas herramientas empleadas en experimentos *in silico* en esta área.

1.6 Beneficiarios directos e Indirectos

2 Directos

Los autores de este trabajo de titulación serán beneficiarios directos ya que no solamente permitirá la obtención del título de Químicos Farmaceutas, sino además su ejecución permitirá reforzar y ampliar conocimientos adquiridos durante la carrera.

3 Indirectos

Estudiantes e investigadores interesados en la búsqueda y desarrollo de nuevos antibacterianos.

3.1.1 PREGUNTA CIENTÍFICA

¿Qué estructuras de las 100 moléculas de antraquinonas incluidas en esta investigación demuestran mayor potencial interactivo en las enzimas glutamato racemasa y mevalonato descarboxilasa de *E. Faecalis*?

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo General:

Evaluar mediante acoplamiento molecular el potencial de antraquinonas para actuar como inhibidores de las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*.

3.2.2 Objetivos Específicos:

- Evaluar mediante acoplamiento molecular la afinidad entre 100 antraquinonas y los centros activos de las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*.
- Establecer de forma comparativa las características estructurales de las antraquinonas que favorecen su afinidad por el glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*.
- Establecer de forma comparativa las características estructurales de las antraquinonas que no favorecen su afinidad por el glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*.

3.2.3 I.1. MARCO TEÓRICO

3.2.4 .- Antecedentes:

E. faecalis es una de las principales especies causantes de infecciones en vías urinarias, torrente sanguíneo, heridas de la piel u otros sitios estériles. Múltiples factores como el diagnóstico erróneo debido a la manipulación inadecuada de antibióticos, han favorecido que esta especie manifieste resistencia antibacteriana. *E. faecalis* es un coco Gram positivo que se encuentra en alimentos, agua, suelos y que a su vez forma parte de la microbiota normal del hombre y otros animales, dicho microorganismo reside habitualmente en el tracto digestivo y genital. Sin embargo, en los últimos años, la incidencia de infección nosocomial por *E. faecalis* se ha incrementado y se ha convertido en una importante causa de morbilidad en el ámbito clínico y quirúrgico(10).

Las antraquinonas son biomoléculas que presentan una amplia gama de actividades biológicas que han sido demostradas en diversos estudios. Estas incluyen actividades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes y anticancerígenas sobre patógenos que afectan al hombre. Las antraquinonas producen hidrólisis de heterósidos presentes en bacterias colónicas (10).

En una investigación en Venezuela, titulada “Evaluación *in vitro* de dos extractos de *Aloe vera* en bacterias patógenas”, describe que los extractos de *Aloe vera* demuestran efectos antibacterianos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (11). Identificando, así como componentes de acción antimicrobiana a: taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, glicósidos cardíacos, ácido cinámico, ácido p-cumárico, ácido ascórbico y pirocatecol, describen que el compuesto antimicrobiano de mejor espectro para *E. faecalis*, es la *Aloe vera* ya que inhibe su crecimiento (11).

Ahora bien, debido a la resistencia ha surgido de manera necesaria la aplicación de modelos computacionales que buscan proponer nuevos fármacos, permitiendo el desarrollo de nuevos tratamientos para infecciones bacterianas que día a día se tornan más resistentes a antibióticos de uso convencional.

En otro estudio en Guatemala, titulado “Evaluación *in silico* de polifenoles de la rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y diseño de derivados como inhibidores de la enzima HMG Co-A reductasa”, los resultados indicaron que la enzima HMG Co-A reductasa generó interacciones moleculares en su sitio activo con estas moléculas presentando bajas energías de enlace. Es por ello que, los polifenoles de la rosa de Jamaica y las moléculas con modificaciones estructurales mostraron uniones favorables en el sitio activo de la enzima. De esta forma, podrían inhibir dicha enzima logrando disminuir los niveles de colesterol en sangre (11,12).

Debido a la resistencia bacteriana, ha surgido de manera necesaria la aplicación de modelos computacionales que buscan proponer nuevos fármacos, de manera eficaz y efectiva lo que permite su uso contra infecciones bacterianas que día a día se vuelven más fuertes a los antibióticos de uso convencional. Hasta donde conocemos a partir de la revisión de la literatura científica, no existen trabajos que

hayan evaluado la capacidad de antraquinonas para inhibir a las enzimas propuestas en este trabajo. De hecho, la revisión que hemos realizado no ha mostrado trabajos *in vitro* ni *in silico* sobre estas enzimas (7).

3.2.5 Marco referencial:

3.2.6 Enterococo faecalis

Se ha demostrado que los enterococos son considerados una de las principales causas más comunes de infecciones nosocomiales. *E. faecalis* es la especie responsable de la mayoría de las infecciones, seguida de *E. faecium*. Cada año la incidencia de bacteriemia por enterococos es de 2 por cada 1000 pacientes ingresados en los hospitales(10).

E. faecalis es una bacteria Gram-positiva perteneciente a la familia Enterococcaceae. Es una especie inmóvil, facultativamente anaeróbica y fermentadora de glucosa, no produce gases, su hábitat es el tracto gastrointestinal de humanos y mamíferos, y se encuentran en altas temperaturas, pH alcalino alto hasta 9.6 y alta concentración de sal. Las colonias en medio de agar suelen ser incoloras a grises, de 2 a 3mm de diámetro después de dos días de cultivo, y pueden presentar hemólisis alfa, beta o no pueden ser hemolíticas.

Dentro de una misma cepa, sus propiedades hemolíticas pueden variar según el animal del que se deriva la sangre utilizada en el medio (13). Los factores de virulencia de la bacteria son: hemolisinas, bacteriocinas, proteasas, lectinas y carbohidratos de la pared celular o puntos de fusión a fibronectina (estos facilitan la unión a los tejidos del comensal), que intensifican la patogenicidad. Dichos factores pueden causar bacteriemia, endocarditis, infecciones intraabdominales y pélvicas, piel y tejidos blandos, neonatos y niños (14).

3.2.7 Generalidades

Los enterococos se aíslan fácilmente de una variedad de huéspedes, incluyendo a los invertebrados, insectos y mamíferos. En estos huéspedes destaca la capacidad de los enterococos para sobrevivir a varias defensas esenciales del huésped en su

intestino. En los humanos, estos son uno de los primeros colonizadores del intestino infantil y, por lo tanto, es un miembro central del microbioma. Además, estas bacterias son comunes en el microbiota simbiótico de los animales salvajes y domésticos, también pueden contribuir a la infección de estos (13). Debido a su amplia presencia en humanos y animales, se aíslan fácilmente de los entornos habitados por estos huéspedes, que a menudo se asocian con plantas, suelo y agua. Gracias a sus numerosas auxotrofias, los enterococos persisten en el ambiente, pero no es probable que proliferen en grandes cantidades allí (15).

Al ser de gran importancia clínica, el género *Enterococcus* es ampliamente utilizado para el aislamiento de patógenos en heces, agua, alimentos, orina y distintas muestras. Diferentes agentes ayudan para la elección del método de cultivo, como el pH, las condiciones de crecimiento, la temperatura de incubación. Los valores de pH respectivamente bajos (6,0 o 6,2) y temperaturas de incubación altas (42 o 45 °C) son condiciones especiales de crecimiento para estas bacterias (16).

Innumerables ensayos clínicos han evidenciado que las bacterias pueden inocularse de un paciente a otro en un hospital, ya sea a través del instrumental clínico o a través de las manos del personal sanitario (17).

3.2.8 Taxonomía

Desde el punto de vista microbiológico, los enterococos se clasifican como cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, negativos a la catalasa y gran parte se adhieren con anticuerpos específicos del grupo D de Lansfield (16).

Los enterococos se descubrieron por primera vez en las heces humanas en 1899 (18). Sin embargo, hasta 1984, todavía se consideraban parte del género *Streptococci*, siendo denominados *Streptococcus faecalis*, descritos por primera vez en 1906 cuando se aisló el microorganismo de un paciente con endocarditis. *Streptococcus faecium* se detectó por primera vez en 1919. Posteriormente, los estreptococos pertenecientes al serogrupo D se dividieron en dos grupos. Esta división se realizó en base a estudios que demuestran diferencias bioquímicas y diferencias de ácido nucleico (estudios de homología de ADN-rARN y 16SrARN).

Streptococcus faecalis y *Streptococcus faecium* se colocaron en el grupo de los enterococos, al que pertenecen más de 50 especies (19,20).

El género *Enterococcus* abarca más de 50 especies y su último ancestro común se ha ramificado hace aproximadamente 425 millones de años(19). Las Especies de Enterococos de importancia hospitalaria para los humanos son: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. Casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E raffinosus*, *E malodoratus*, *E. hirae*, *E mundtii*, *E solitarius* y *E. pseudoavium* (18).

Los miembros del género *Enterococcus* tienen propiedades únicas que les permiten sobrevivir a las defensas del huésped y competir en el tracto intestinal, después persisten y se propagan en entornos naturales u hospitalarios, lo que conduce a la colonización de huéspedes nuevos. Estas propiedades incluyen la capacidad de crecer en un amplio rango de temperatura y pH, sobrevivir en condiciones secas y en presencia de NaCl al 6,5% y 40% de sales biliares (21). Son anaerobios facultativos y crecen de perfectamente entre 30 y 35°C. Son organismos catalasa negativos, pero en ciertos casos pueden ser catalasa positivos, el resultado final de la fermentación de la glucosa es el lactato. El porcentaje de guanina y citosina de este grupo estuvo entre 37 y 45 mol (22).

Varias características de los enterococos les permiten persistir en casi todas partes y adquirir resistencia a múltiples fármacos antimicrobianos, lo que representa un desafío considerable para el control de infecciones. La introducción de técnicas de tipificación molecular, incluidas PFGE, MLST, MLVA y otras metodologías basadas en PCR y, más recientemente, MALDI-TOF MS y WGS, ha mejorado sustancialmente la capacidad para discriminar aislados de enterococos y ha proporcionado información crítica sobre epidemiología. Se ha demostrado la adquisición exógena de cepas de enterococos por contacto directo e indirecto entre pacientes, rompiendo la concepción tradicional de que las infecciones por enterococos eran de naturaleza endógena (23).

3.2.9 Patogénesis y síndromes clínicos más frecuentes

3.2.10 Patogenia

Sin duda, los sucesos que establece el origen de la infección por enterococos es la colonización de la mucosa humana por el patógeno (24). Por esto se debe tener moléculas de superficie que actúen como adhesinas, se necesitan sus receptores sobre el tejido “blanco”, normalmente de naturaleza proteica, glicoproteica, lipoproteica o glucosídica (24).

Una vez finalizado el proceso de fijación, los microorganismos pueden penetrar otras áreas anatómicas, ingresar al torrente sanguíneo o al sistema linfático y causar diversos cambios patológicos, algunos de los cuales se originan en respuestas inflamatorias severas e incluso involucran enzimas y toxinas. Los enterococos más infecciosos habitan principalmente en el sistema nervioso entérico, al cabo de unos días, tras ser fagocitados por células del íleon y colon o por macrófagos entéricos, suelen metastatizar desde la luz del intestino delgado hacia el hígado, el bazo y los ganglios linfático, lo que en cualquier caso favorece su paso a través de la pared intestinal y hacia la vía linfática (25). Se ha observado que la proteína de superficie enterocócica (ESP) también llamada sustancia agregada (AS) incita la internalización microbiana en las células HT-29, además de la producción de grandes cantidades de iones superóxido (O_2^-). Los *Enterococcus* tienen distintos tipos de cepas *que* pueden ser un fuerte mecanismo para resistir a la fagocitosis de macrófagos (14,25).

Aparentemente, los enterococos también pueden ingresar al torrente sanguíneo desde el intestino mediante varios forúnculos o una previa colonización del aparato urinario. Finalmente, es importante comentar que la infección por enterococos también ocurre porque el microbio contrarresta la acción de varios mecanismos de defensa humanos a través de la colaboración de ciertas cápsulas de polisacáridos o de proteínas de superficie con función antifagocítica (22).

3.2.11 Patología

Las infecciones y fuentes de infección asociadas a las enfermedades hospitalarias son endógenas y exógenas; en el primer caso, los enterococos se derivan de la propia flora del paciente, mientras que en el segundo se destacan los equipos e instrumentos y las personas médicas y paramédicas. Estos suelen actuar como vectores para la transferencia de patógenos de unos pacientes a otros, e incluso puede transferir su propia flora de uso común, que por razones laborales está compuesta por varios protozoos que son resistentes a los fármacos más usados (24).

Alrededor de un 40% de medicamentos utilizados en los hospitales corresponden exactamente a antimicrobianos de amplio espectro, razón principal de la selección y aprovechamiento de las bacterias multirresistentes en el ámbito hospitalario. Además, la etiología de futuras infecciones nosocomiales puede cambiar significativamente cada vez que se modifican las preferencias de tratamiento (22).

3.2.12 Factores de Virulencia

Varios estudios han relacionado estas propiedades proteolíticas con una alta incidencia de enterococos en septicemia, cardialgia, infecciones urinarias y enfermedades de piel. La ESP (proteína de superficie enterocócica) es la encargada de la invasión y permanencia de *E. faecalis* mientras la infección y facilita la interacción primaria patógeno-huésped durante la formación de biopelículas (26).

3.2.13 Características de *Enterococcus faecalis*

3.2.14 Sustancia de agregación (AS)

Diversos estudios han demostrado que las sustancias agregadas (AS) parecen jugar un papel fundamental en la patogénesis. La (AS) sustancia agregada es una proteína de superficie, regulada específicamente por el plásmido pAD1(22), especialmente por el gen *asa1* dicha existencia aumenta significativamente en los macrófagos antes de interactuar con las integrinas CD11b, CD18 y CR3 La adhesión y la internalización también están presentes en otros humanos células de

defensa. Este cumple funciones como: mejora la unión de plásmidos, se adhiere a los tejidos del huésped, promueve la internalización y resistencia de la fagocitosis (22).

3.2.15 Producción de Feromonas

E. faecalis produce feromonas, que son sustancias peptídicas que estimulan la transferencia de ADN plasmídico mediante la unión entre cepas (26). Actúa como quimio atrayente para atraer células polimorfonucleares (PMNs), favoreciendo los procesos inflamatorios (22).

3.2.16 Ácido lipoteicoico

El ácido lipoteicoico está presente en las paredes celulares (antígenos del grupo D) e induce la producción de factor de necrosis tumoral e interferón gamma, regulando así las respuestas inmunitarias (22).

3.2.17 Producción de bacteriocinas, enzimas y anión superóxido

Un hecho interesante es que algunas cepas de *E. faecalis* pueden producir bacteriocinas capaces de lisar una amplia variedad de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se sabe que *E. faecalis* produce varias enzimas, como la hialuronidasa y la gelatinasa, ambas extracelulares (16). Son capaces de producir grandes cantidades de iones superóxido (O_2^-). Esta propiedad sugiere que es un mecanismo eficiente para sobrevivir a la fagocitosis por macrófagos (22).

3.2.18 Hemolisina

La citolisina de *E. faecalis* cumple el papel de deshacer las células eucariotas y procariontas, tales como los glóbulos rojos de los humanos. Se cree que esta sustancia juega un rol significativo en la primera etapa de las infecciones causadas por esta bacteria, que implica la penetración bacteriana en el tejido intestinal humano, incluso en casos asintomáticos, así como daño tisular y toxemia antes de la segunda etapa, aparecen los síntomas principales. Esta se modifica por el plásmido pAD1 y consta de tres subgrupos que se asocian para provocar la lisis

celular, sin embargo, una de estas llamada activasa, ha recibido gran atención por parte de los expertos (22,25).

Sin embargo, la presencia de muchos otros agentes causantes de enterococos es incuestionable, y sólo una parte de las cepas hospitalarias sintetizan citolisina, lo que sugiere que no sustituye un componente esencial del origen de la enfermedad por *E. faecalis*. Aunque los procesos empleados en el daño tisular siguen siendo irreconocibles, posiblemente las citolisinas induzcan la liberación de intercesores inflamatorios de los tejidos o fagocitos dañados, contribuyendo así a la gravedad del proceso inflamatorio (22,25).

3.2.19 Gelatinasa

Otro factor de virulencia en el género *Enterococcus* es la gelatinasa, una enzima que degrada la gelatina, la caseína, la hemoglobina y ciertos péptidos bioactivos, incluida la feromona quimiotáctica de *E. faecalis* a los tejidos invadidos. También, una de las factibles funciones de esta proteasa sería regular o cambiar las capacidades de protección al huésped junto con las feromonas quimiotácticas, o inducir la separación o almacenamiento de glóbulos blancos en los tejidos colonizadores (26).

