



UNIVERSIDAD  
CATÓLICA  
DE CUENCA

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

**UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR**

**CARRERA DE BIOFARMACIA**

**“EVALUACIÓN IN SILICO DE CATEQUINAS COMO  
INHIDIDORES DE LA BETA-LACTAMASA *TEM-1* DE  
*Escherichia coli*”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE QUÍMICA FARMACEUTA**

**AUTORA: MARÍA NICOLE LUZURIAGA BLANDÍN**

**DIRECTOR: PHD. JUAN MARCELO CARPIO AREVALO**

**CUENCA – ECUADOR**

**2022**

**DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

**UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR**

**CARRERA DE BIOFARMACIA**

**“EVALUACIÓN IN SILICO DE CATEQUINAS COMO INHIDIDORES  
DE LA BETA-LACTAMASA TEM-1 DE *Escherichia coli*”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE QUÍMICA FARMACEUTA**

**AUTORA:** MARIA NICOLE LUZURIAGA BLANDIN

**DIRECTOR:** PhD. JUAN MARCELO CARPIO AREVALO

**CUENCA – ECUADOR**

**2022**

**DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO**



**Declaratoria de Autoría y Responsabilidad**

**MARÍA NICOLE LUZURIAGA BLANDÍN** portadora de la cédula de ciudadanía N.º **010457623-6**. Declaro ser el autor de la obra: ***“EVALUACIÓN IN SILICO DE CATEQUINAS COMO INHIBIDORES DE LA BETA-LACTAMASA TEM-1 DE Escherichia coli”***, 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, **08 de abril de 2022**

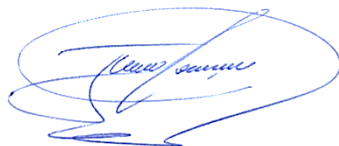
**MARÍA NICOLE LUZURIAGA BLANDÍN**

**C.I. 010457623-6**

## CERTIFICACIÓN:

Certifico que el presente trabajo de titulación denominado “**EVALUACIÓN *In silico* DE CATEQUINAS COMO INHIBIDORES DE LA BETA-LACTAMASA TEM-1 DE *Escherichia coli***”, realizado por **LUZURIAGA BLANDIN MARIA NICOLE**, 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, **29 – marzo – 2022**



Dr. Juan Marcelo Carpio Arévalo, PhD.

---

## RESUMEN

En la actualidad los factores de virulencia de *Escherichia coli*, causantes de la resistencia a los antibióticos son un grave problema de salud a nivel mundial. Es por ello que se buscan nuevas alternativas terapéuticas, investigando con programas computacionales, moléculas que puedan ayudar al desarrollo de fármacos.

**Objetivo:** El objetivo de esta investigación fue evaluar mediante ensayos *in silico* la capacidad inhibitoria de catequinas vegetales frente a la enzima beta-lactamasa TEM-1 de *Escherichia coli*.

**Materiales y métodos:** La metodología aplicada fue un estudio experimental *in silico* que partió de un enfoque cuantitativo, se evaluaron las energías de unión, el análisis de interacción y las propiedades ADME de 44 catequinas seleccionadas con la enzima beta-lactamasa TEM-1 de *Escherichia coli*.

**Resultados:** Los resultados obtenidos demostraron que las catequinas, especialmente las que se encuentran esterificadas al ácido gálico efectivamente inhiben a la enzima TEM-1. Los estudios de acoplamiento molecular de las catequinas en la enzima TEM-1 de *Escherichia coli* presentaron energías de enlaces favorables, como son las cinco mejores moléculas con energías de -8.7 a 7.9 kcal/mol.

Además, en el análisis de interacción entre las cinco mejores catequinas y la enzima TEM-1 se observaron interacciones y enlaces favorables con los aminoácidos del centro activo. Así como también, dichas moléculas arrojaron resultados positivos en la predicción de las propiedades ADME, existiendo la probabilidad que puedan convertirse en fármacos. De esta manera, las catequinas tienen afinidad e inhiben dicha enzima.

**Palabras clave:** TEM-1, *Escherichia coli*, *in silico*, catequinas, betalactamasa,

---

## ABSTRACT

Currently, the virulence factors of *Escherichia coli*, which cause antibiotic resistance, are a severe health problem worldwide. That is why new therapeutic alternatives are being sought through the research with computer programs into molecules that can help develop drugs

**Objective:** The objective of this research was to evaluate by *in silico* experiments the inhibitory capacity of plant catechins against the TEM-1  $\beta$ -lactamase enzyme of *Escherichia coli*.

**Materials and methods:** The methodology applied was an *in silico* experimental study based on a quantitative approach. The binding energies, interaction analysis, and ADME properties of 44 selected catechins were evaluated with the TEM-1  $\beta$ -lactamase enzyme from *Escherichia coli*.

**Results:** The results showed that catechins, especially those esterified to gallic acid, effectively inhibit the TEM-1 enzyme. Molecular docking studies of catechins in the *Escherichia coli* TEM-1 enzyme presented favorable binding energies, such as the top five molecules with energies from -8.7 to 7.9 kcal/mol.

Furthermore, in the interaction analysis between the top five catechins and the TEM-1 enzyme, favorable interactions and binding with the amino acids of the active center were observed. Also, these molecules showed positive results in predicting ADME properties, with the probability that they could become drugs. Thus, catechins have an affinity for and inhibit this enzyme.