3.2.20 Epidemiología

Las bacteriemias causadas por *E. faecalis* han alcanzado un rol importante principalmente debido al aumento del número de casos intrahospitalarios. En lo que va de los 25 últimos años los enterococcus se consideran como huéspedes de baja nosogénesis a convertirse en una de las principales causas más frecuentes de infecciones nosocomiales. Siendo este la causa de morbilidad en áreas clínicas y quirúrgicas. En América Latina el *Antimicrobial Surveillance Program* (SENTRY) en 2017 reportó que la infección por enterococos está en el octavo lugar por causar bacteriemia, mientras que la infección por enterococos, que a su vez es causa de infecciones del tracto urinario y heridas quirúrgicas, ocupó el cuarto lugar (27).

Estudios multicéntricos y poblacionales realizados durante la primera década del siglo XXI demostró que los enterococos son la tercera causa más común de endocarditis infecciosa, representa del 9 al 13% de todos los casos en los países industrializados. De estos, el 90% son causados por *E. faecalis*. IE es una entidad en constante evolución. En este contexto de cambio constante, estudios recientes sugieren que la Endocarditis Infecciosa por *E. faecalis* (EFIE) sería más común de lo descrito anteriormente, tal vez debido a una tasa más alta de ecocardiogramas realizados en bacteriemia por *E. faecalis* (27).

En la actualidad, la gran mayoría de noticias mundiales indican a estos microorganismos como la causa principal de alto índice de infecciones (16). En lo que va de Latinoamérica según informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) conjuntamente con la Organización Panamericana de la Salud (OPS), Colombia encabeza la lista de bacteriemias producida por esta bacteria tan solo desde el año 2016 al 2019 se ha registrado un incremento del 53.8% (28).

Ahora bien, en países como Argentina, Chile, Paraguay, Ecuador, Perú, Cuba y Bolivia en los años 2014-2019, dicha bacteria ha tenido un aumento del 40.5%. La forma clínica más usual fue la bronconeumonía y otras infecciones respiratorias agudas con bacteriemia (21,5 %), seguida de las infecciones del tracto urinario y de partes blandas (14,7 %), la bacteriemia nosocomial (11,2 %) y la infección de heridas quirúrgicas (10,3 %) (29).

3.2.21 Mecanismos de resistencia de *Enterococcus faecalis* frente a antibióticos

Se ha demostrado que dicha bacteria alcanza cierto porcentaje de resistencia a otros antimicrobianos por medio de plásmidos y transposones que portan genes que codifican ampicilina, penicilina, macrólidos, cloranfenicol y a altas concentraciones de aminoglucósidos y cotrimoxazol. Gracias a la enorme adaptabilidad de las bacterias, estas pueden desarrollar mecanismos específicos a los antibióticos, impidiéndoles así ejercer su acción.

Debido a la baja afinidad y el nivel de resistencia de las proteínas fijadoras de penicilina, tienen cierta resistencia natural inherente a los β -lactámicos (30). En comparación con las cefalosporinas, la mayor actividad de algunas penicilinas se agrupa con facilidad relativamente mayor con las proteínas de unión a la penicilina (PBPs) implicadas en los mecanismos de resistencia a estas. Los patrones de autolisina alterados se asocian con respuestas paradójicas a la actividad bactericida de la penicilina, que suelen mostrar los aislados clínicos de *E. faecalis* (31).

Se han informado dos mecanismos de resistencia a los β -lactámicos; por alteración de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), o por producción de las betalactamasas, el segundo mecanismo, es el alto grado de resistencia a los antibióticos (aminoglucósidos), debido a producciones enzimáticas modificantes de aminoglucósidos. Esta nueva situación de mecanismos de resistencia limita de manera considerable las opciones para el tratamiento para esta bacteria, haciendo así muy necesaria la búsqueda de nuevos antibióticos que induzcan una resistencia cruzada a otros antimicrobianos (32).

3.2.22 Antibióticos utilizados para tratar infecciones de *Enterococcus faecalis*

3.2.23 Principales antibióticos usados

Cuando hablamos de los antibióticos de elección para las infecciones por enterococos sin resistencia comprobada, consisten en ampicilina o amoxicilina; en caso de infecciones urinarias no complicadas o en caso de infecciones sistémicas, a su vez existen combinaciones de penicilina o ampicilina y estreptomina o gentamicina (33).

El descubrimiento de la resistencia a distintos fármacos y, principalmente a ERV (enterococos resistentes a la vancomicina) ha provocado cambios en los tratamientos previos. La nitrofurantoína puede ser usada para infecciones del tracto urinario no complicadas, incluidas las causadas por ERV asociadas o no a la presencia de sonda urinaria, y en combinación con rifampicina para la prostatitis crónica, aunque la regresión completa solo se logra después de retirar la sonda (34).

Los datos limitados y contradictorios sobre la eficacia de las fluoroquinolonas, por lo que actualmente no se recomienda su uso para el tratamiento empírico de tales infecciones. En una infección del aparato urinario la fosfomicina (dosis única de 3 g, por vía oral) se puede usar en el tratamiento no complicado causada por enterococos. La situación es más difícil en el caso de infección enterocócica grave, principalmente bacteriemia con o sin endocarditis (34).

La mayoría de las cepas de *E. faecalis* y algunas de *E. faecium* resistentes a betalactámicos (vancomicina) son sensibles a las concentraciones alcanzadas in vivo. Se considera resistente a vancomicina cuando la CIM es superior a 16 mg/ml, sin embargo, se puede alcanzar concentraciones superiores a 100-150 µg/ml con una dosis de (18-30 g/día). Por lo tanto se cree que al aumentar la dosis del fármaco los enterococos con una CIM de ≤ 64 µg/ml de ampicilina pueden inhibirse(35).

3.2.24 Resistencia de *Enterococcus faecalis*

3.2.25 Resistencia intrínseca

Los enterococos tienen la cualidad de poseer una resistencia intrínseca a la mayoría de los antibióticos de uso común, lo que hace sumamente difícil, en algunas ocasiones, el manejo de las infecciones que provoca, sobre todo en el medio intrahospitalario (36).

Numerosos investigadores centran sus estudios en la genética y los mecanismos de resistencia, sin embargo, a diferencia de otros microorganismos de los cuales son bien conocidas la presentación clínica y la epidemiología de las infecciones pediátricas que provocan, poco se conoce con relación a esto sobre la infección por enterococos, especialmente en nuestro medio (36).

3.2.26 Resistencia de *Enterococcus faecalis* frente antibióticos

Los microorganismos de la familia *Enterococcus* son uno de los principales patógenos nosocomiales, debido a su resistencia inherente a la mayoría de los medicamentos bactericidas o bacteriostáticos dificultando así su tratamiento. Los enterococos son moderadamente sensibles a la penicilina e intrínsecamente resistentes a toda la familia de las cefalosporinas, trimetoprim sulfametoxazol y a

concentraciones terapéuticas de clindamicina y aminoglucósidos. También han adquirido resistencia a múltiples antibióticos en el transcurso de los años, ya sea por la adquisición de genes de resistencia en plásmidos o transposones, o por mutaciones espontáneas que aumentan el nivel de resistencia a determinados antibióticos (37).

Los betalactámicos, aminoglucósidos y glucopéptidos tienen mayor importancia clínica porque constituyen las opciones de tratamiento para las infecciones enterocócicas graves. La mayoría de las infecciones por *Enterococcus* son causadas por *E. faecalis* en un 80%, sin embargo, *E. faecium* es el organismo multirresistente más común con la tasa más alta de resistencia adquirida a los antimicrobianos (38).

3.2.27 Resistencia a β -lactámicos

Los enterococos tienen una protección característica y natural frente a los β -lactámicos debido a la escasa afinidad de su proteína fijadora de penicilina (PBP) por estos antimicrobianos. Esta resistencia intrínseca varía entre los betalactámicos, ya que las penicilinas son generalmente las más activas contra los enterococos, ligeramente menos activas contra los carbapenémicos y menos activas contra las cefalosporinas (38).

Sin embargo, entre las penicilinas, la más activa *in vitro* es la ampicilina, todos los enterococos sensibles a ella también lo son a otras penicilinas y carbapenémicos. La concentración inhibitoria mínima (CIM) de ampicilina contra enterococos es de 1-16 mg/l, y la CIM (concentración inhibitoria mínima) de ampicilina para aislados clínicos de *E. faecalis* es generalmente más baja que la de *E. faecium*. La resistencia intrínseca a todas las cefalosporinas impide su uso en el tratamiento de pacientes con infecciones por enterococos. De hecho, el uso de cefalosporinas puede provocar infecciones secundarias por este agente patógeno. Sin embargo, la ampicilina es sinérgica con varias cefalosporinas (ejemplo: ceftriaxona) *in vivo* e *in vitro* de *E. faecalis* (39).

3.2.28 Resistencia a aminoglucósidos

Los enterococos poseen intrínsecamente una resistencia de bajo nivel a los aminoglucósidos por un transporte deficiente del aminoglucósido al interior de la bacteria, que se caracteriza por presentar valores de CMI (la concentración mínima inhibitoria) que oscilan entre 4 y 64 mg/l de gentamicina y entre 16 y 256 mg/l de estreptomicina, lo que hace que los aminoglucósidos no sean eficaces en monoterapia frente a los enterococos (39).

A pesar de ello, cuando un aminoglucósido se combina con otro antibiótico que actúa sobre la pared celular, como un β -lactámico o un glucopéptido, la captación del aminoglucósido aumenta considerablemente, lo que da como resultado infecciones terapéuticas graves (bacteriemia, endocarditis y meningitis) (40).

3.2.29 Resistencia a fluoroquinolonas

La ciprofloxacina es moderadamente activa contra los enterococos, y la RAN (recuentos absolutos de neutrófilos) contra las fluoroquinolonas son comunes en aislados clínicos de enterococos. Las fluoroquinolonas más nuevas, moxifloxacino y gatifloxacino, son un poco más activas contra los enterococos, pero las cepas resistentes a la ciprofloxacina a menudo también son resistentes al moxifloxacino y a gatifloxacino (41).

3.2.30 Resistencia a oxazolidinonas

Esta resistencia es rara, se ha descrito en *E. faecalis* y *E. faecium*, debido a la mutación G2576T en la subunidad de ARN ribosomal 23S. Los enterococos poseen múltiples copias del gen que codifica el ARN ribosomal 23S, y varios números de alelos mutantes en este gen confiere niveles más altos de resistencia (solo un alelo mutante, la CMI para linezolid es de 4-8 mg/l, y con 5 alelos mutantes, la CMI se elevó a 64 mg/l).

La mayor parte de casos notificados procedían de pacientes tratados crónicamente con linezolid seleccionados en presencia de antibióticos, aunque también se ha descrito transmisión clonal. Asimismo, algunas cepas de enterococos poseen

mecanismos de resistencia transferible a linezolid mediado por el gen *crf.*, que codifica una metilasa ribosomal (41).

3.2.31 Glutamato racemasa

La glutamato racemasa es una enzima considerada del uso de las bacterias para la construcción de componentes básicos debido a que es un bloque de construcción biosintético esencial en donde los peptidoglicanos encapsulan la pared celular bacteriana. La enzima glutamato racemasa (Murl) cataliza la interconversión reversible de L-glutamato en D-glutamato y, así, juega un papel importante en la síntesis de la pared celular y en el crecimiento bacteriano. Debido a que el peptidoglicano sólo está presente en las bacterias, tanto él como las enzimas implicadas en su biosíntesis son dianas para diseñar o identificar fármacos antibacterianos (42).

3.2.32 Conformación del glutamato racemasa

La glutamato racemasa es un ejemplo de un enzima que opera en un estereocentro "activado" es decir, que lleva un protón relativamente ácido y emplea un mecanismo de desprotonación/reprotonación no estereoespecífico. Los primeros estudios sobre la reacción del glutamato racemasa apoyaron un mecanismo de desprotonación/reprotonación (43).

La racemización completa del glutamato en un tampón deuterado condujo a la incorporación del deuterio. Posteriormente, se descubrió que las enzimas glutamato racemasa, aspartato racemasa y diaminopimélico epimerasa utilizan un mecanismo similar en el ámbito microbiológico, debido a que catalizan la formación reversible de D-glutamato a partir de L-glutamato y, por lo tanto, estas enzimas son un objetivo terapéutico potencial (44).

3.2.33 Mevalonato difosfato descarboxilasa

La mevalonato difosfato descarboxilasa (MVD) es una enzima de características únicas que cataliza la síntesis de isopentenil difosfato, con el consumo de ATP. Esta enzima pertenece a la familia de las liasas específicamente las carboxiliasas, que

cortan los enlaces carbono-carbono. El nombre sistemático de esta clase de enzimas es ATP: (R) -5-difosfomevalonato carboxilasa (añadiendo ATP formadora de isopentenil-difosfato) (45).

La mevalonato difosfato descarboxilasa tiene diferentes propósitos uno de ellos es en las bacterias Gram positivas, el difosfato de isopentenilo, el producto final de la descarboxilasa de difosfato de mevalonato, es un intermedio esencial en la biosíntesis de peptidoglicano y poliisoprenoide. Por lo tanto, la vía del mevalonato y al difosfato descarboxilasa de mevalonato podría ser un fármaco antimicrobiano potencial (46).

3.2.34 Conformación de la mevalonato difosfato descarboxilasa

La MDV reconoce y se une a dos diferentes tipos de sustratos: ATP y mevalonato 5-difosfato. Una vez unida esta enzima llega a formar tres tipos de reacciones, dividiéndose en dos pasos esenciales. En primer lugar, se produce la fosforilación. Esta fosforilación produce un intermedio reactivo que se somete a una desfosforilación y descarboxilación coordinadas en la segunda etapa (46).

Tanto la mevalonato quinasa como la mevalonato difosfato descarboxilasa probablemente evolucionaron de la misma manera a partir de un compuesto común porque tienen pliegues similares y catalizan la fosforilación de sustratos similares (46).

3.2.35 Antraquinonas

Son el grupo más grande de quinonas naturales, algunas de las cuales poseen propiedades colorantes, efectos laxantes y antibióticos. Las propiedades colorantes o de vaciado de los derivados de la antraquinona dependen de la posición que ocupe el grupo (OH) en su estructura (47).

Se ha informado que las antraquinonas poseen una vasta gama de actividades biológicas, incluidas propiedades antifúngicas, antibacterianas, anticancerígenas y antioxidantes, analgésicas y tienen potentes propiedades antibióticas contra virus y contra bacterias(47).

Las antraquinonas se encuentran en diversos microorganismos, plantas, equinodermos e insectos. Las familias con más compuestos antracénicos son: *Rubiaceae*, *Villaceae* y *Polygonaceae* y en menor medida *Liliaceae*, *Leguminosae*, *Acoraceae*, *Ranunculaceae*, *Sundewaceae*, *Sophoraceae* y similares. Se conocen diversas antraquinonas en líquenes incluidas las antraquinonas halogenadas. Estas sustancias se encuentran en diferentes partes de las plantas, como: hojas, tallos; existen principalmente como glucósidos y de forma menos significativa en estructura libre o agliconas. Sus ingredientes más significativos y eficaces son los derivados del hidroxiantraceno (15 – 40 %) (48).

3.2.36 Derivados de antraquinonas

Las antraquinonas con propiedades colorantes presentan, de forma general, dos grupos hidroxilos como mínimo, dispuestos en la estructura de la antraquinona en las posiciones 1 y 2. Ejemplo: la especie *Rubia tinctorium* (familia *Rubiaceae*) se han aislado algunos compuestos que poseen estas propiedades. Ácido ruberítrico (heterósido, cuya genina es la alizarina) y la purpurina (genina) (49).

3.2.37 Derivados antraquinónicos con propiedades laxantes

Para que se manifieste propiedades laxantes es necesario que la estructura antraquinónica lleve por lo menos dos hidroxilos en las posiciones 1 y 8, los cuales son responsables del efecto que es más potente en las formas reducidas (antronas). Las formas reducidas fácilmente pasan a las oxidadas, antraquinonas, por la sensibilidad de las posiciones 9 y 10 del antraceno. Este es el motivo por el que, ocasionalmente, las geninas que puedan detectarse sean las formas antraquinónicas (oxidadas) y no las antronas (reducidas) (49).