**Keywords:** TEM-1, *Escherichia coli*, *in silico*, catechins,  $\beta$ -lactamase

---

## ÍNDICE

DEDICATORIA.....	1
AGRADECIMIENTO.....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I .....	1
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.....	1
1.1 PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN. ....	4
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	5
I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA.....	6
I.2.2.- HIPÓTESIS .....	6
I.3.- OBJETIVOS.....	6
I.3.1.-Objetivo General.....	6
I.3.2.-Objetivos Específicos .....	7
I.4.- MARCO TEÓRICO .....	7
I.4.1.- Antecedentes:.....	7
CAPÍTULO II .....	36
METODOLOGÍA.....	36
II.1. Diseño de investigación. ....	33
II.2. Universo - Población.....	33
II.3. Muestreo y muestra .....	33
II.4 Criterios de selección .....	33
II.5 Definición y clasificación de las variables .....	33
II.6 Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.....	34
CAPÍTULO III .....	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
III.1 RESULTADOS .....	38

---

III. 2 DISCUSIÓN.....	58
CAPÍTULO IV.....	38
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	38
IV.1 CONCLUSIONES .....	65
IV.2 RECOMENDACIONES.....	66
BIBLIOGRAFÍA .....	67

---

## DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación va dirigido con mucho cariño a mis padres que son el pilar fundamental de mi vida, por todo su esfuerzo y amor, por ser los principales promotores de mis sueños, gracias por creer y confiar en mí.

A mi hermana por siempre estar para mí que de alguna manera con sus palabras de motivación me han impulsado para lograr mis objetivos.

A mis demás hermanos y toda mi familia por su apoyo y valiosos consejos estoy inmensamente agradecida.

A mi mejor amiga por ser tan incondicional, quien a pesar de la distancia siempre está para mí.

Y con mucho amor para aquellas personas con quien tuve el gusto de tratar a lo largo de mi formación académica, a mis compañeros y amigos que alegraron mi estadía y a mis docentes que con empeño y dedicación difundieron en mí el deseo de superación.

## AGRADECIMIENTO

Mis más sinceros agradecimientos a Dios por ser la fuerza de mi vida y brindarme una vida llena de aprendizajes y experiencias a lo largo de mi carrera universitaria.

A mi tutor, Doctor Juan Carpio por su esfuerzo, tiempo y dedicación. Pues con su conocimiento e infinita paciencia fue una guía y apoyo en la elaboración de mi tesis, por ser una excelente persona y por ser parte de mi formación profesional.

A los docentes de la Facultad de Biofarmacia por su calidad académica y trato humano, en especial a la Doctora Paula Blandín por estar siempre pendiente de mí brindándome su apoyo incondicional.

Mil gracias a las dos personas más especiales e importantes de mi vida, mi mamá y mi papá, por siempre apoyarme y estar ahí para mí.

## INTRODUCCIÓN

En la última década, los factores de virulencia de las bacterias causan la resistencia a los antibióticos que tienen las bacterias incluidas *E. coli* constituyen las principales causas de diferentes enfermedades, morbilidades, mortalidades y discapacidad a nivel mundial.

El principal patotipo causante de infecciones urinarias es *E. coli* uropatógena, daña el tracto urinario provocando bacteriuria asintomática, cistitis o pielonefritis. Por otra parte *E. coli* enteropatógena es el serotipo, causante de infecciones gastrointestinales manifestándose principalmente con diarrea.

Así mismo, los medicamentos utilizados para el tratamiento de estas infecciones, tales como los inhibidores de las betalactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam) o los antibióticos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos); aminoglucósidos, quinolonas, macrólidos pueden presentar resultados negativos asociados a su administración. A pesar de que la mayoría de antibióticos son de fácil acceso en los países subdesarrollados, existen personas que no tienen recursos económicos suficientes para su tratamiento y por ende corren el riesgo de sufrir complicaciones por esta bacteria. Sin embargo, la utilización de las plantas medicinales se presenta como una alternativa de menor costo y mayor accesibilidad para el tratamiento de diversas enfermedades, pero es de vital importancia validar la actividad terapéutica de dichas plantas.

El presente estudio se basó en analizar las estructuras de las catequinas (*Cassia catechu*) debido a que son un grupo de fitoquímicos reconocidos por tener una actividad antioxidante, anticancerígena, anti artríticas, antiinflamatorias, antiagregantes, inmunoestimulantes, hepatoprotectoras, antibacterianas y antifúngicas. En diferentes literaturas se han encontrado varios estudios de las catequinas tanto *in vitro* como *in vivo* sobre su actividad para inhibir a *E. coli*. En la actualidad no existen estudios *in silico* que evalúen la actividad de las catequinas como inhibidores de la enzima beta-lactamasa TEM-1 de *E. Coli*. Es por eso que la

incorporación de programas computacionales en el estudio de las estructuras de las catequinas presenta diversas ventajas al ser una herramienta predictiva, de fácil acceso y rentable que genera información valiosa para el desarrollo de nuevos fármacos.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo realizar un análisis *in silico* de las catequinas para observar si logran inhibir a la beta lactamasa TEM-1 de *E. coli*. Pudiendo presentar mejores propiedades fisicoquímicas y farmacológicas y de esta manera generar información valiosa para el desarrollo de nuevos fármacos.

**CAPÍTULO I**  
**PLANTEAMIENTO TEÓRICO.**

## 1.1 PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.

*Escherichia coli* (*E. coli*) es a nivel mundial uno de los agentes causales más frecuentes de infecciones de vías urinarias y gastrointestinales. Por su prevalencia y capacidad de generar resistencia a los distintos antimicrobianos, algunos serotipos de esta bacteria son una potencial amenaza para la salud de las personas. De hecho, las infecciones por esta bacteria son un problema a nivel mundial debido a que día a día aumentan las tasas de morbilidad y mortalidad, principalmente en niños menores de 5 años y en adultos con sistemas inmunitarios debilitados (1).

Algunas cepas de *E. coli*, han desarrollado resistencia a los diferentes antibióticos utilizados para su tratamiento, especialmente a los betalactámicos como penicilinas; cefalosporinas; carbapenémicos y monobactámicos. Por otra parte, las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE), son enzimas producidas por bacilos gram-negativos, fundamentalmente enterobacterias, con más frecuencia por *E. coli*. Estas enzimas hidrolizan el anillo betalactámico, de modo que el antibiótico no puede ejercer su acción. Es así cómo son capaces de inactivar a los antibióticos usados para su tratamiento. Las cepas productoras de BLEE son resistentes a los betalactámicos, además los plásmidos que codifican las BLEE portan genes de resistencia a otros antibacterianos como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol. Es por lo que el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente, y el tratamiento de las infecciones producidas por estas cepas tienen mayor dificultad (22).

Los inhibidores de las beta-lactamasas como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, cumplen un papel importante en la terapéutica al ser moléculas con una afinidad elevada frente a estas beta-lactamasas, a las que se une irreversiblemente, evitando así la inactivación del antibiótico betalactámico. A pesar de esta eficacia, el descubrimiento y desarrollo de nuevos inhibidores podría colaborar a tratar infecciones por bacterias resistentes a betalactámicos ante el

potencial riesgo de que algunas cepas puedan también generar betalactamasas insensibles al efecto de estos inhibidores (31).

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

Los inhibidores de las beta-lactamasas como el ácido clavulánico, el tazobactam y el sulbactam, actúan inhibiendo a muchas de las enzimas beta-lactamasas bacterianas. Poseen escasa actividad antibacteriana, pero tienen una potente inhibición sobre las enzimas de las penicilinas que pueden hidrolizar amoxicilina, ticarcilina, ampicilina, piperacilina, haciendo en muchas ocasiones que éstos recuperen su eficacia frente a bacterias que se habían vuelto resistentes a ellas (31, 32).

Se conoce que los polifenoles como las catequinas presentan propiedades: antioxidantes; antimicóticas, antibacterianas, antifúngicas y preventivas de patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones, entre otros. De hecho, estudios sobre la actividad antibacteriana han demostrado que la planta del té (*Camellia sinensis*) presenta efectos antimicrobianos contra diversas bacterias patógenas, incluida *E. coli*, inhibiendo el crecimiento de esta bacteria por sus componentes polis fenólicos entre los que se encuentran varias catequinas. Adicionalmente, se ha visto que la combinación de ampicilina/sulbactam y galato de epigalocatequina (EGCg), puede ser eficaz en infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA). El desarrollo de varios softwares de acoplamiento molecular ha contribuido de manera significativa para la búsqueda de nuevos fármacos. El acoplamiento molecular es una técnica computacional clave en la búsqueda de nuevos fármacos. Este método permite la evaluación de las conformaciones, así como de la afinidad de ligandos por el sitio catalítico de una enzima. En los programas de acoplamiento, los algoritmos de búsqueda analizan y generan las poses del ligando en el sitio de unión de la diana y las funciones de scoring predicen la energía de afinidad del ligando por esta enzima, resultados que permiten clasificar las conformaciones y

seleccionar los ligandos con mayor probabilidad de interactuar eficientemente con la enzima en cuestión (37,38).

Tomando en consideración estos antecedentes, en la presente investigación se usó un enfoque computacional empleando acoplamiento molecular para la evaluación y selección de las catequinas vegetales más prometedoras que podrían constituir inhibidores de la enzima beta-lactamasa TEM - 1 de *E. coli*, estudios que hasta el momento no han sido reportados en la literatura científica. Además, se realizará la predicción de algunas propiedades farmacocinéticas de las catequinas seleccionadas, análisis que complementarán una visión preliminar de su potencial aplicación en terapéutica (47).

Los resultados de esta investigación pretenden ser fuente de consulta para otros investigadores interesados en realizar estudios *in vitro* e *in vivo* para la búsqueda y desarrollo de nuevos inhibidores de beta-lactamasas, como la enzima TEM-1 de *E. coli*.

### **I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA**

¿Cuáles estructuras de las diferentes catequinas incluidas en este estudio poseen mayor potencial para inhibir la enzima beta-lactamasa TEM-1 de *E. coli*?

### **I.2.2.- HIPÓTESIS**

Catequinas de origen vegetal tienen la capacidad de inhibir con altas energías de unión a la enzima TEM-1 de *E. coli*.