Otras posiciones en las que pueden entrar sustituyentes se corresponden con la 3 y 6. En 3 siempre un carbono con una escala de oxidación variable (metilo, metanol o un carboxilo), en 6 un grupo hidroxilo libre o eterificado. La modificación estructural señala la limitación en el número de geninas (49).

3.2.38 Antraquinonas con efecto antibacteriano frente a *E. faecalis*

El perfil fitoquímico y la actividad antibacteriana del extracto de corteza de *Mangifera indica* frente a *E. faecalis* deriva de la actividad de sus constituyentes, principalmente fenólicos. Estos compuestos, dependiendo de su estructura química y su concentración inhiben la síntesis de proteínas celulares, interfieren con la absorción de oxígeno y forman complejos irreversibles con PRP (proteína rica en prolina) que inhiben la síntesis de proteínas celulares para lograr efectos.

La resistencia microbiana a los fármacos endodónticos justifica la búsqueda de principios activos con actividad antimicrobiana en productos es por ello que los extractos etanólicos y acuosos de corteza de mango tienen actividad antibacteriana contra *E. faecalis*. Las pruebas fitoquímicas mostraron la presencia de taninos, fenoles y alcaloides que justifican su uso como agente antibacteriano por sus propiedades (50).

Los ingredientes activos del extracto de la planta *Mangifera indica* tienen propiedades antibacterianas. El extracto utilizado como portador de pasta pulpar muestra actividad contra *E. faecalis* y es una alternativa terapéutica a los tratamientos antimicrobianos utilizados en endodoncia (50).

E. faecalis es altamente resistente a los medicamentos, uno de los ingredientes naturales que se pueden utilizar es la resina del tallo del plátano ambón. El banano es una planta tropical comúnmente utilizada como medicina. (51).

3.2.39 Ensayos *in silico* en la búsqueda de nuevos fármacos

3.2.40 Ensayo *in silico* de nuevos fármacos

A lo largo del tiempo el ser humano ha diseñado distintos métodos para la creación de nuevos medicamentos alejándose de los procedimientos más tradicionales, reduciendo su complejidad, sus costos elevados y sobre todo el tiempo de investigación. Los procedimientos computacionales tienen muchos beneficios para el estudio y descubrimiento de nuevos fármacos. Estos métodos se han aplicado en diferentes casos teniendo un notable éxito. Uno de estos fue el

desarrollo de zanamivir para la prevención de la influenza, consiste en que la estructura de la proteína al ser obtenida por cristalografía de rayos X, permitió comprender la extensa topología del sitio activo para su posterior desarrollo de un fármaco adecuado para inhibir esta enzima(52).

Los análisis *in silico* presentan muchas ventajas para el investigador, una de ellas es la predicción más cercana a la realidad, como las interacciones moleculares con enzimas y los descriptores de toxicidad. Pero para tener una mayor efectividad se recomiendan estudios de correlación entre los estudios *in silico* y los estudios *in vitro* e *in vivo*. El acoplamiento molecular o *docking* molecular es un enfoque bioinformático que permite diagnosticar la energía, la afinidad y el tipo de interacciones y posiciones favorables entre ligandos y representaciones tridimensionales de proteínas. Ahora bien, cuando el ligando y el objetivo presentan situaciones ventajosas como especificidad, estabilidad mayor será su actividad biológica predicha, lo que sugiere una posible asociación válida (52).

Finalmente, el método de conjugación molecular que se utilizará en este estudio se ha convertido en una herramienta fundamental para la búsqueda basada en estructuras y la selección virtual de ligandos biológicamente activos y posibles dianas terapéuticas. El acoplamiento molecular generalmente usa dos algoritmos separados, el primero nos ayuda con el muestreo inicial, prediciendo todas las configuraciones estructurales o conformaciones de ligandos posibles dentro del dominio o sitio activo de una proteína, y el otro algoritmo nos ayuda a puntuar, revelando los ligandos de unión de energía de proteínas y sus respectivos receptores (53).

En función del rendimiento de ambos algoritmos, todas las configuraciones de unión de los ligandos y sus receptores se clasifican según sus energías de unión. De esta forma, la función de puntuación puede filtrar compuestos de una gran base de datos en una búsqueda virtual, donde la composición del compuesto de mayor puntuación corresponde a la composición con la energía de enlace más favorable para la molécula en cuestión (53).

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

II.1. Diseño de investigación

El propósito de este estudio experimental *in silico* fue evaluar las energías de unión entre antraquinonas seleccionadas y glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *Enterococcus faecalis*. Asimismo, se investigaron las interacciones entre los mejores compuestos y las proteínas seleccionadas en el estudio.

II.2. Población y muestra

II.2.1. Universo – Población

Se emplearon en el estudio las moléculas generadas con el servidor en línea Arthor a partir del núcleo básico de las antraquinonas, siendo estas moléculas preparadas y optimizadas para el acoplamiento molecular.

II.2.2. Muestreo y muestra

Para la muestra y el muestreo se tomó en cuenta la base de datos UCSF ZINC 15 mediante Arthor en la cual se descargó 100 moléculas de antraquinonas, las cuales fueron evaluadas mediante acoplamiento molecular sobre las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*

II.2.3. Definición y clasificación de las variables

| | |
|-----------------------------------|--|
| 1.-Energía libre de unión: | Cuantitativa |
| Definición | Se define como el cambio de energía libre asociado a la interacción entre el ligando en cuestión y la enzima |
| Indicador | Escala de energía libre de unión de Autodock Vina |

| | |
|--------------------|----------|
| Escala de medición | Kcal/mol |
|--------------------|----------|

Tabla 1: Energía libre de unión

Fuente: Autores.

| | |
|--------------------------------------|---|
| 2.-Interacción ligando-enzima | Cuantitativa |
| Definición | Representación en dos dimensiones de los enlaces polares y no-polares, entre la diana y el ligando. |
| Indicador | Representación gráfica de los enlaces. |
| Escala de medición | Ninguna |

Tabla 2: Interacción ligando-enzima

Fuente: Autores.

II.3. Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos

En el servidor Arthor, se hizo la búsqueda de antraquinonas, en donde se tomó en cuenta que las moléculas posean la estructura de una antraquinona, obteniendo de este modo 100 moléculas. A continuación, se utilizó el programa Avogadro el cual optimizó las estructuras de las diferentes moléculas estabilizando su protonación a pH 7,4 y disminuyendo al usar el campo de fuerza MMFF94. En el caso del formato MOL2 se usó para guardar las moléculas que fueron analizadas para el acoplamiento molecular.

Las estructuras de las enzimas glutamato racemasa (2VVT) y mevalonato difosfato descarboxilasa (5V2L) se descargaron de la base de datos Protein Data Bank (PDB), estas a su vez fueron preparadas para los análisis posteriores a realizar, usamos el módulo Dockprep del programa USCF Chimera y guardadas con el formato PDB.

El análisis del acoplamiento molecular se empleó el programa Autodock Vina de EZCADD, para la enzima glutamato racemasa se utilizaron las coordenadas X: 2.88; Y: 39.72; Z: 70.36 con un tamaño de box de 28 x 28 x 28 Å y para la enzima mevalonato difosfato descarboxilasa se usaron las coordenadas X: -18.62; Y: 16.74; Z: -18.47 y su respectivo tamaño de box fue 28 x 28 x 28 Å (49).

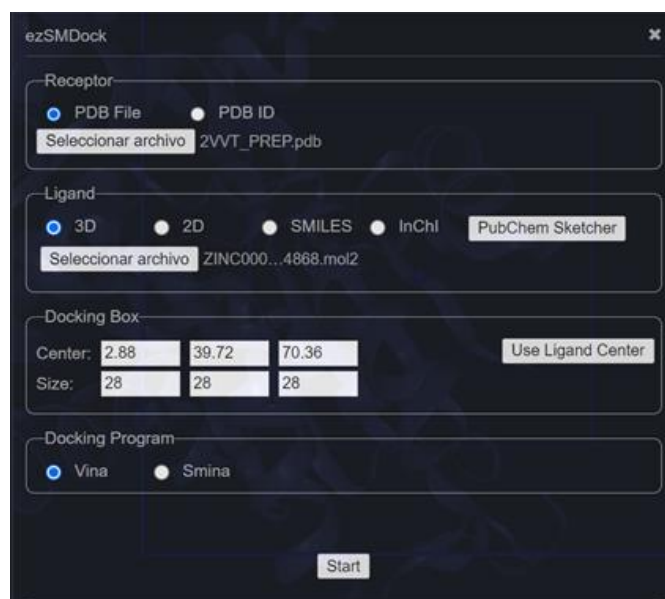


Figura 1: Coordenadas del Box en el programa EzcaDD, Glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

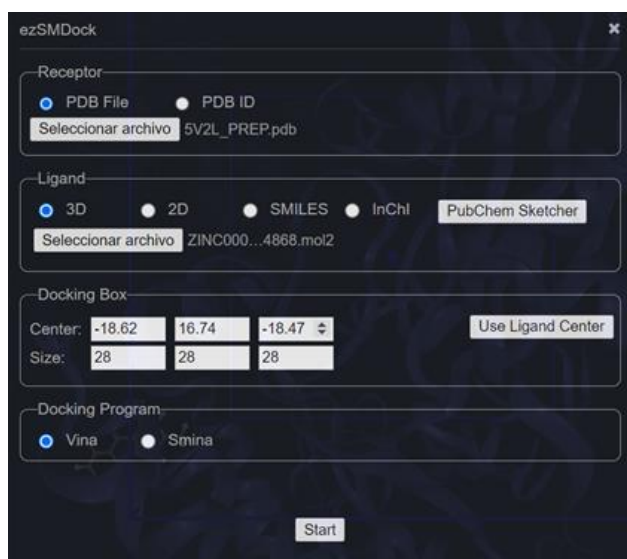


Figura 2: Coordenadas del Box en el programa EzcaDD, Mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

Entre las 100 moléculas seleccionadas, los criterios de clasificación de cada una de estas se basaron en el puntaje de las afinidades de cada ligando con el respectivo blanco. Una vez seleccionadas los ligandos con los mayores puntajes fueron seleccionadas las poses con mayor energía de unión (valor de energía más negativo). Estos resultados fueron guardados en formato pdb los cuales fueron utilizados en el análisis.

Sin embargo, para la visualización gráfica se utilizó el programa “Proteins plus structure-based”, en dicho programa se pudo observar el diagrama 2D que posee cada uno de los ligandos y cada una de las interacciones que cada molécula desarrolló.

II.4. Procedimientos estadísticos y análisis de datos

Los resultados fueron transcritos en plantillas de Excel y descargados por el programa Autodock Vina, a continuación, todas estas energías de unión se organizaron de forma jerárquica en tablas detalladas. El programa pose View permitió los análisis de interacciones que muestran las figuras y estructuras de antraquinonas acopladas en el sitio activo de las enzimas.

II.4.1. Aspectos Éticos

Al ser un trabajo bio-informático no permite desventajas con el sistema de Bioética.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. RESULTADOS

Para esta investigación se tomaron en cuenta 100 estructuras de antraquinonas y sus porcentajes de energías y afinidad, que fueron predichos con el programa Autodock Vina. Es conveniente aclarar que no existe información previa en la literatura sobre evaluaciones *in silico* de estas moléculas sobre estas enzimas. En la tabla 1; se puede observar los puntajes de afinidad de las 100 antraquinonas. En el estudio de las 100 moléculas evaluadas, la media de energía total es -8,0 Kcal/mol. Entre las 10 moléculas mejor acopladas con la enzima glutamato racemasa se puede observar que su rango de energía es de -8,9 a -8,4 Kcal/mol. Las cinco moléculas con afinidades más bajas presentaron energías de -7.6 a -7,4 Kcal/mol.

| B | C | D | E | F | G |
|----|-------------|---|---------------------------------------|------------|----------------|
| ↓↑ | Código Zin | Nombre común | IUPAC | Fórmula | Energía kcal/n |
| 1 | ZINC3844116 | 2,6-dimetilantraquinona | 2,6-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.3 |
| 2 | ZINC3844118 | 2,7-dimetilantraquinona | 2,7-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.0 |
| 3 | ZINC3845299 | Tectoquinona | 2-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O2 | -8.1 |
| 4 | ZINC3845301 | 1-amino-3-metilantraceno-9,10-diona | 1-amino-3-metilanttraquinona | C15H11NO2 | -8.3 |
| 5 | ZINC3847491 | Antraquinona | antraceno-9,10-diona | C14H8O2 | -8.1 |
| 6 | ZINC3847495 | Qinizarina | 1,4-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -7.8 |
| 7 | ZINC3850741 | 1-aminoantraquinona | 1-aminoantraceno-9,10-diona | C14H9NO2 | -8.0 |
| 8 | ZINC3850742 | 1,5-diaminoantraquinona | 1,5-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.0 |
| 9 | ZINC3860170 | Rojo disperso 15 | 1-amino-4-hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO3 | -8.1 |
| 10 | ZINC3860201 | 2,6-dihidroxiantraquinona | 2,6-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -7.9 |
| 11 | ZINC3860369 | Danthron | 1,8-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.1 |
| 12 | ZINC3860444 | 2-etilantraquinona | 2-etilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.0 |
| 13 | ZINC3860973 | Alizarina | 1,2-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.1 |
| 14 | ZINC3861197 | 2-cloroantraquinona | 2-cloroantraceno-9,10-diona | C14H7ClO2 | -8.0 |
| 15 | ZINC3861459 | 1-antracenediazonio, 9,10-dihidro-9,10-dioxo- | 9,10-dioxoantraceno-1-diazonio | C14H7N2O2 | -8.4 |
| 16 | ZINC3861620 | 2-hidroximetilantraquinona | 2-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -7.8 |
| 17 | ZINC3873990 | 1-amino-2-metilanttraquinona | 1-amino-2-metilantraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -8.2 |
| 18 | ZINC3873991 | Metano quinona | 1-(metilamino)antraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -8.1 |
| 19 | ZINC3874029 | 2-aminoantraquinona | 2-aminoantraceno-9,10-diona | C14H9NO2 | -8.1 |
| 20 | ZINC3874034 | 1,8-diaminoantraquinona | 1,8-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.1 |
| 21 | ZINC3874039 | 2,6-diaminoantraquinona | 2,6-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -7.6 |