## **I.3.- OBJETIVOS**

### **I.3.1.-Objetivo General**

Evaluar *in silico* la capacidad inhibitoria de catequinas vegetales frente a la enzima beta-lactamasa TEM-1 de *Escherichia coli*.

### **I.3.2.-Objetivos Específicos**

- ✓ Evaluar por acoplamiento molecular la afinidad de catequinas naturales por la enzima TEM-1 de *Escherichia coli*.
- ✓ Describir las principales interacciones entre la enzima TEM-1 y las catequinas con mayor afinidad.
- ✓ Predecir la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de las catequinas con mayor afinidad por la enzima TEM-1.

### **I.4.- MARCO TEÓRICO**

#### **I.4.1.- Antecedentes:**

Gracias a la globalización hoy en día existe la posibilidad de modelizar los fenómenos naturales por la velocidad con la que se pueden resolver dichos fenómenos con la ayuda de la computación. El avance de la ciencia ha permitido interaccionar la ingeniería con las ciencias biológicas y la informática, ayudando así a resolver y crear modelos matemáticos que permiten llevar a una computadora un determinado fenómeno. El uso de tecnologías *in silico* se ha propagado en distintas ramas de la ciencia como son la biología y química para referirse a análisis, experimentos, simulaciones o modelizaciones que se llevan a cabo por medio de un ordenador a través de predicciones computacionales y algoritmos de simulación (1).

Estos modelos matemáticos computacionales son una gran herramienta con la que se puede ahorrar tiempo ya que dan resultados previos a su experimentación, permiten simular circunstancias reales, cambiando las estimaciones de las variables implicadas en un amplio rango de valores y compararlos con los valores reales (2).

Los modelos *in silicos* por medio de programas computacionales ayudan a descubrir nuevos medicamentos, lo que conlleva a disminuir los costos de los trabajos experimentales, mediante la aplicación de la bioinformática y la bioestadística, incluso se ha planteado reemplazar dichos experimentos por los realizados con animales y humanos (3).

La resistencia a los antibióticos por parte de las bacterias, en especial de *E. coli* es un problema de salud a nivel mundial en especial por distintos fármacos como: ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloranfenicol y ácido nalidíxico, esto repercute dificultando la eficacia del tratamiento médico cuando es requerido.

En un estudio realizado en Huesca, España, denominado “Resistencia antibiótica de *E. coli* en infecciones urinarias nosocomiales y adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Huesca 2016-2018”, *E. coli* fue la bacteria aislada más frecuente, presentando máximos niveles de resistencia en los antibióticos: trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacina y amoxicilina, que fueron administrados por la cavidad oral e indicados en infecciones urinarias no complicadas (4).

Otra investigación realizada en Ecuador, denominado “Evolución de la Resistencia a los antibióticos en una zona rural de Ecuador”, en donde se analizó la resistencia a antibióticos en pacientes que se encuentran aislados por una infección bacteriana en dos hospitales de la zona rural de Ecuador desde el año 2017 hasta el año 2018.

Se estudiaron 907 cultivos de bacterias, obteniendo 482 aislamientos de *E. coli*. De éstos, 92.5% mostraron resistencia al menos a un antibiótico. Los más altos índices de resistencia obtenidos fueron a ampicilina, ampicilina/sulbactam, amoxicilina/ácido clavulánico, doxiciclina, y tetraciclina (5).

Debido a esto, ha surgido la aplicación de modelos computacionales para la búsqueda de nuevos fármacos, siendo una herramienta que permite la investigación de nuevos tratamientos para infecciones bacterianas que cada vez se tornan más resistentes a los antibióticos convencionales.

Por otra parte, en un estudio realizado en Reino Unido, denominado “Identificación *in silico* de los objetivos de la vacuna para 2019-nCoV”, mediante ensayos *in silico* en una base de datos seleccionada de péptidos inmunogénicos virales, se identificó una lista de péptidos inmunogénicos que pueden usarse como

objetivos potenciales para el desarrollo de la vacuna contra el SARS-CoV 2, ayudando de esta manera a acelerar el proceso de desarrollo de una vacuna (6).

Además, en un estudio realizado en Nuevo León, México, denominado, “Compuestos fenólicos en germinados de haba (*Vicia faba* L.) y su efecto anti adipogénico *in silico*”, se determinó el grado de adipogenicidad de sustancias fenólicas, usando docking molecular, lo que permitió identificar la energía de unión con el receptor PPAR $\gamma$ , obteniendo como resultado que el ácido cafeico, miricetina, catequina y luteolina con valores de -7.8, -7.7, -7.7 y -7.6 Kcal/mol tienen la mayor energía de unión hacia el receptor (7).

En otro estudio realizado en Cuba denominado, “Evaluación *in silico* del efecto de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus* sobre la enzima 5-lipoxigenasa (5- LOX)”, se obtuvo que los compuestos fenólicos entre ellos la catequina presentaron una afinidad favorable hacia la enzima, para el acoplamiento se usó el programa Autodock 4.2 y la estructura de la enzima se descargó de la base de datos de proteínas, Protein Data Bank (8).

En otro estudio que se llevó a cabo en Guatemala, denominado, “Evaluación *in silico* de los 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 el mínimo de energía de unión determinado, indicó que la enzima HMG Co-A reductasa tuvo interacciones moleculares en el sitio activo exitosas debido a que se presentaron bajas energías de enlace. Por lo tanto, los polifenoles de la rosa de Jamaica y las moléculas con modificaciones estructurales mostraron uniones favorables al sitio activo de la enzima.