| | | | | | |
|----|--------------|---|---|------------|------|
| 22 | ZINC3875551 | 1-metoxiantraquinona | 1-metoxiantraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.0 |
| 23 | ZINC3875803 | 1,5-dihidroxiantraquinona | 1,5-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -7.8 |
| 24 | ZINC3875850 | 1-hidroxiantraquinona | 1-hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O3 | -8.0 |
| 25 | ZINC3880344 | 1,3-diaminoantraquinona | 1,3-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.1 |
| 26 | ZINC3881302 | 1,2-diaminoantraquinona | 1,2-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.2 |
| 27 | ZINC3884114 | 2-(9,10-dioxoantraceno-2-il)acetnitrilo | 2-(9,10-dioxo-9,10-dihidro-2-antraceniil)-acetnitrilo | C16H9NO2 | -8.2 |
| 28 | ZINC3896044 | 9,10-antracenediona, 1-fluoro- | 1-fluoroantraceno-9,10-diona | C14H7FO2 | -8.4 |
| 29 | ZINC3896048 | 2-fluoroantraquinona | 2-fluoroantraceno-9,10-diona | C14H7FO2 | -8.2 |
| 30 | ZINC3896782 | 2-HIDROXIANTRAQUINONA | 2-hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O3 | -8.2 |
| 31 | ZINC3902902 | 1,4-diaminoantraquinona | 1,4-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.0 |
| 32 | ZINC4088117 | antraquinona-2-aldehído | 9,10-dioxoantraceno-2-carbaldehído | C15H8O3 | -8.0 |
| 33 | ZINC4284416 | 1,4-Dimetilantraquinona | 1,4-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.7 |
| 34 | ZINC4343987 | 1,4-difluoroantraquinona | 1,4-difluoroantraceno-9,10-diona | C14H6F2O2 | -8.4 |
| 35 | ZINC4360390 | 2-amino-7-metilntraceno-9,10-diona | 2-amino-7-metilntraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -8.1 |
| 36 | ZINC4522754 | 1,6-diaminoantraquinona | 1,6-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.0 |
| 37 | ZINC4783164 | 1-hidroxi-2-metilntraquinona | 1-hidroxi-2-metilntraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.0 |
| 38 | ZINC4783233 | 1-mercaptoantraquinona | 1-sulfilantraceno-9,10-diona | C14H8O2S | -8.2 |
| 39 | ZINC4824633 | 2,3-diaminoantraquinona | 2,3-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.1 |
| 40 | ZINC5002812 | 9,10-antracenediona, 1-amino-4-metil- | 1-amino-4-metilntraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -8.3 |
| 41 | ZINC5224786 | 2-Amino-3-hidroxiantraquinona | 2-amino-3-hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO3 | -8.2 |
| 42 | ZINC5277130 | Paquibasina | 1-hidroxi-3-metilntraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.1 |
| 43 | ZINC5551626 | 2,3-dimetilideneantraceno-9,10-diona | 2,3-dimetilideneantraceno-9,10-diona | C16H10O2 | -8.1 |
| 44 | ZINC5699366 | 1-metilntraquinona | 1-metilntraceno-9,10-diona | C15H10O2 | -8.5 |
| 45 | ZINC6576270 | Antraquinona-2-YL-hidrazina | 2-hidrazinilntraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.1 |
| 46 | ZINC13481200 | Xantopurpura | 1,3-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.1 |
| 47 | ZINC14488654 | 2-hidroxi-3-metilntraquinona | 2-hidroxi-3-metilntraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.1 |
| 48 | ZINC31483469 | 2,7-diaminoantraquinona | 2,7-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -7.7 |
| 49 | ZINC38255067 | 1-metil-2- hidroxi-antraquinona | 2-hidroxi-1-metilntraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.5 |
| 50 | ZINC39210010 | 9,10-Dioxo-9,10-Dihidroantraceno-1-Carbonitrilo | 9,10-dioxoantraceno-1-carbonitrilo | C15H7NO2 | -8.7 |
| 51 | ZINC5343162 | 1,2-dimetilantraquinona | 1,2-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.6 |
| 52 | ZINC3860257 | 1-Cloroantraquinona | 1-cloroantraceno-9,10-diona | C14H7ClO2 | -8.2 |
| 53 | ZINC4538454 | 2,3-dimetilantraquinona | 2,3-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.0 |
| 54 | ZINC5212246 | 1,3-dimetilantraquinona | 1,3-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.4 |
| 55 | ZINC31540076 | 2-azidoantraquinona | 2-azidoantraceno-9,10-diona | C14H7N3O2 | -8.3 |
| 56 | ZINC3861518 | Disperso azul 1 | 1,4,5,8-tetraaminoantraceno-9,10-diona | C14H12N4O2 | -7.7 |
| 57 | ZINC4712898 | 1,4-diamino-9,10-dioxoantraceno-2-carboxamida | carboxamida | C15H11N3O3 | -8.2 |
| 58 | ZINC4411268 | Alzarina cianina 2R | 1,2,4,5,8-pentahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O7 | -7.8 |
| 59 | ZINC45071490 | Ácido 3-(aminocarbonil)-9,10-dioxo-9,10-dihidro-2-antraceno-carboxílico | ácido 3-carbamoiil-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C16H9NO5 | -8.0 |
| 60 | ZINC3875554 | Ácido 1-antraquinonasulfónico | ácido 9,10-dioxoantraceno-1-sulfónico | C14H8O5S | -8.9 |
| 61 | ZINC4734942 | 1,4-diamino-5,8-dihidroxi-antraquinona | 1,4-diamino-5,8-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H10N2O4 | -7.9 |
| 62 | ZINC5224793 | Ácido [(9,10-dioxo-9,10-dihidro-1-antraceniil)amino]acético | ácido 2-[(9,10-dioxoantraceno-1-il)amino]acético | C16H11NO4 | -8.2 |
| 63 | ZINC4190787 | 1-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxilato de metilo | 1-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxilato de metilo | C16H10O5 | -7.6 |

| | | | | | |
|-----|--------------|---|--|------------|------|
| 64 | ZINC3861519 | Azul disperso Cl 3 | 1-(2-hidroxi-etilamino)-4-(metilamino)antraceno-9,10-diona | C17H16N2O3 | -7.7 |
| 65 | ZINC4409858 | Disolvente rojo 222 | 1-(2-hidroxi-etilamino)antraceno-9,10-diona | C16H13NO3 | -8.0 |
| 66 | ZINC22590433 | 8-metilamida-5-metinitrato-9-10-dioxo antraceno | 8-metilamida-5-metinitrato-9-10-dioxo antraceno | C15H8N2O5 | -8.7 |
| 67 | ZINC4044861 | 1-[[[(2R)-2,3-dihidroxi-propil]amino]antraceno-9,10-diona | 1-[[[(2R)-2,3-dihidroxi-propil]amino]antraceno-9,10-diona | C17H15NO4 | -7.5 |
| 68 | ZINC4176966 | 1-nitro-9,10-dioxo-9,10-dihidroantraceno-2-carboxamida | 1-nitro-9,10-dioxoantraceno-2-carboxamida | C15H8N2O5 | -8.3 |
| 69 | ZINC35323601 | 1-amino-2-(dimetilamino)-4-hidroxi-antraceno-9,10-diona | 1-amino-2-(dimetilamino)-4-hidroxi-antraceno-9,10-diona | C16H14N2O3 | -7.4 |
| 70 | ZINC3824868 | Emodina | 1,3,8-trihidroxi-6-metil-antraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -8.2 |
| 71 | ZINC5420592 | 8-hidroxi-4-metil-9-nitrobenzo[g]cromen-2-ona | 8-hidroxi-4-metil-9-nitrobenzo[g]cromen-2-ona | C14H9NO5 | -7.8 |
| 72 | ZINC71784833 | 1,2,5,7-tetrahidroxiantraquinona | 1,2,5,7-tetrahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O6 | -7.7 |
| 73 | ZINC4533438 | Nitroresolamina | 1,4-diamino-5-nitroantraceno-9,10-diona | C14H9N3O4 | -8.2 |
| 74 | ZINC4568282 | 5-metoxiquinizarina | 1,4-dihidroxi-5-metoxiantraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -8.1 |
| 75 | ZINC4016432 | 1-amino-2-hidroxi-metil-antraquinona | 1-amino-2-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H11NO3 | -7.7 |
| 76 | ZINC4746545 | 1,4-dihidroxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantraceno-2-il)ácido acético | ácido 2-(1,4-dihidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-il)acético | C16H10O6 | -7.9 |
| 77 | ZINC14814150 | 6-Hidroxirrubladina | 1,3,6-trihidroxi-2-metil-antraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -8.0 |
| 78 | ZINC4023780 | 1-hidroxi-2-carboxiantraquinona | ácido 1-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H8O5 | -7.9 |
| 79 | ZINC3861633 | Purpurina | 1,2,4-trihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O5 | -8.0 |
| 80 | ZINC3870461 | Antrapurpurina | 1,2,7-trihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O5 | -8.0 |
| 81 | ZINC14760875 | Fisetina | 2-(3,4-dihidroxifenil)-3,7-dihidroxicromen-4-ona | C15H10O6 | -7.7 |
| 82 | ZINC4244932 | 1-Piperazin-1-il-antraquinona | 1-piperazina-1-il-antraceno-9,10-diona | C18H16N2O2 | -8.7 |
| 83 | ZINC3873989 | 1-amino-2-carboxiantraquinona | ácido 1-amino-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H9NO4 | -7.9 |
| 84 | ZINC4007416 | Ácido 1-amino-4-hidroxi-antraquinona-2-carboxílico | ácido 1-amino-4-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H9NO5 | -8.1 |
| 85 | ZINC4044860 | 1-[[[(2S)-2,3-dihidroxi-propil]amino]antraceno-9,10-diona | 1-[[[(2S)-2,3-dihidroxi-propil]amino]antraceno-9,10-diona | C17H15NO4 | -8.0 |
| 86 | ZINC3874832 | Quinalizarina | 1,2,5,8-tetrahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O6 | -7.8 |
| 87 | ZINC3879125 | 1,8-diaminocrisazina | 1,8-diamino-4,5-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H10N2O4 | -7.8 |
| 88 | ZINC3873983 | 4-aminoxantopurpurina | 1-amino-2,4-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO4 | -7.9 |
| 89 | ZINC3875542 | 1,4,5,8-tetrahidroxiantraquinona | 1,4,5,8-tetrahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O6 | -7.7 |
| 90 | ZINC3872206 | maliditacantal | 3-hidroxi-1-metoxi-9,10-dioxoantraceno-2-carbaldehído | C16H10O5 | -7.5 |
| 91 | ZINC3875860 | Ácido 2-antraquinonasulfónico | ácido 9,10-dioxoantraceno-2-sulfónico | C14H8O5S | -7.9 |
| 92 | ZINC34214070 | 4-amino-alizarina | 4-amino-1,2-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO4 | -8.1 |
| 93 | ZINC5812872 | Citreoseína | 1,3,8-trihidroxi-6-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H10O6 | -7.8 |
| 94 | ZINC19595278 | Nitroquinizarina | 1,4-dihidroxi-2-nitroantraceno-9,10-diona | C14H7NO6 | -7.9 |
| 95 | ZINC4255762 | 1-amino-4-nitro-antraquinona | 1-amino-4-nitroantraceno-9,10-diona | C14H8N2O4 | -8.5 |
| 96 | ZINC4098684 | Lucidina | 1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -7.7 |
| 97 | ZINC4582840 | Ácido antraquinona-2,3-dicarboxílico | ácido 9,10-dioxoantraceno-2,3-dicarboxílico | C16H8O6 | -7.8 |
| 98 | ZINC4098704 | Ácido reico | ácido 4,5-dihidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H8O6 | -8.2 |
| 99 | ZINC17749195 | Aminonitroantraquinona | 2-amino-1-nitroantraceno-9,10-diona | C14H8N2O4 | -8.2 |
| 100 | ZINC3880376 | Rojo disperso 4 | 1-amino-4-hidroxi-2-metoxiantraceno-9,10-diona | C15H11NO4 | -7.8 |

Tabla 1: Antraquinonas seleccionadas para el estudio y su energía de unión con la enzima Glutamato racemasa calculada por Autodock Vina.

Fuente: Autores

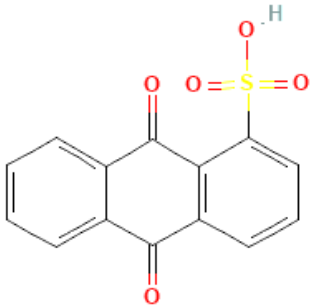
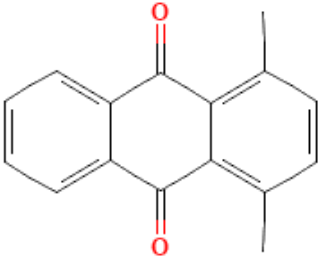
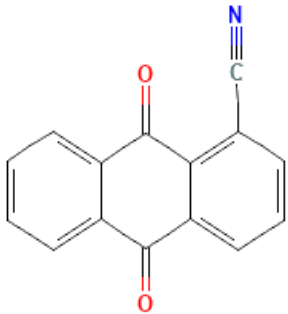
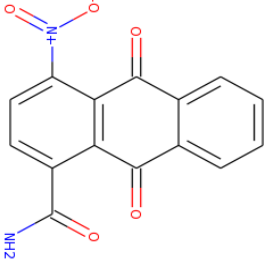
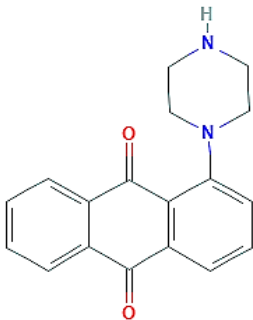
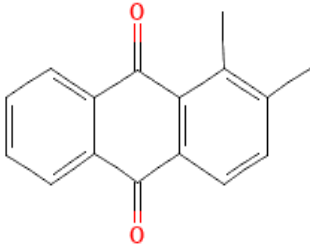
III 1.1 Análisis de las estructuras de las antraquinonas con mejor energía de unión con la enzima glutamato racemasa

Entre las 10 moléculas seleccionadas por tener el mejor acoplamiento molecular con la enzima glutamato racemasa, presentan las siguientes características: iniciando con la primera estructura llamada ácido 1-antraquinona sulfónico, se puede observar en la posición uno un grupo funcional sulfónico. La segunda estructura llamada 1,4 metil antraquinona, presenta dos grupos funcionales metil en la posición 1 y 4, la estructura número 3 llamada 9,10-dihidroantraceno-1-carbonitrilo se puede observar que el grupo funcional carbonitrilo se localiza en la posición 1 de dicha estructura. En el caso de la cuarta estructura llamada 8-metilamida-5 nitro- 9,10-dioxo antraceno, la estructura ya presenta nuevos grupos funcionales: en la posición 8 el grupo amida, y en la posición 5 el grupo nitro.

Sin embargo, en la quinta estructura llamada 1-piperazin-1-il-antraquinona, se puede observar un grupo funcional en la posición uno conformado por un anillo piperazina. A continuación, la sexta estructura llamada 1,2 dimetil-antraquinona al igual que las estructuras revisadas presenta grupos funcionales metil en las posiciones uno y dos, de igual manera la séptima estructura llamada 1-metil-antraquinona se puede observar la presencia del grupo funcional metil en la posición 1. En el caso de la estructura ocho, llamada 1-metil-2- hidroxil-antraquinona presenta grupos funcionales metil en la posición uno e hidroxilo en la posición dos, la novena estructura llamada 1-amino-4-nitro-antraquinona como se refleja en su nombre en la estructura en la posición 1 se localiza el grupo funcional amino y en la posición 4 se encuentra la presencia de un grupo funcional nitro, para finalizar con la descripción de cada estructura la última estructura llamada 1-antracenediazonio, -9,10-dioxo- presenta un grupo funcional conformado por grupo diazo en la posición 1.

Cabe recalcar que la semejanza de estas estructuras son los grupos funcionales y las posiciones en donde se localizan, es decir la posición uno es el sitio en donde varios de estos grupos funcionales se unen en las moléculas con mayor afinidad por la enzima. Además, la mayoría de estructuras presentan grupos funcionales metil,

es el caso de las estructuras dos, cuatro, seis, siete y ocho, sin embargo, existen otros grupos funcionales que llaman la atención, tal es el caso del grupo funcional sulfónico, carbonitrilo, nitrato y diazo.

| | |
|---|---|
| <p>1. Ácido 1-antraquinonasulfónico</p>  | <p>2. 1,4-Dimetilantraquinona</p>  |
| <p>3. 9,10-Dihidroantraceno-1-Carbonitrilo</p>  | <p>4. 8-metilamida-5 nitro- 9,10-dioxo antraceno</p>  |
| <p>5. 1-Piperazin-1-il-antraquinona</p>  | <p>6. 1,2-dimetilantraquinona</p>  |

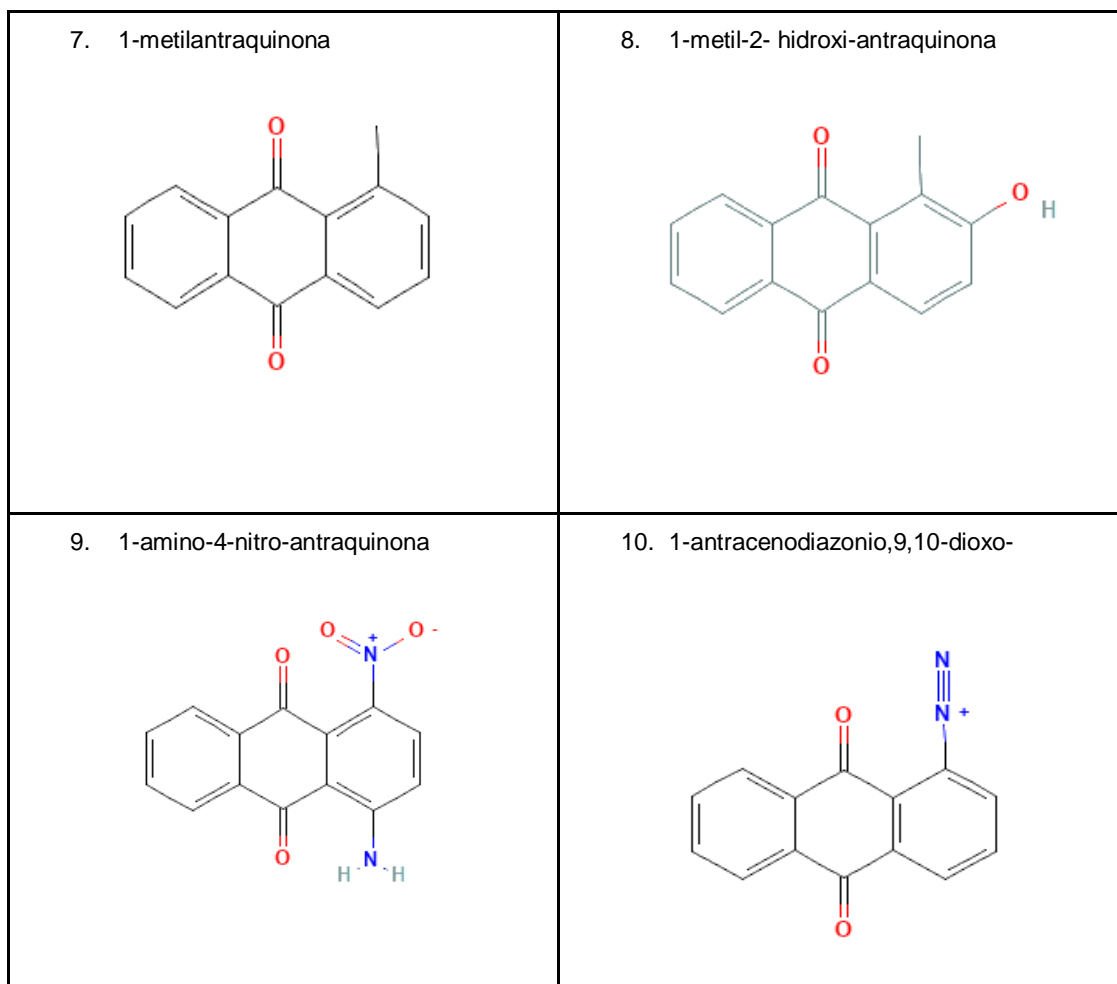


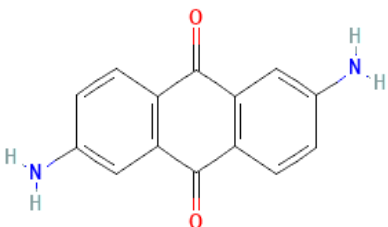
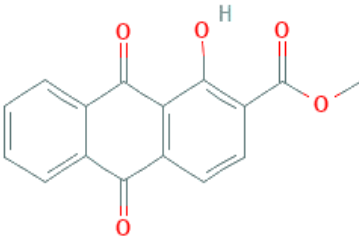
Figura 3: Estructuras químicas de las 10 moléculas con mayor energía de unión con la enzima glutamato racemasa.

Fuente: Autores

Por otra parte las 5 moléculas que presentan menor afinidad a la enzima glutamato racemasa presentan las siguientes características: la primera molécula llamada 2,6-diaminoantraquinona en su estructura se encuentra dos grupos funcionales amino en la posición dos y seis, mientras que la segunda molécula llamada 1-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxilato de metilo se puede observar que su estructura cuenta con dos grupos funcionales, el primero localizado en la posición uno es un hidroxilo, mientras que el segundo grupo funcional que se encuentra en la posición es un carboxilato.

A continuación, la molécula llamada 1-[[2R)-2,3-dihidroxipropil]amino]antraceno-9,10-diona en cuya estructura se puede observar en las posiciones la presencia de un grupo funcional hidroxil-propil amino, esta es la única entre esta serie de moléculas que tiene este tipo de grupos funcionales. En el caso de la cuarta molécula llamada 3-hidroxi-1-metil-9,10-dioxoantraceno-2-carbaldehído esta estructura presenta en la posición uno grupo funcional metil, en la posición dos un grupo carbaldehído y finalizando en la posición 3 se encuentra el grupo funcional hidroxilo.

Finalmente, la última molécula llamada .1-amino-2-(dimetilamino)-4-hidroxiantraceno-9,10-diona es la estructura que tiene grupos funcionales diferentes, puesto que, como se puede observar en la posición uno se encuentra un grupo funcional amino, en la posición dos se encuentra el grupo funcional dimetilamino y por último en la posición cuatro, se encuentra el grupo funcional hidroxilo.

| | |
|--|---|
| <p>96. 2,6-diaminoantraquinona</p>  | <p>97. 1-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxilato de metilo</p>  |
| <p>98. 1-[[2R)-2,3-dihidroxipropil]amino]antraceno-9,10-diona</p> | <p>99. 3-hidroxi-1-metil-9,10-dioxoantraceno-2-carbaldehído</p> |

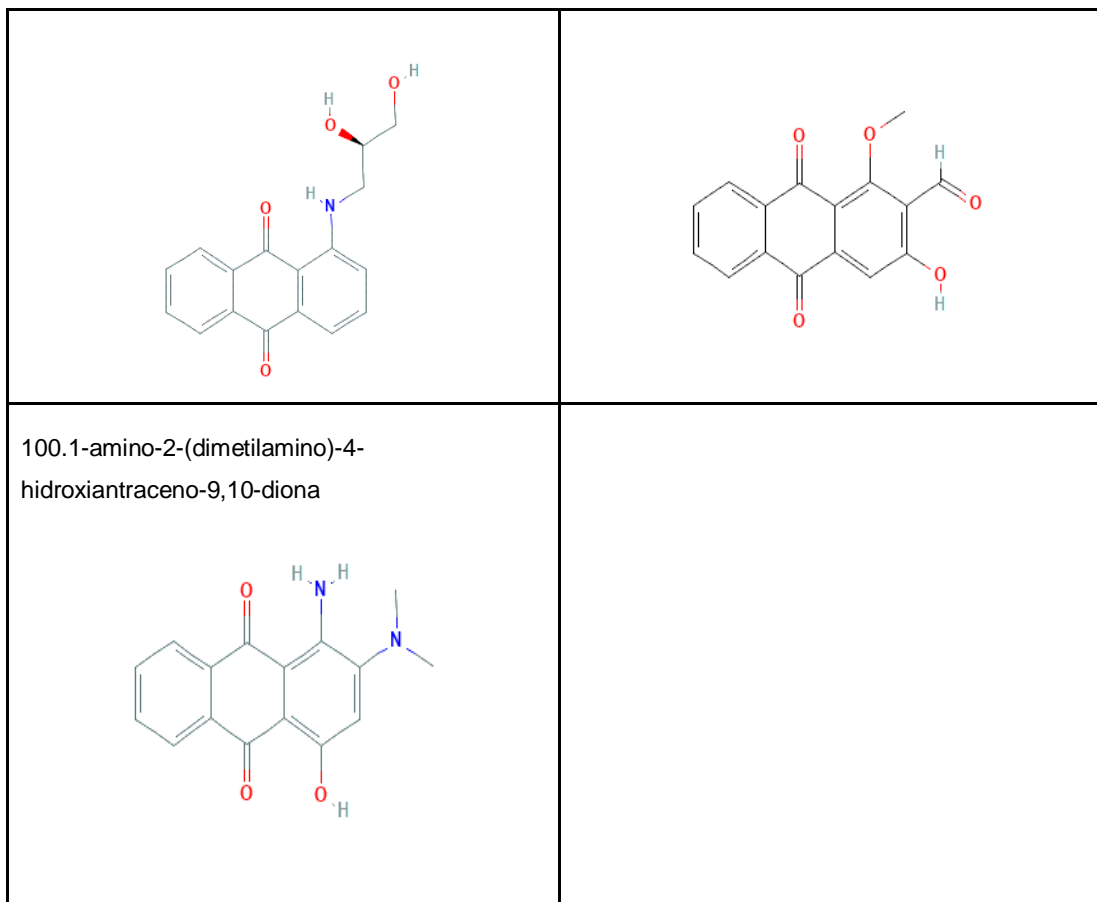


Figura 4: Estructuras químicas de las 5 moléculas con menor energía de unión con la enzima glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

III 2.1. Análisis de interacciones entre antraquinonas y la enzima glutamato racemasa.

Se estudió y realizó el análisis de interacción de las 10 mejores moléculas con la enzima glutamato racemasa en donde se logró observar las interacciones entre ligandos y aminoácidos del centro activo de la enzima y de los diferentes tipos de interacciones que establecen. La primera molécula llamada ácido 1-antraquinonasulfónico, en el carbono 1 formó 2 puentes de hidrógeno con los aminoácidos ASN155 y TYR157. Además, también se observó una interacción no polar con TRP254.

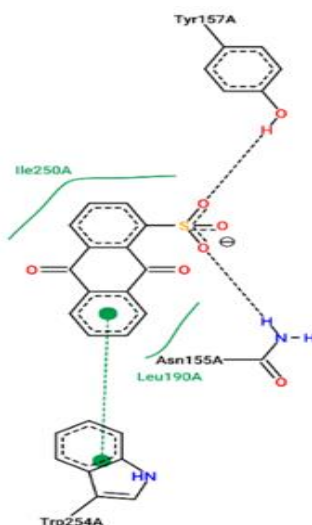


Figura 5: 1-antraquinonasulfónico, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La segunda molécula llamada 1,4-dimetilantraquinona, presenta enlaces no polares entre el aminoácido LEU190 y TRP254.

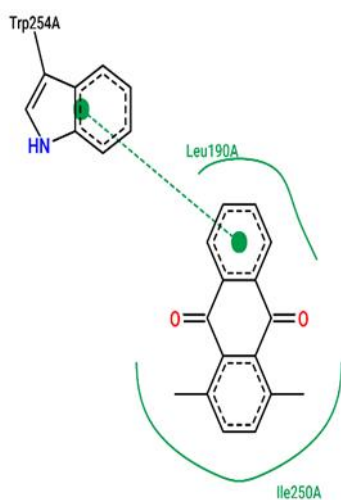


Figura 6: 1,4-dimetilantraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La tercera molécula llamada 9,10-Dioxo-9,10-Dihidroantraceno-1-Carbonitrilo, tiene enlaces no polares con TRP254.

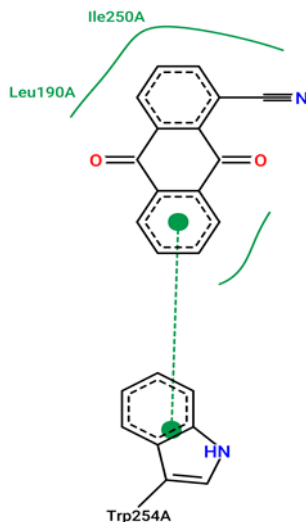


Figura 7: 9,10-Dioxo-9,10-Dihidroantraceno-1-Carbonitrilo, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La cuarta molécula 3-(diazometil)-1,6,8-trihidroxiantraceno-9,10-diona, presenta un puente de hidrógeno con el aminoácido TYR 157.

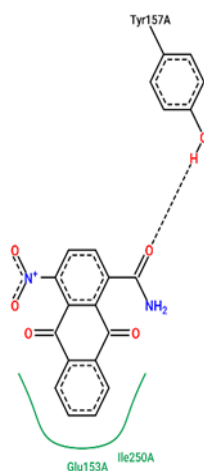


Figura 8: 3-(diazometil)-1,6,8-trihidroxiantraceno-9,10-diona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La quinta molécula llamada 1-Piperazin-1-il-antraquinona, no presenta puentes de hidrógeno, pero se puede observar interacciones no polares que son favorables para el acoplamiento molecular.

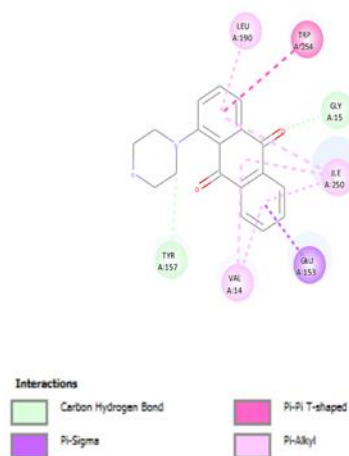


Figura 9: 1-Piperazin-1-il-antraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La sexta molécula llamada 1,2-dimetilantraquinona, se puede observar una interacción no polar con el aminoácido TRP 254.

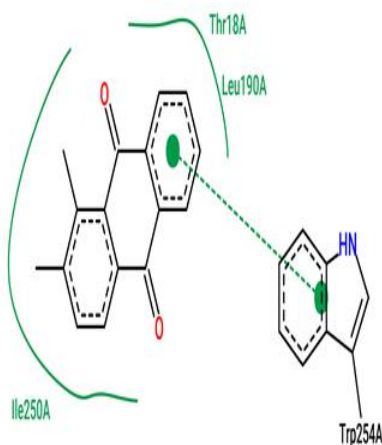


Figura 10: 1,2-dimetilantraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

En la séptima molécula llamada 1-metilantraquinona, se puede observar la formación de interacciones no polares con el aminoácido TRP 254 y puente de hidrógeno con GLU 153.

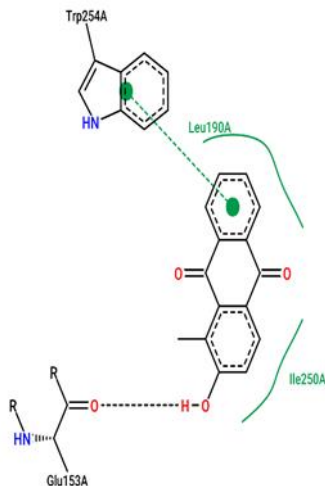


Figura 11 : 1-metilantraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La octava molécula llamada 1-metil-2- hidroxiantraquinona, en su estructura se puede observar enlaces no polares, es por ello que se forman dos puentes de hidrógeno el primer puente de hidrógeno se encuentra conformado por el aminoácido ILE 250, no obstante, el segundo puente de hidrógeno se presenta con el aminoácido LEU 190.

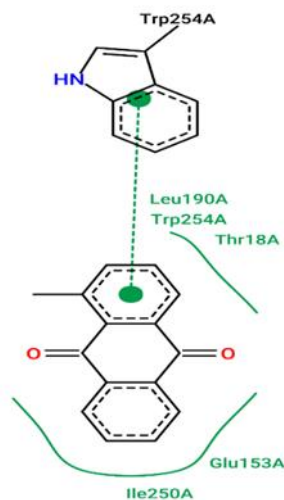


Figura 12 :1-metil-2- hidroxí-antraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La novena molécula llamada 1-amino-4-nitro-antraquinona, presenta puente de hidrógeno con ASN 155 e interacción no polar con TRP254.

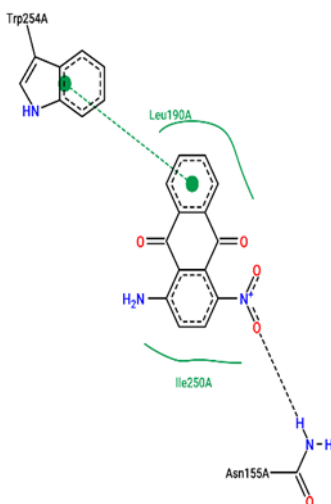


Figura 13: 1-amino-4-nitro-antraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

La última molécula llamada 1-antraceno diazonio, 9,10-dihidro-9,10-dioxo, se presenta una interacción no polar con TRP254.

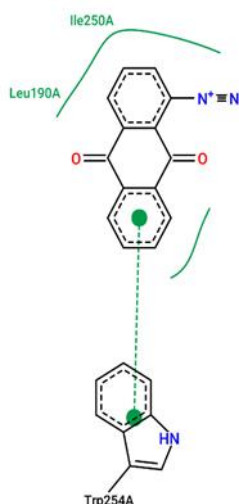


Figura 14 :1-antraceno diazonio, 9,10-dihidro-9,10-dioxo, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con glutamato racemasa.

Fuente: Autores.

Una característica recurrente en los modos de interacción de las antraquinonas mejor clasificadas con utilizando el programa Autodock Vina en lo sitio activo del glutamato racemasa es la interacción no polar con THR 254 e interacciones por puentes de hidrógeno principalmente con ASN155.