Los estudios de interacción molecular de los polifenoles de la rosa de Jamaica en la enzima HMG CoA-reductasa presentaron energías de enlace favorables como son energías de -8.3 a -9.3 kcal/mol. De esta forma, podrían inhibir dicha enzima logrando disminuir los niveles de colesterol en sangre (9).

Finalmente, en base a todos los estudios, investigaciones y evidencia previa de la efectividad de los compuestos fenólicos, este estudio se enfocó en la

evaluación de 44 catequinas como inhibidores de la beta-lactamasa TEM-1 de *E. coli*. Siendo el primer estudio hasta donde se conoce que analice estos compuestos sobre esta diana terapéutica.

#### **I.4.2.- Marco referencial**

##### ***Escherichia coli (E. coli)***

Es uno de los microorganismos más estudiados a nivel mundial, pertenece a la familia Enterobacteriaceae, su nicho ecológico natural es el intestino grueso, especialmente en el ciego y colon, formando parte de la microbiota normal del intestino y es junto con otros microorganismos esencial para el proceso digestivo, participando además en la formación de algunas vitaminas como la B y K. Sin embargo, algunos patotipos pueden ser los agentes etiológicos de diversos trastornos gastrointestinales graves, especialmente en niños y puede producir infecciones de vías urinarias, respiratorias y meningitis.

Las Enterobacterias tienen tres antígenos relevantes en su estructura:

- **Antígeno O:** constituye la parte más extensa del lipopolisacárido de la pared celular, resisten al calor y al alcohol. En la bacteria *E. coli* este antígeno se manifiesta en diarrea e infecciones del tracto urinario.
- **Antígeno K:** está presente sólo en algunas bacterias capsuladas como *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, algunos son polisacáridos que se adhieren a las células epiteliales antes de que invadan al tracto gastrointestinal o urogenital
- **Antígeno H:** es proteico, está situado en los flagelos, es específico de esta especie y está presente sólo en las especies móviles (10, 11).

*E. coli* como una bacteria gram negativa consta de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptido-glucano. Esta última estructura confiere a la bacteria su forma y rigidez, y le permite resistir presiones osmóticas ambientales relativamente elevadas.

*E. coli* es un bacilo flagelado, no esporulado, corto y grueso de 1 a 4 micras de largo por 0,4 a 0,8 micras de ancho, es móvil, fermenta la glucosa y lactosa, produce gas y se le considera un anaerobio facultativo (10).

Esta bacteria se caracteriza por tener una sola cadena de ADN circular, este es el cromosoma bacteriano que posee todo el material genético indispensable para la vida de la célula bacteriana. El material genético de *E. coli* posee 5.000 genes, la información genética complementaria se encuentra en plásmidos o elementos extracromosomales, estos son los componentes más activos del genoma bacteriano, resultan ser sencillamente movilizables entre cepas, siendo los principales responsables de la producción de toxinas.

Muchas bacterias, incluida *E. coli*, adquieren la resistencia a los antimicrobianos gracias a la adquisición de plásmidos, que codifican proteínas mediadoras de resistencia y por lo tanto permiten la diseminación de estos genes entre diversas poblaciones bacterianas (11).

Las cepas de *E. coli* que causan infecciones urinarias, poseen fimbrias que les confieren la capacidad para adherirse al epitelio del sistema urinario, así como también *E. coli enteropatógena* (EPEC) puede adherirse al epitelio intestinal mediante las fimbrias produciendo cambios gastrointestinales (12).

Este microorganismo se puede transmitir por distintas vías como: oro – fecal o hídrico – fecal, es decir, mediante el agua y alimentos contaminados, mala higiene, manos sucias, y a través de algunos vectores como los mosquitos. Actúa como un patógeno oportunista, se transmite de un paciente a otro en el caso de enfermedades nosocomiales e infecciones urinarias. La infección por *E. coli* puede darse en toda la población, manifestándose con cuadros clínicos más invasivos en infantes y adultos mayores (13).

## Clasificación de *E. coli*

Según el tipo de infección que ocasionan, se dividen en dos grupos de *E. coli* patógenas. El grupo número uno se constituye por los patotipos responsables de infecciones del sistema urinario, sepsis y meningitis en neonatos y el grupo número dos se constituye por patotipos que ocasionan infecciones gastrointestinales.

### Grupo # 1:

✓ ***E. coli* uropatógena (UPEC):** se caracteriza por causar infecciones de las vías urinarias, este microorganismo se coloniza en la uretra por patotipos que son originados en el colon por la colonización de la vagina.

✓ ***E. coli* causantes de meningitis/septicemias (MNEC):** esta cepa se esparce en la sangre, transportándose a través de la misma para llegar al SNC, sin provocar daño a la barrera hematoencefálica.

✓ **Meningitis neonatal y Septicemias:** esta cepa daña al cerebro y a la médula espinal, provocando el deterioro en un recién nacido (13).

### Grupo # 2:

✓ ***E. coli* enteropatógena (EPEC):** afecta al intestino delgado, provocando diarreas acuosas y es frecuente en infantes.

✓ ***E. coli* enteroinvasiva (EIEC):** afecta a la mucosa del colón, produce evacuaciones sanguinolentas con dolor abdominal tipo cólico y fiebre en todas las edades.

✓ ***E. coli* enterohemorrágica (EHEC):** produce hemorragia intestinal y en ocasiones daño e inflamación de los vasos sanguíneos del riñón.

***E. coli* enteroagregativa (EAEC):** esta cepa es la responsable de la diarrea del viajero y diarrea aguda y crónica en los lactantes, produce diarrea acuosa, mucoide, fiebre de baja intensidad y raramente vómito.

✓ ***E. coli* enterotoxigénica (ETEC):** se presenta en niños menores a 5 años, por lo general en países subdesarrollados, la infección se da por consumir alimentos y agua contaminada, provocando diarrea del viajero.

✓ ***E. coli* Adherencia Difusa (DAEC):** este patotipo se presenta en niños de 4 a 5 años, puede estar presente en personas que presentan diarrea o en niños sanos, se manifiesta provocando diarrea acuosa sin sangre ni picositos (11).

### **Epidemiología de *E. coli***

El patotipo de *E. coli shigatoxigénica* (ECST) se caracteriza por producir una toxina llamada Shiga, causando intoxicaciones y múltiples enfermedades.

ECST se caracteriza por tener mayor incidencia en países desarrollados como Estados Unidos, Canadá, Australia y en algunos países europeos. En América del Sur, en el año 2016, se le reportó a esta cepa como endémica en Argentina, debido a que presentaba 500 casos al año con una incidencia de 12 a 14 casos por cada cien mil niños menores a 5 años, además estos niños presentaban síndrome hemolítico urémico (SHU) con una tasa de mortalidad entre el 3 y 5 %. No obstante, se debe tener en cuenta que este patotipo puede dañar a todas las personas (14).

Por otra parte, las cepas de ETEC, también han sido reportadas en países desarrollados provocando ocasionalmente diarrea en lactantes y en personas que viven en países primermundistas y viajan a zonas subdesarrolladas.

Las cepas de EHEC se dan en países de clima templado como: Estados Unidos, Canadá, Inglaterra, Argentina y Japón (14).

Las cepas de EIEC están dispersas a nivel mundial, presentándose con mayor incidencia como causa frecuente de diarrea en Europa, Estados Unidos y Brasil

Las cepas de EPEC, presentan una distribución mundial, es de particular importancia en los países con climas tropicales y en países subdesarrollados, es más común en infantes menores a los 2 años, con mayor distribución en África, Brasil y México, un porcentaje del 30 y 40% de las diarreas se ocasionan por esta cepa (15).

Las cepas de EAEC, se han caracterizado por cuadros de diarrea persistentes, que duran más de 14 días en niños de diversas regiones geográficas, principalmente en países que se encuentran en vías de desarrollo.

A partir del año 2014, en países con un desarrollo intermedio de Latinoamérica; África y Asia, EPEC es la principal causa de diarrea infantil con elevadas tasas de morbilidad y mortalidad, que pueden llegar hasta el 50% del total de los casos, esto se da por la mala condición de higiene, la inocuidad y seguridad de los alimentos no es la adecuada, lo que provoca graves problemas a nivel intestinal. La frecuencia de estas infecciones producidas por EPEC se da también en otros países de Latinoamérica como: Argentina, México, Ecuador y Brasil, su índice de prevalencia varía entre un 6 al 28% (15).

EPEC y ETEC son los dos patógenos aislados más importantes en el caso de diarrea en niños. En consecuencia, si esta infección no es tratada o detectada pronto puede ocasionar la muerte de las personas contagiadas.

Otros estudios realizados en el mismo año 2014 han demostrado que en México y Colombia la cepa más común es ETEC, la que se asocia a la enfermedad diarreica aguda en infantes menores a 5 años, representando el 4% de tasas de mortalidad, sin embargo se debe poner énfasis que la tasa de mortalidad en niños no es homogénea en todo el país Mexicano y Colombiano, pues en áreas marginadas, y entre ellas las áreas donde residen indígenas e individuos de escasos recursos la mortalidad infantil llega a ser mayor (15, 16).

En la actualidad entre el 0,8 y 2 millones de infantes menores a 5 años fallecen en todo el mundo por una enfermedad diarreica aguda provocada por las cepas EPEC y ETEC, después de las infecciones de las vías respiratorias, esta es la segunda causa de muerte a nivel mundial (16).

En Ecuador, *E. coli* es uno de los patógenos con una mayor prevalencia, principalmente en individuos menores a cinco años, siendo la responsable de trastornos gastrointestinales como la diarrea. Según datos del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI), en el año 2018 más del 50% de los ingresos

hospitalarios de infantes y personas que tienen comprometido su sistema inmunológico sujetos a vigilancia corresponden a *E. coli*.

Por otro lado, en el país se han descrito diversos genes de resistencia expresados por esta bacteria: tales como carbapenemasas con enzimas del tipo *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemasa (KPC) y Nueva Delhi metalo-beta-lactamasa (NDM). *E. coli* resistente a las BLEE presenta resistencia frente a las cefalosporinas en un porcentaje del 50% en comparación con otros antibióticos como los carbapenémicos (16).