III 3.1. Análisis de las estructuras de las antraquinonas con mejor energía de unión con la enzima mevalonato difosfato descarboxilasa

| | Código Zinc | Nombre común | IUPAC | Fórmula | Energía kcal/mol |
|----|--------------|---|---|------------|------------------|
| 1 | ZINC3824868 | Emodina | ,3,8-trihidroxi-6-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -8.7 |
| 2 | ZINC5277130 | 1-metoxiantraquinona | 1-metoxiantraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.5 |
| 3 | ZINC22590433 | 3-(diazometil)-1,6,8-trihidroxiantraceno-9,10-diona | 3-(diazometil)-1,6,8-trihidroxiantraceno-9,10-diona | C15H8N2O5 | -8.5 |
| 4 | ZINC14760875 | Omega-hidroxiemodina | 1,3,8-trihidroxi-6-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H10O6 | -8.5 |
| 5 | ZINC4098704 | ácido reico | ácido 4,5-dihidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H8O6 | -8.5 |
| 6 | ZINC3860973 | Alizarina | 1,2-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.4 |
| 7 | ZINC13481200 | xantopurpurina | 1,3-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.4 |
| 8 | ZINC45071490 | antracencarboxílico | ácido 3-carbamoil-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C16H9NO5 | -8.4 |
| 9 | ZINC4409858 | Disolvente rojo 222 | 1-(2-hidroxi-etilamino)antraceno-9,10-diona | C16H13NO3 | -8.4 |
| 10 | ZINC71784833 | 1,2,5,7-tetrahidroxiantraquinona | 1,2,5,7-tetrahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O6 | -8.4 |
| 11 | ZINC3874832 | quinalizarina | 1,2,5,8-tetrahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O6 | -8.4 |
| 12 | ZINC3873983 | 4-aminoxantopurpurina | 1-amino-2,4-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO4 | -8.4 |
| 13 | ZINC34214070 | 4-amino-alizarina | 4-amino-1,2-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO4 | -8.4 |
| 14 | ZINC3845301 | 1-amino-3-metilantraceno-9,10-diona | 1-amino-3-metilanttraquinona | C15H11NO2 | -8.3 |
| 15 | ZINC3881302 | 1,2-diaminoantraquinona | 1,2-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.3 |
| 16 | ZINC4360390 | 2-amino-7-metilantraceno-9,10-diona | 2-amino-7-metilantraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -8.3 |
| 17 | ZINC38255067 | Oxi-metil-antraquinona | 2-hidroxi-1-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.3 |
| 18 | ZINC39210010 | 9,10-Dioxo-9,10-Dihidroantraceno-1-Carbonitrilo | 9,10-dioxoantraceno-1-carbonitrilo | C15H7NO2 | -8.3 |
| 19 | ZINC4533438 | Nitrocresolamina | 1,4-diamino-5-nitroantraceno-9,10-diona | C14H9N3O4 | -8.3 |
| 20 | ZINC3861633 | Purpurina | 1,2,4-trihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O5 | -8.3 |
| 21 | ZINC3870461 | Antrapurpurina | 1,2,7-trihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O5 | -8.3 |
| 22 | ZINC4007416 | Ácido 1-amino-4-hidroxiantraquinona-2-carboxílico | ácido 1-amino-4-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H9NO5 | -8.3 |
| 23 | ZINC3875860 | Ácido 2-antraquinonasulfónico | ácido 9,10-dioxoantraceno-2-sulfónico | C14H8O5S | -8.3 |
| 24 | ZINC4582840 | Ácido antraquinona-2,3-dicarboxílico | ácido 9,10-dioxoantraceno-2,3-dicarboxílico | C16H8O6 | -8.3 |
| 25 | ZINC3844116 | 2,6-dimetilantraquinona | 2,6-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.2 |
| 26 | ZINC3844118 | 2,7-dimetilantraquinona | 2,7-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.2 |
| 27 | ZINC3860444 | 2-etilantraquinona | 2-etilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.2 |
| 28 | ZINC4343987 | 1,4-difluoroantraquinona | 1,4-difluoroantraceno-9,10-diona | C14H6F2O2 | -8.2 |
| 29 | ZINC4522754 | 1,6-diamino-antraquinona | 1,6-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.2 |
| 30 | ZINC5343162 | 1,2-dimetilantraquinona | 1,2-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.2 |
| 31 | ZINC4411268 | 1,2,4,5,8-pentahidroxiantraceno-9,10-diona | 1,2,4,5,8-pentahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O7 | -8.2 |
| 32 | ZINC4023780 | 1-hidroxi-2-carboxiantraquinona | ácido 1-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H8O5 | -8.2 |
| 33 | ZINC3873989 | ácido 1-amino-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | ácido 1-amino-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico | C15H9NO4 | -8.2 |
| 34 | ZINC3896782 | beta-Hidroxiantraquinona | hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O3 | -8.1 |
| 35 | ZINC4088117 | 2-formilantraquinona | 9,10-dioxoantraceno-2-carbaldehído | C15H8O3 | -8.1 |
| 36 | ZINC5212246 | 1,3-dimetil-9,10-antraquinona | 1,3-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.1 |
| 37 | ZINC31540076 | 2-acidoantraquinona | 2-acidoantraceno-9,10-diona | C14H7N3O2 | -8.1 |
| 38 | ZINC4568282 | 5-metoxiquinizarina | 1,4-dihidroxi-5-metoxiantraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -8.1 |
| 39 | ZINC4746545 | ácido acético | ácido 2-(1,4-dihidroxi-9,10-dioxoantracen-2-il)acético | C16H10O6 | -8.1 |
| 40 | ZINC14814150 | 6-Hidroxirrubiadina | 1,3,6-trihidroxi-2-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -8.1 |
| 41 | ZINC4244932 | 1-Piperazin-1-il-antraquinona | 1-piperazin-1-ylanthracene-9,10-diona | C18H16N2O2 | -8.1 |

| | | | | | |
|----|--------------|--|---|------------|------|
| 42 | ZINC3879125 | 4,5-diaminocrisacina | 1,8-diamino-4,5-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H10N2O4 | -8.1 |
| 43 | ZINC5812872 | Omega-hidroxiemodina | 1,3,8-trihidroxi-6-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H10O6 | -8.1 |
| 44 | ZINC19595278 | nitroquinizarina | 1,4-dihidroxi-2-nitroantraceno-9,10-diona | C14H7NO6 | -8.1 |
| 45 | ZINC3845299 | Tectoquinona | 2-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O2 | -8.0 |
| 46 | ZINC3850742 | Humo Rojo F | 1,5-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.0 |
| 47 | ZINC3860201 | Ácido antraflávido | 2,6-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.0 |
| 48 | ZINC3860369 | Crisazina | 1,8-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.0 |
| 49 | ZINC3861620 | Antraquinona-2-metanol | 2-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.0 |
| 50 | ZINC3874034 | 1,8-antraquinonildiamina | 1,8-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.0 |
| 51 | ZINC3875803 | Antrafufina | 1,5-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -8.0 |
| 52 | ZINC3875850 | 1-hidroxiantraquinona | 1-hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O3 | -8.0 |
| 53 | ZINC3884114 | 2-(9,10-dioxoantraceno-2-il)acetónitrilo | 2-(9,10-dioxoantraceno-2-il)acetónitrilo | C16H9NO2 | -8.0 |
| 54 | ZINC3896044 | 1-fluoroantraquinona | 1-fluoroantraceno-9,10-diona | C14H7FO2 | -8.0 |
| 55 | ZINC4284416 | 1,4-dimetil-antraquinona | 1,4-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.0 |
| 56 | ZINC4783164 | Antraquinona, 1-hidroxi-2-metil- | 1-hidroxi-2-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -8.0 |
| 57 | ZINC5224786 | 2-amino-3-oxiantraquinona | 2-amino-3-hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO3 | -8.0 |
| 58 | ZINC5551626 | 2,3-dimetilideneantraceno-9,10-diona | 2,3-dimetilideneantraceno-9,10-diona | C16H10O2 | -8.0 |
| 59 | ZINC5699366 | .alfa.-Metilantraquinona | 1-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O2 | -8.0 |
| 60 | ZINC6576270 | ANTRAQUINONA-2-YL-HIDRAZINA | 2-diazeylanthracene-9,10-diol | C14H10N2O2 | -8.0 |
| 61 | ZINC31483469 | ANTRAQUINONA, 2,7-DIAMINO | 2,7-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -8.0 |
| 62 | ZINC3860257 | alfa-monocloroantraquinona | 1-cloroantraceno-9,10-diona | C14H7ClO2 | -8.0 |
| 63 | ZINC4538454 | 2,3-dimetil-antraquinona | 2,3-dimetilantraceno-9,10-diona | C16H12O2 | -8.0 |
| 64 | ZINC4712898 | 1,4-diamino-9,10-dioxoantraceno-2-carboxamida | 1,4-diamino-9,10-dioxoantraceno-2-carboxamida | C15H11N3O3 | -8.0 |
| 65 | ZINC3875554 | 1-sulfonato de antraquinona | ácido 9,10-dioxoantraceno-1-sulfónico | C14H8O5S | -8.0 |
| 66 | ZINC5224793 | ácido 2-[(9,10-dioxoantraceno-1-il)amino]acético | ácido 2-[(9,10-dioxoantraceno-1-il)amino]acético | C16H11NO4 | -8.0 |
| 67 | ZINC4190787 | rubiawallin c | 1-hidroxi-9,10-dioxoantraceno-2-carboxilato de metilo | C16H10O5 | -8.0 |
| 68 | ZINC4016432 | 1-amino-2-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | 1-amino-2-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H11NO3 | -8.0 |
| 69 | ZINC17749195 | aminonitroantraquinona | 2-amino-1-nitroantraceno-9,10-diona | C14H8N2O4 | -8.0 |
| 70 | ZINC3847495 | Quinizarina | 1,4-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O4 | -7.9 |
| 71 | ZINC3850741 | Antraquinona, 1-amino- | 1-aminoantraceno-9,10-diona | C14H9NO2 | -7.9 |
| 72 | ZINC3861459 | Cloruro de antraquinona-1-diazonio | 9,10-dioxoantraceno-1-diazonio | C14H7N2O2+ | -7.9 |
| 73 | ZINC3873990 | Naranja Duranol G | 1-amino-2-metilantraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -7.9 |
| 74 | ZINC3874029 | Antraquinona, 2-amino | 2-aminoantraceno-9,10-diona | C14H9NO2 | -7.9 |
| 75 | ZINC3874039 | Antraquinona,6-diamino- | 2,6-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -7.9 |
| 76 | ZINC3875551 | Antraquinona, 1-metoxi- | 1-metoxiantraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -7.9 |
| 77 | ZINC3896048 | 2-fluoroantra-9,10-quinona | 2-fluoroantraceno-9,10-diona | C14H7FO2 | -7.9 |
| 78 | ZINC5002812 | 1-amino-4-metilantraceno-9,10-diona | 1-amino-4-metilantraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -7.9 |
| 79 | ZINC14488654 | 2-hidroxi-3-metilantraceno-9,10-diona | 2-hidroxi-3-metilantraceno-9,10-diona | C15H10O3 | -7.9 |
| 80 | ZINC4734942 | 1,4-diamino-5,8-dihidroxiantraceno-9,10-diona | 1,4-diamino-5,8-dihidroxiantraceno-9,10-diona | C14H10N2O4 | -7.9 |
| 81 | ZINC4176966 | 1-nitro-9,10-dioxoantraceno-2-carboxamida | 1-nitro-9,10-dioxoantraceno-2-carboxamida | C15H8N2O5 | -7.9 |
| 82 | ZINC3875542 | 1,4,5,8-tetrahidroxiantraceno-9,10-diona | 1,4,5,8-tetrahidroxiantraceno-9,10-diona | C14H8O6 | -7.9 |
| 83 | ZINC3872206 | malditacantal | 3-hidroxi-1-metoxi-9,10-dioxoantraceno-2-carbaldehído | C16H10O5 | -7.9 |

| | | | | | |
|----|--------------|---|---|------------|------|
| 84 | ZINC4098684 | Lucidina | 1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)antraceno-9,10-diona | C15H10O5 | -7.9 |
| 85 | ZINC3861197 | beta-cloroantraquinona | 2-cloroantraceno-9,10-diona | C14H7ClO2 | -7.8 |
| 86 | ZINC4044861 | 1-[[[(2R)-2,3-dihidroxiopropil]amino]antraceno-9,10-diona | 1-[[[(2R)-2,3-dihidroxiopropil]amino]antraceno-9,10-diona | C17H15NO4 | -7.8 |
| 87 | ZINC5420592 | Antraquinona, 1-amino-4-nitro- | 1-amino-4-nitroantraceno-9,10-diona | C14H8N2O4 | -7.8 |
| 88 | ZINC4255762 | 9, 1-amino-4-nitro- | 1-amino-4-nitroantraceno-9,10-diona | C14H8N2O4 | -7.8 |
| 89 | ZINC3880376 | Dispersar rosa zh | -amino-4-hidroxi-2-metoxiantraceno-9,10-diona | C15H11NO4 | -7.8 |
| 90 | ZINC3847491 | antraceno-9,10-diona | antraceno-9,10-diona | C14H8O2 | -7.7 |
| 91 | ZINC3873991 | Celiton Rosa R | 1-(metilamino)antraceno-9,10-diona | C15H11NO2 | -7.7 |
| 92 | ZINC3880344 | 1,3-diaminoantraceno-9,10-diona | 1,3-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -7.7 |
| 93 | ZINC3861518 | Acetato Azul G | 1,4,5,8-tetraaminoantraceno-9,10-diona | C14H12N4O2 | -7.7 |
| 94 | ZINC3860170 | rojo disperso 15 | 1-amino-4-hidroxiantraceno-9,10-diona | C14H9NO3 | -7.6 |
| 95 | ZINC3902902 | Krisolamina | 1,4-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -7.6 |
| 96 | ZINC4783233 | 1-mercaptoantraquinona | 1-sulfanilantraceno-9,10-diona | C14H8O2S | -7.6 |
| 97 | ZINC4824633 | 2,3-diaminoantraceno-9,10-diona | 2,3-diaminoantraceno-9,10-diona | C14H10N2O2 | -7.5 |
| 98 | ZINC3861519 | azul de setacilo RF | 1-(2-hidroxietilamino)-4-(metilamino)antraceno-9,10-diona | C17H16N2O3 | -7.5 |
| 99 | ZINC35323601 | 1-amino-2-(dimetilamino)-4-hidroxiantraceno-9,10-diona | 1-amino-2-(dimetilamino)-4-hidroxiantraceno-9,10-diona | C16H14N2O3 | -7.5 |
| ## | ZINC4044860 | 1-[[[(2S)-2,3-dihidroxiopropil]amino]antraceno-9,10-diona | 1-[[[(2S)-2,3-dihidroxiopropil]amino]antraceno-9,10-diona | C17H15NO4 | -7.5 |

Tabla 2: Antraquinonas seleccionadas para el estudio y su energía de unión con la enzima Mevalonato difosfato descarboxilasa calculada por Autodock Vina.

Fuente: Autores

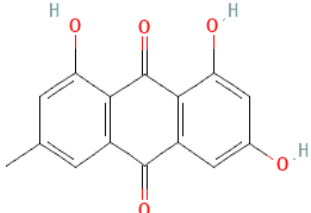
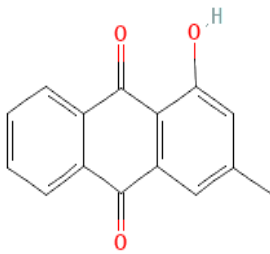
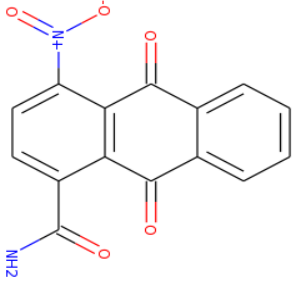
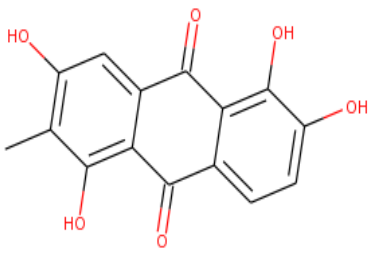
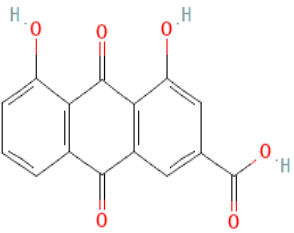
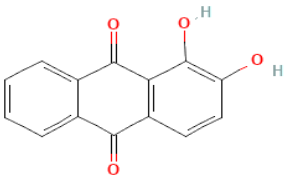
A continuación, las siguientes 10 moléculas seleccionadas por tener el mejor acoplamiento molecular con la enzima mevalonato difosfato descarboxilasa, presentan las siguientes características: la estructura 1,3,8-trihidroxi-6-metil-antraceno-9,10-diona presenta el grupo funcional hidroxilo en las posiciones uno, tres y ocho, mientras que en la posición 6 se puede apreciar el grupo funcional llamado metilo. La segunda estructura llamada 1-hidroxi-3-metil-antraquinona, en la posición uno se puede apreciar la presencia del grupo funcional hidroxilo y en la posición tres la presencia del grupo funcional metilo.