### **Principales enfermedades**

Las principales infecciones ocasionadas por *E. coli* son las urinarias y gastrointestinales. Así mismo pueden causar otras infecciones como de las vías biliares, meningitis neonatal, neumonía, peritonitis, etc.

*E. coli* se caracteriza por ser un patógeno oportunista, es aislado a menudo en infecciones del tracto urinario (ITU), siendo el principal causante de más del 70-95% de las ITU adquiridas en la comunidad y con mayor incidencia de las adquiridas en el hospital.

Las ITU se presentan con mayor incidencia en las mujeres por el pequeño tamaño de la uretra y la proximidad a la cavidad anal, por lo general son infecciones provocadas por los patotipos de la microbiota intestinal normal, tienen factores virulentos capaces de invadir, colonizar y dañar las vías urinarias ocasionando bacteriuria sin ningún síntoma, pielonefritis o cistitis.

En cuanto a las infecciones gastrointestinales, esta bacteria se caracteriza por causar diarrea. Los patotipos de *E. coli* que la ocasionan son: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y adherencia difusa (DAEC). Todas ellas al invadir el organismo ocasionan múltiples infecciones intestinales con la presencia de dolor abdominal intenso, diarrea con heces líquidas y en algunas ocasiones con sangre (17).

El cuadro clínico de ETEC provoca diarrea en infantes menores a 5 años, originando con frecuencia diarrea del viajero. En EHEC provoca colitis hemorrágica con diarrea brusca y dolor estomacal, las evacuaciones líquidas se acompañan con una descarga de sangre y pueden causar SUH. En EIEC el cuadro clínico se caracteriza por una afectación a los tejidos que recubren el colon y escasas evacuaciones con moco y sangre, dolor estomacal semejante a un cólico y fiebre.

En EPEC se caracteriza por afectar a la mucosa intestinal, pérdida de enzimas disacaridasas, se manifiesta con fiebre y diarrea con secreción y si no se controla conduce a la deshidratación y en casos graves puede llegar a ocasionar la muerte (14).

Por otra parte, *E. coli* provoca infecciones respiratorias, a las que se les considera oportunistas, estas prevalecen en pacientes hospitalizados con un sistema inmunológico debilitado. En neonatos puede causar meningitis bacteriana, así como también bacteriemia adquirida en la comunidad presentando cuadros críticos graves llegando a ocasionar la muerte.

También, esta bacteria produce enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs), que van desde una infección hasta una intoxicación alimentaria. Una intoxicación es la enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos que contienen toxinas activas y la infección se genera por la ingesta de algún alimento contaminado con este patógeno, siendo la forma más común de ETAs.

*E. coli* no solo debe ser considerada como una bacteria de la microbiota normal, pues en algunos casos las infecciones que provoca llegan a ser mortales, es por ello que es de gran importancia prestar atención a su agente causal y a sus cuadros clínicos (18).

### **Principales antibióticos usados para tratar enfermedades por *E. coli*.**

En el caso de enfermedades por *E. coli*, los antibióticos más utilizados son los betalactámicos debido a que estos inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana entre los que se encuentran las penicilinas, las cefalosporinas,

carbapenémicos y monobactámicos. Los que tienen mayor prescripción médica son las cefalosporinas de segunda y tercera generación, entre ellos se encuentran cefalexina y cefuroxima, antibióticos que tienen mayor resistencia frente a las beta-lactamasas y son de amplio espectro (19).

### **Antibióticos utilizados para tratar infecciones por *E. coli*:**

#### **Betalactámicos**

- **Penicilinas**

Las penicilinas son antibióticos bactericidas, esto es, no simplemente interrumpen la proliferación de las bacterias, sino que las destruyen. Actúan en la síntesis de la pared celular de la bacteria, inhiben la tercera y última etapa mediante la fusión a determinadas proteínas de la pared celular. Las penicilinas se fijan a los receptores de la pared celular bacteriana por transpeptidasas mediante las proteínas fijadoras de penicilinas (PBPs), inhiben a la enzima transpeptidasa, acción que evita la formación del peptidoglicano, de este modo la pared celular se deteriora y se produce la lisis bacteriana durante la multiplicación.

Entre las penicilinas más utilizadas contra *E. coli* se encuentran: Oxacilinas, Dicloxacilina, Ampicilina, Amoxicilina, entre otras (20).

- **Cefalosporinas**

Las cefalosporinas son antibióticos bactericidas, de segunda elección en numerosas infecciones, tienen al igual que las penicilinas, un anillo betalactámico y su mecanismo de acción es similar, pero son más estables ante muchas beta-lactamasas, por lo tanto, tienen un espectro de actividad más amplio (21).

En cuanto al mecanismo de acción, se requiere interferir en la síntesis del peptidoglucano de la pared celular de la bacteria, mediante la unión a la proteína que fija la penicilina, la reacción por transpeptidación se inhibe y la síntesis del peptidoglucano se bloquea.

Además, se produce la inactivación de los inhibidores de la autolisina endógena, esta autolisina rompe las paredes celulares bacterianas y produce la muerte del microorganismo por lisis microbiana (22).

La autolisina, conocida también como amidasa, es una enzima que hidroliza el peptidoglicano, produciendo la lisis bacteriana. Está involucrada en el crecimiento celular, el metabolismo de la pared celular, la división y separación celular.