La tercera molécula llamada 8-metilamida-5-nitro- 9,10-dioxo antraceno en su estructura consta de los siguientes grupos funcionales: en la posición cinco se encuentra el grupo funcional nitro, en la posición ocho se encuentran una amida que involucra un grupo metilo. En el caso de la cuarta molécula llamada 1,3,8-trihidroxi-6-(hidroximetil) antraceno-9,10-diona los grupos funcionales hidroxilos se encuentran en las posiciones uno, tres y ocho, mientras que el grupo funcional hidroximetil se encuentra en la posición número 6. La quinta molécula llamada ácido 1,8-dihidroxiantraquinona-3-carboxílico, al igual que la mayoría de moléculas que

se ha revisado en su estructura se puede apreciar que en las posiciones uno y ocho se encuentran los grupos funcionales hidroxilos y en la posición 3 el grupo funcionales carboxilo. Sin embargo, la sexta molécula llamada 1,2-dihidroxiantraceno-9,10-diona en su estructura presenta grupos funcionales hidroxilo en las posiciones uno y dos, respectivamente. La séptima molécula como se puede ver en su estructura los grupos funcionales hidroxilos se encuentran localizados en las posiciones uno y tres respectivamente.

La octava estructura llamada ácido 3-carbamoilo-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico su estructura presenta un carbamoilo en la posición número 3 y en su posición 2 presenta un grupo funcional carboxilo. La novena molécula 1-(2-hidroxietilamino) antraceno-9,10-diona en la posición número 1 se encuentra un grupo amino y a éste se une un grupo hidroxietilo. Finalmente, la última estructura llamada 1,2,5,7-tetrahidroxiantraquinona podemos observar varios grupos hidroxilos ubicados en las posiciones uno, dos, cinco y siete.

Cabe recalcar que las similitud entre estas moléculas sobresalen que la número uno (1,3,8-trihidroxi-6-metilantraceno-9,10-diona), dos (1-hidroxi-3-metilantraquinona), 5 (Ácido 1,8-dihidroxiantraquinona-3-carboxílico), 7 (1,3-dihidroxiantraceno-9,10-diona), presentan grupos funcionales en las posiciones uno y tres respectivamente. Las estructuras 4 (1,3,8-trihidroxi-6-(hidroximetil) antraceno-9,10-diona) y 6(1,2-dihidroxiantraceno-9,10-diona) presentan grupos funcionales hidroxilos en las posiciones uno y dos. Cabe recalcar que todas las estructuras poseen grupos funcionales ya sean grupos hidroxilo o amino en la posición número uno.

| | |
|--|--|
| <p>1. 1,3,8-trihidroxi-6-metilantraceno-9,10-diona</p>  | <p>2. 1-hidroxi-3-metilantraqinona</p>  |
| <p>3. 8-metilamida-5-nitro-9,10-dioxo antraceno</p>  | <p>4. 1,3,8-trihidroxi-6-(hidroximetil) antraceno-9,10-diona</p>  |
| <p>5. Ácido 1,8-dihidroxiatraquinona-3-carboxílico</p>  | <p>6. 1,2-dihidroxi-antraceno-9,10-diona</p>  |
| <p>7. 1,3-dihidroxi-antraceno-9,10-diona</p> | <p>8. ácido 3-carbamoil-9,10-dioxoantraceno-2-carboxílico</p> |

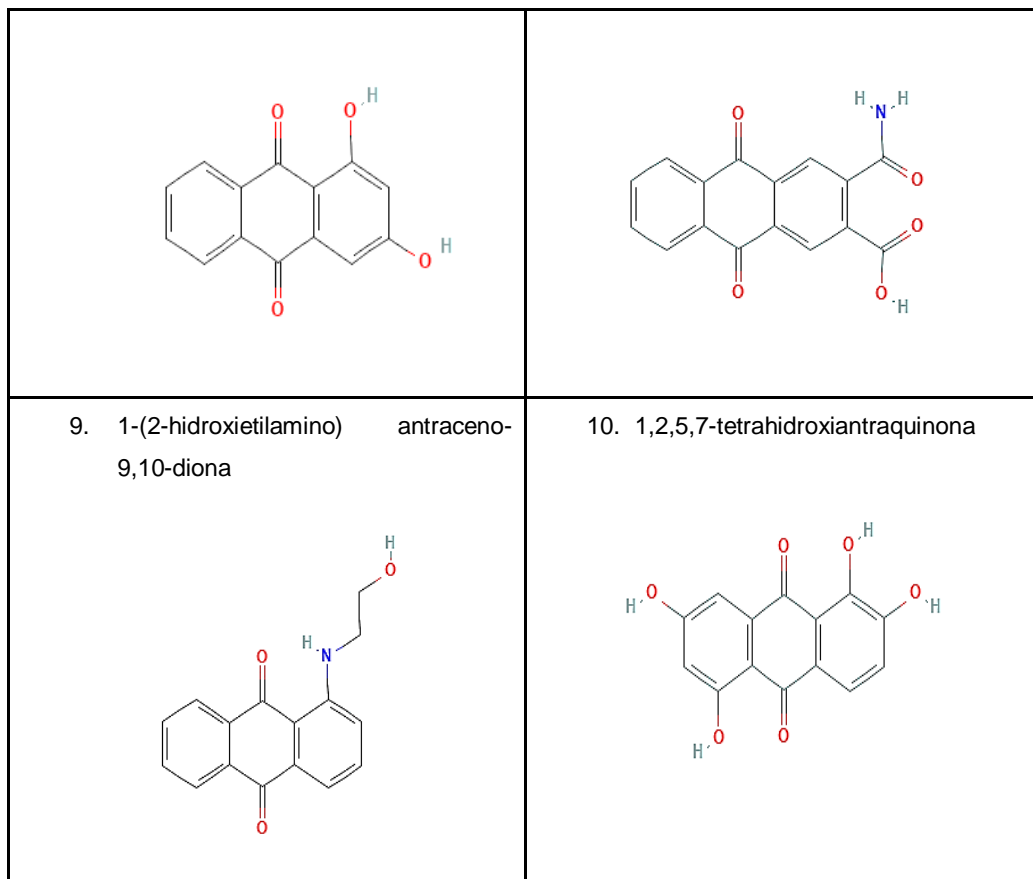


Figura 15: Estructuras químicas de las 10 moléculas con mayor energía de unión con la enzima mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

Sin embargo, las últimas cinco moléculas clasificadas (moléculas con menor afinidad por la enzima) se encuentran nuevas interacciones que no son tan favorables para el acoplamiento molecular. Se observó que estas cinco estructuras poseen grupos funcionales unidos al carbono número uno. La estructura número 96 presenta un grupo funcional tiol en esta posición. La molécula número 97 presenta dos grupos funcionales aminos en las posiciones 2 y 3. La estructura 98 presenta un grupo funcional amino y de este se desprende un grupo hidroxietilo. La estructura 99 posee un amino en el carbono uno y dimetilamino en el número dos, mientras que en el cuarto presenta un grupo funcional hidroxilo. Finalmente, la estructura número 100 presenta un amino al que se une un 2,3-dihidroxiopropilo.

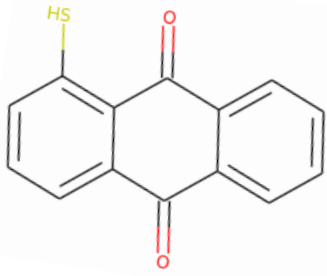
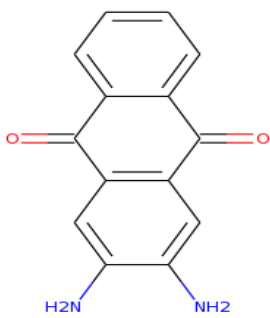
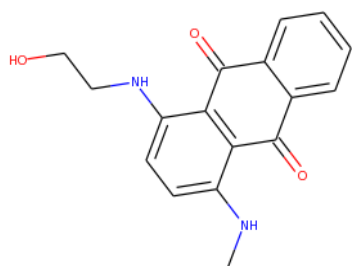
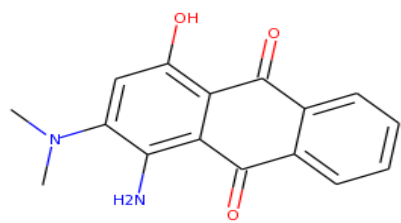
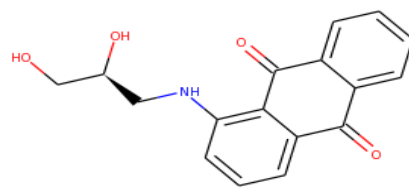
| | |
|--|---|
| | <p>96. 1-mercaptoantraquinona</p>  |
| <p>97. 2,3-diaminoantraceno-9,10-diona</p>  | <p>98. 1-(2-hidroxiethylamino)-4-(metilamino) antraceno-9,10-diona</p>  |
| <p>99. 1-amino-2-(dimetilamino)-4-hidroxi-antraceno-9,10-diona</p>  | <p>100. 1-[[[(2S)-2,3-dihidroxi-propil]amino]antraceno-9,10-diona</p>  <p>9,10-dion</p> |

Figura 16: Estructuras químicas de las cinco moléculas con menor energía de unión con la enzima mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

III 4.1. Análisis de interacciones entre antraquinonas y la enzima mevalonato difosfato descarboxilasa

Adicionalmente, se realizó el análisis de interacción de las 10 mejores antraquinonas con la enzima mevalonato descarboxilasa para identificar las interacciones entre aminoácidos del centro activo de la enzima y estos ligandos.

La primera molécula llamada Emodina, presenta puentes de hidrógeno con ARG144, ALA108 y ALA105.

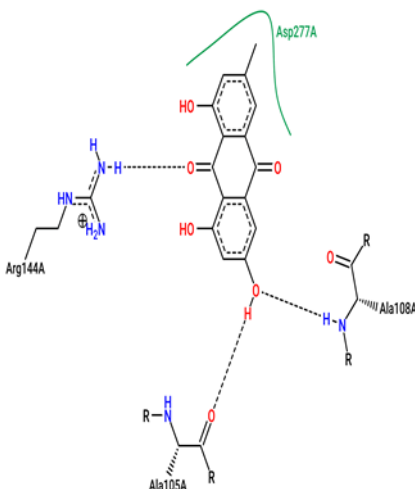


Figura 17: Emodina, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

La segunda molécula llamada 1-metoxiantraquinona, presenta dos puentes de hidrógenos, con SER94 y ASN96. Además, se observa también una interacción no polar con PHE58.

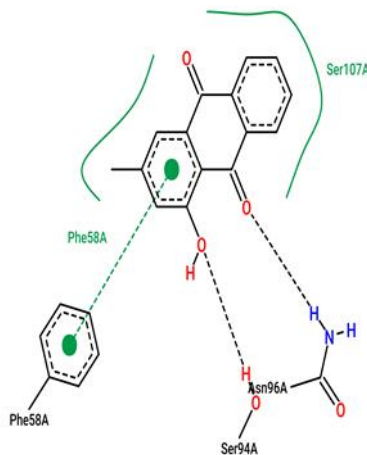


Figura 18: 1-metoxiantraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

En el caso de la cuarta molécula llamada Omega-hidroxiemodina, se puede observar que existen múltiples interacciones. Los puentes de hidrógeno fueron establecidos entre los aminoácidos THR45, SER94 y ASN96. Sin embargo, existe también la presencia de un enlace no polar con PHE58.

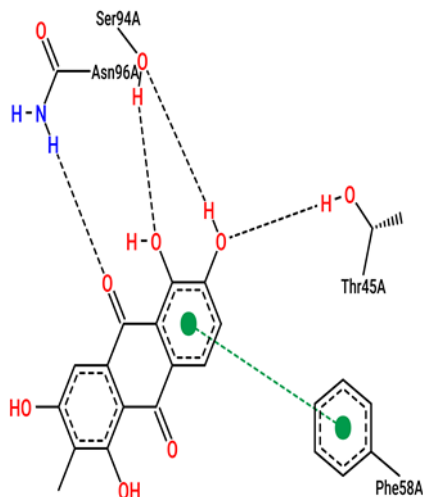


Figura 19: Omega-hidroxiemodina, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

La quinta molécula, llamada ácido reico, presenta puentes de hidrógeno entre el aminoácido THR45, ASN96 SER106 y una interacción no polar con la PHE58.

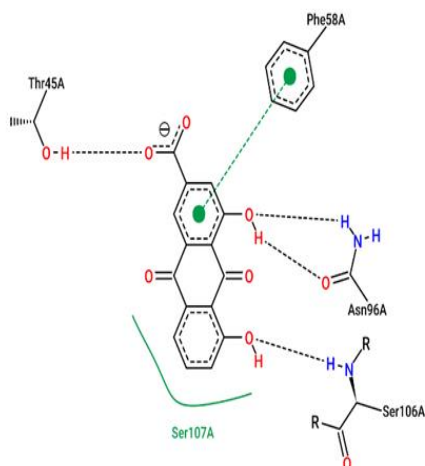


Figura 20: ácido reico, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

La siguiente molécula llamada Alizarina, se pudo observar que en esta molécula presenta interacciones por puentes de hidrógeno con SER94 y ASN96, e interacción no polar con PHE58.

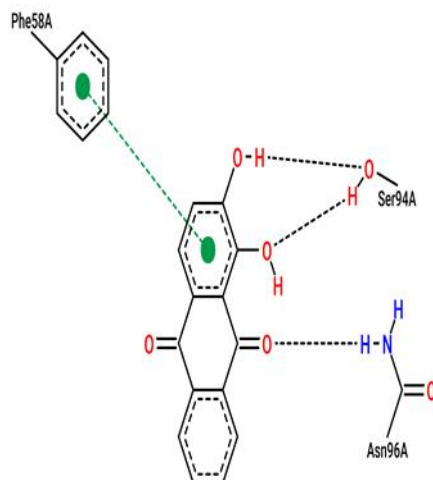


Figura 21: Alizarina, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

Continuando con la séptima molécula, llamada Xantopurpurina, se puede observar que presenta puentes de hidrógeno ALA105, SER107, ALA108 y con SER186.

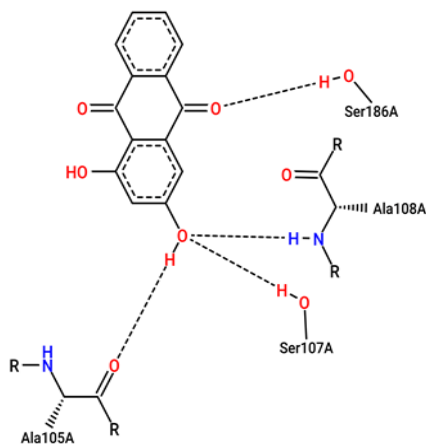


Figura 22: Xantopurpurina, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

Esta molécula llamada antracencarboxílico, se puede observar puentes de hidrógeno con el aminoácido THR11, ALA14 y SER107.

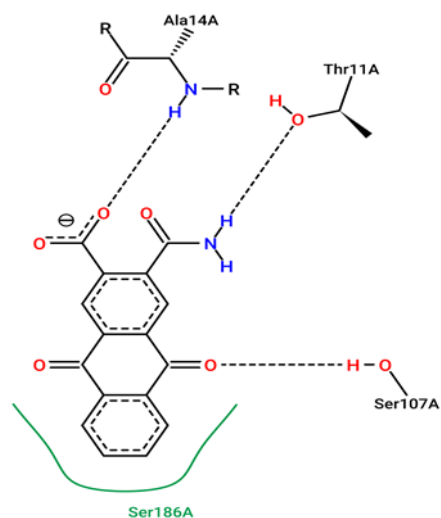


Figura 23: Antracencarboxílico, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

En el caso del noveno compuesto llamado Disolvente rojo 222, presenta un enlace no polar con PHE 58, y puentes de hidrógeno con GLN69, LYS68, LYS72 y ASN96.

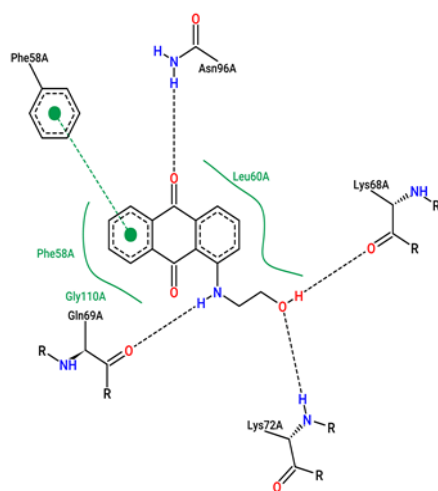


Figura 24: Disolvente rojo 222, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

El décimo compuesto denominado 1,2,5,7-tetrahidroxiantraquinona, presenta puentes de hidrógenos con GLU305 y ASN184.

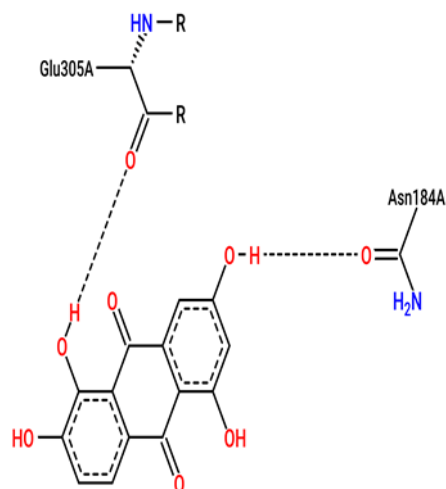


Figura 25: 1,2,5,7-tetrahidroxiantraquinona, análisis de interacción en 2 dimensiones, molécula con mayor energía de unión con mevalonato difosfato descarboxilasa.

Fuente: Autores.

Las interacciones más repetitivas entre el grupo de las 10 antraquinonas mejor raqueadas con el sitio activo de mevalonato descarboxilasa fueron las no polares con PHE58 y los puentes de hidrógeno con SER94 y ASN96.

Interesantemente, entre las antraquinonas mejor clasificadas como potenciales inhibidores de las dos enzimas que han sido objetivo en este estudio no se encuentra ninguna de las antraquinonas que previamente han reportado efecto antibacteriano. De hecho, de la búsqueda bibliográfica realizada se desprende que las moléculas con mayor energía de unión que hemos identificado no han sido reportadas como antibacterianas, por este motivo se abre la posibilidad de que éstas sean potenciales agentes antibacterianos y amerita que se realicen futuros experimentos con ellas.

CAPÍTULO IV
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

IV. CONCLUSIONES

- En el presente trabajo se evaluó la afinidad de 100 antraquinonas por dos potenciales dianas presentes en *E. faecalis* como son las enzimas glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa.
- Se estableció de forma comparativa las características estructurales de las antraquinonas que favorecen su afinidad por el glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*, concluyendo que las mejores 10 antraquinonas presentaron características tales como: energías en un rango de -8,9 a -8,4 Kcal/mol, a su vez también, los grupos funcionales metil, sitio en donde el acoplamiento molecular junto a estas enzimas, fue de manera favorable, ahora bien, también es conocido por la literatura en toda antraquinona se encuentran grupos cetonas en las posiciones 9 y 10 de cada estructura.
- Sin embargo, se evaluó también de forma comparativa las características estructurales de las antraquinonas que no favorecen su afinidad por el glutamato racemasa y mevalonato difosfato descarboxilasa de *E. faecalis*, concluyendo que las cinco antraquinonas desfavorables para esta investigación presentaron grupos funcionales hidroxil, sitio en donde el acoplamiento molecular junto a estas enzimas, fue de manera desfavorable.
- En conclusión, consideramos que este trabajo representa, hasta donde conocemos, el primer estudio que ha empleado este abordaje computacional para evaluar la capacidad de estas moléculas de actuar como inhibidores de estas enzimas. Nuestros resultados muestran nuevas estructuras de antraquinonas que no han sido previamente reportadas en trabajos *in vitro* y que constituyen un punto de partida para nuevas investigaciones que busquen moléculas prometedoras con potencial actividad antibacteriana.

IV.1. RECOMENDACIONES

De acuerdo con las conclusiones precedentes, a continuación, se presentan las recomendaciones derivadas del desarrollo del estudio.

- El estudio utilizando las mismas enzimas del presente trabajo debería ser ampliado con diferentes especies de bacterias Gram positivas y Gram negativas.
- En trabajos futuros se podría evaluar el efecto de los compuestos mejor clasificados en ensayos *in vitro* sobre la especie estudiada.
- Adicionalmente, se debería probar un mayor número de antraquinonas en ensayos futuros con otras enzimas y comparar con las enzimas del presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. [citado 26 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. GLICÓSIDOS ANTRAQUINÓNICOS [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c3.htm>
3. Malmir M, Serrano R, Silva O. Anthraquinones as potential antimicrobial agents-A review. En 2017. p. 55-61.
4. Carpio Arévalo JM, Amorim JC. An in-silico analysis reveals 7,7'-bializarin as a promising DNA gyrase B inhibitor on Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Comput Biol Med.* 1 de agosto de 2021;135:104626.
5. Saavedra Nizama F, Ale Borja N, Gordillo Rocha G, Apesteguía Infante A, Jurado Teixeira B, Revilla Casalino A. Análisis por espectroscopía UV y FTIR de macerados acuosos y alcohólicos de Aloe vera L. y Aloe barbadensis Miller. Interacción con sales inorgánicas. *Rev Soc Quím Perú.* julio de 2010;76(3):242-60.
6. Kemege GA, Mkounga P, Essia Ngang JJ, Sado Kamdem SL, Nkengfack AE. Antimicrobial structure activity relationship of five anthraquinones of emodine type isolated from *Vismia laurentii*. *BMC Microbiol.* 22 de febrero de 2017;17(1):41.
7. *MicrobiologiaPractico_spa.pdf* [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51601/MicrobiologiaPractico_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
8. Infecciones por enterococos - Enfermedades infecciosas [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. [citado 26 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-enterococos>
9. Vizoso Parra Á, García López A, Ramos Ruiz A, Piloto Ferrer J, Rivero Martínez R. Derivados antraquinónicos del Aloe vera L: Tamizaje genotóxico. *Rev Cuba Plantas Med.* agosto de 2000;5(2):46-50.
10. *2224-4697-rpv-35-01-e01.pdf* [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v35n1/2224-4697-rpv-35-01-e01.pdf>
11. *375949531009.pdf* [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3759/375949531009.pdf>
12. Mora X. DIFERENCIANDO BACTERIAS GRAM+ y GRAM-. :3.

13. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Rev Cuba Hig Epidemiol.* agosto de 2010;48(2):147-61.
14. Cifuentes WEG, Rodríguez EZM, Manuel B. COMPARACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE UN PRODUCTO DERIVADO DEL ALOE VERA (PRODUCTO VIDA GEL DE SÁBILA) E HIDROXIDO DE CALCIO FRENTE A *Enterococcus Faecalis*. :74.
15. Araujo G, Huff R, Favarini M, Bertoni Mann M, Peters F, Frazzon J, et al. Multidrug Resistance in *Enterococci* Isolated From Wild Pampas Foxes (*Lycalopex gymnocercus*) and Geoffroy's Cats (*Leopardus geoffroyi*) in the Brazilian Pampa Biome. *Front Vet Sci.* 4 de diciembre de 2020;7.
16. González LMO. *Enterococos: actualización.* :10.
17. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. *Enterococcus*, medios de cultivo convencionales y cromogénicos. *Rev Cuba Hig Epidemiol.* abril de 2013;51(1):97-110.
18. Patida RK, Gupta MK, Singh V. Phenotypic Detection of Virulence Traits and Antibiotic Susceptibility of Endodontic *Enterococcus faecalis* Isolates. *Am J Microbiol Res.* 23 de enero de 2013;1(1):4-9.
19. Selleck EM, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of *Enterococci*. *Microbiol Spectr.* julio de 2019;7(4):10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018.
20. Zhou X, Willems RJL, Friedrich AW, Rossen JWA, Bathoorn E. *Enterococcus faecium*: from microbiological insights to practical recommendations for infection control and diagnostics. *Antimicrob Resist Infect Control.* 10 de agosto de 2020;9(1):130.
21. Lebreton F, Willems RJL, Gilmore MS. *Enterococcus* Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. En: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editores. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014 [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/>
22. Herrera ML, Vargas A, Campos M. Aislamientos de *Enterococcus* spp., resistentes a la vancomicina, en muestras de heces de niños costarricenses. *Rev Médica Hosp Nac Niños Dr Carlos Sáenz Herrera.* enero de 1998;33(1-2):29-38.
23. Teixeira LM, Faria AR, Souza SSR, Merquior VLC. *Enterococcus*. En: de Filippis I, editor. *Molecular Typing in Bacterial Infections, Volume II* [Internet].

Cham: Springer International Publishing; 2022 [citado 20 de agosto de 2022]. p. 131-45. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-83217-9_7

24. Sánchez-Silos RM, Pérez-Giraldo C, Martín P, Garduño E, Blanco J, Cándido Gómez-García A. Patogenicidad de *Enterococcus* spp. Características de 169 aislamientos hospitalarios. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 1 de abril de 2000;18(4):165-9.
25. Garza-Velasco R, Hernández-Acosta K. Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*. :14.
26. Aspiroz C, Navarro C, Aspiroz T. Infección urinaria causada por *Enterococcus faecalis* con fenotipo mucóide: un morfotipo inusual. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 1 de agosto de 2000;18(7):369-70.
27. Escolà-Vergé L, Fernández-Hidalgo N, Larrosa MN, Fernandez-Galera R, Almirante B. Secular trends in the epidemiology and clinical characteristics of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis at a referral center (2007-2018). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. junio de 2021;40(6):1137-48.
28. Vigilancia nacional de aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis* resistentes al linezolid portadores del gen *optrA* en Colombia, 2014-2019 [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52679>
29. Díaz Álvarez M, Salas Izquierdo CC, Fernández de la Paz MT, Martínez Izquierdo A. Características clínicas y epidemiológicas de las infecciones por enterococos en el niño. *Rev Cuba Pediatría*. marzo de 2007;79(1):0-0.
30. Silva A J, Asserella R L, Bolados G N, Herrera H N, Leyton O J. Resistencia a antimicrobianos en cepas de *Enterococcus* sp aisladas en hospitales del norte de Chile. *Rev Chil Infectol*. septiembre de 2006;23(3):226-31.
31. García JLA, Flores AME, Barbosa PA, Cortina JHM. Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium* en un hospital de tercer nivel. :6.
32. Sánchez-Molina MI, Martín D, Valladares C, Gastañares MJ, Torres C. Sensibilidad del género *Enterococcus* a nuevos antimicrobianos. 17:6.
33. Enterococcal Infections Treatment & Management: Medical Care, Surgical Care, Consultations. 15 de abril de 2022 [citado 20 de agosto de 2022]; Disponible en: <https://emedicine.medscape.com/article/216993-treatment>
34. Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. En: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editores. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*

- [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014 [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>
35. Hollenbeck BL, Rice LB. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence*. 15 de agosto de 2012;3(5):421-569.
 36. Sirichoat A, Flórez AB, Vázquez L, Buppasiri P, Panya M, Lulitanond V, et al. Antibiotic Resistance-Susceptibility Profiles of *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus* spp. From the Human Vagina, and Genome Analysis of the Genetic Basis of Intrinsic and Acquired Resistances. *Front Microbiol* [Internet]. 2020 [citado 17 de septiembre de 2022];11. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.01438>
 37. Resistance to β -lactams in enterococci - ScienceDirect [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S032575411830083X>
 38. Cercenado E. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. diciembre de 2011;29:59-65.
 39. Jaimee G, Halami PM. High level aminoglycoside resistance in *Enterococcus*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* species from farm animals and commercial meat products. *Ann Microbiol*. marzo de 2016;66(1):101-10.
 40. Anderson M, Fisher SL, Folmer RHA, Kern G, Lundqvist RT, Newton DT, et al. Estructura cristalina de clutamato racemasa (muri) [Internet]. ES2305570T3, 2008 [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://patents.google.com/patent/ES2305570T3/es>
 41. Serrano SC. Estudio de los efectos de la inhibición de la vía del mevalonato en la proliferación celular. :10.
 42. Loyola-Vargas VM, Sánchez-Iturbe P, Canto-Canché B, Gutiérrez-Pacheco LC. Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. :29.
 43. Serna MFV, Pulgarín NV. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ANTRAQUINONAS Y CROMONAS. 2012;101.
 44. Farmacognosia General - Villar Del Fresno | PDF [Internet]. Scribd. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.scribd.com/document/348922895/Farmacognosia-General-Villar-Del-Fresno>
 45. Perfil fitoquímico y actividad antimicrobiana de extractos de *Mangifera indica* frente a *Enterococcus faecalis* [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.canalabierto.cl/numero-44/perfil-fitoqui-mico-y->

actividad-antimicrobiana-de-extractos-de-mangifera-indica-frente-a-enterococos-faecalis

46. Budi HS, Juliastuti WS, Christy BR. Antimicrobial Activity of *Musa paradisiaca* var. *sapientum* on *Enterococcus faecalis* Viability. 2020;5.
47. Acomplamiento molecular:: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos [Internet]. [citado 20 de agosto de 2022]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652019000200006
48. Velásquez M, Drosos J, Gueto C, Márquez J, Vivas-Reyes R. Método acoplado Autodock-PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Rev Colomb Quím.* abril de 2013;42(1):101-24.
49. Tao A, Huang Y, Shinohara Y, Caylor ML, Pashikanti S, Xu D. ezCADD: A Rapid 2D/3D Visualization-Enabled Web Modeling Environment for Democratizing Computer-Aided Drug Design. *J Chem Inf Model.* 28 de enero de 2019;59(1):18-24.

ABREVIATURAS

°C: Grados centígrados

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ALA: Alanina

ARG: Arginina

AS: Sustancia agregada

ASN: Asparagina

CDC: centro para control y prevención de enfermedades

E. faecalis: *Enterococcus faecalis*

E. faecium: *Enterococcus faecium*

ECA: Enzima convertidora de angiotensina

EFIE: Endocarditis infecciosa por *E. faecalis*

ERV: Enterococo resistente a la vancomicina

ESP: Proteína de superficie enterococica

g/día: Gramo por día

GLN: Glutamina

GLU: Ácido glutámico

ILE: Isoleucina

LEU: Leucina

LYS: Lisina

mg/l: Miligramo por litro

mg/ml: Miligramo por mililitro

NaCl: Cloruro de sodio

OMS: Organización de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

PBP: Proteínas fijadoras penicilina

PCR: Reacción cadena de la polimerasa

PHE: Fenilalanina

PMNs: Polimorfonucleares

PRP: Proteína rica en prolina

RAN: Recuento absoluto de neutrófilos

rARN: Ácido ribonucleico ribosómico

SER: Serina

THR: Treonina

TRP: Triptófano

TYR: Tirosina

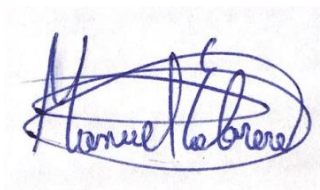
UCI: Unidad de cuidados intensivos

µg/ml: Microgramo por mililitro

ANEXOS REQUERIDOS

MANUEL RENE CABRERA PALOMEQUE portador de la cédula de ciudadanía N° **1718618984**. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“EVALUACIÓN IN SÍLICO DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE DERIVADOS DE ANTRAQUINONAS SOBRE LAS ENZIMAS GLUTAMATO RACEMASA Y MEVALONATO DIFOSFATO DESCARBOXILASA DE *Enterococcus faecalis*”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **27 de septiembre del 2022**



MANUEL RENE CABRERA PALOMEQUE

C.I. 1718618984

JOYCE LIZBETH SÁNCHEZ LEÓN portadora de la cédula de ciudadanía N° **0704534569**. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“EVALUACIÓN IN SÍLICO DE LA CAPACIDAD INHIBITORIA DE DERIVADOS DE ANTRAQUINONAS SOBRE LAS ENZIMAS GLUTAMATO RACEMASA Y MEVALONATO DIFOSFATO DESCARBOXILASA DE *Enterococcus faecalis*”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **27 de septiembre del 2022**



JOYCE LIZBETH SÁNCHEZ LEÓN

C.I. 0704534569