Entre las cefalosporinas más utilizadas se encuentran las de primera generación (Cefalotina, Cefalexina, Cefradina, Cefazolina, Cefaloridina), las de segunda generación (Cefaclor, Cefuroxima, Cefamandol, Cefonicid, Cefoxitina) y tercera generación (Ceftriaxona, Cefotaxima, Ceftazidima, Cefixima).

- **Carbapenémicos**

Los carbapenémicos se caracterizan por ser agentes bactericidas, tienen un mecanismo de acción similar al de las penicilinas al inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana en la última etapa de la síntesis del peptidoglicano, bloquean la actividad transpeptidasa de las proteínas fijadoras de penicilina e inducen además un efecto autolítico, produciendo así la lisis bacteriana.

Entre los más utilizados se encuentran: Imipenem, Meropenem, Ertapenem y Doripenem (23).

- **Monobactámicos**

Los monobactámicos son antibióticos bactericidas, actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, específicamente la última parte de la síntesis del peptidoglicano tanto de bacterias gram negativas como de gram positivas, aunque con menos efecto en estas últimas.

El único monobactámico disponible para uso clínico es el Aztreonam.

### **Aminoglucósidos**

Se utilizan también algunos aminoglucósidos para tratar infecciones causadas por esta bacteria, entre ellos la amikacina, gentamicina y tobramicina. Estos fármacos son bactericidas actuando a nivel de la subunidad 30S de los

ribosomas, interfieren con la unión del ARN mensajero al ribosoma en el inicio de la síntesis proteica. Por lo tanto, causan fallas en la lectura del código genético provocando una síntesis de proteínas anormal o disminuida, de este modo se impide que el microorganismo se multiplique.

Poseen una elevada actividad bacteriana, algunos estudios de cientismo han demostrado que se ocasiona muerte bacteriana de *E. coli in vitro* antes de 60 minutos cuando se somete a concentraciones de los antibióticos gentamicina y amikacina. Al comparar con los antibióticos betalactámicos como cefotaxima, en las mismas condiciones se produce la muerte de la bacteria en aproximadamente 4 horas (24).

### **Quinolonas**

Las quinolonas como el ácido nalidíxico, la ciprofloxacina y levofloxacina también son activas contra *E. coli*. El mecanismo específico es inhibir la síntesis del material genético, llevando a la muerte bacteriana por la fragmentación de los cromosomas. Invaden la pared celular mediante las porinas, interfiriendo directamente con la replicación bacteriana al interactuar con dos enzimas importantes y necesarias para que se de el superenrollamiento negativo en la síntesis del ADN, la ADN girasa y la topoisomerasa IV. Las quinolonas al inhibir estas enzimas evitan la duplicación, transcripción y reparación del ADN bacteriano (25).

### **Macrólidos**

Son alternativas en los casos de resistencia o hipersensibilidad del paciente a las penicilinas, actúan inhibiendo la síntesis de proteínas de las bacterias por unirse al sitio P en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, inhibe la síntesis proteica por que bloquean la elongación de las proteínas, fusionándose de manera reversible con el dominio V del ARN ribosómico 23S. Entre los macrólidos más utilizados se encuentran: claritromicina, azitromicina, eritromicina (26).

### **Nitrofurantoína**

Es un antibiótico bactericida, la mayor parte de patotipos de *E. coli*, no presentan resistencia frente a la nitrofurantoína. Por lo general se usa para tratar infecciones de las vías urinarias ocasionadas por *E. coli* uropatógena. La nitrofurantoína actúa interfiriendo en los procesos enzimáticos de respiración celular, actúa inhibiendo la acetil – coenzima A bacteriana, impide el metabolismo glucídico y síntesis de pared bacteriana (27).

### **Resistencia de *E. coli* frente a antibióticos**

Las bacterias al tener una gran capacidad para adaptarse a muchos medios, suelen desarrollar mecanismos de resistencia contra los antibióticos permitiendo que los microorganismos se multipliquen en presencia del fármaco.

Existen dos clases de resistencia: la adquirida y la natural, la segunda se da cuando no ha existido una exposición previa frente a los antibióticos. Un claro ejemplo, son las diferencias que tienen las bacterias gram negativas y gram positivas en su membrana celular, de manera que hacen que los antibióticos betalactámicos no encuentren su blanco para fijarse y ejercer su efecto.

Por otra parte, la resistencia se presenta cuando la bacteria sufre modificaciones de forma espontánea ya sea por variaciones cromosómicas o por la obtención de genes resistentes y por lo general la resistencia de una bacteria se encuentra mediada por transposones, plásmidos e integrones que confieren la capacidad de transmitirse de un microorganismo a otro.

La mayoría de enterobacterias, así como los patotipos de *E. coli* son resistentes a los antibióticos hidrofóbicos, tales como rifamicinas, macrólidos y ácido fusídico. Los antimicrobianos más empleados en el tratamiento de las enfermedades ocasionadas por los patotipos de *E. Coli* son la amoxicilina, amoxicilina–ácido clavulánico, cefalosporinas, aminoglucósidos, trimetropim-sulfametoxazol, nitrofurantoína y quinolonas. Sin embargo, se recomienda siempre realizar un antibiograma para comprobar la sensibilidad de estos antibióticos debido a que esta bacteria tiene la capacidad de adquirir genes de resistencia.

Los antibióticos betalactámicos son el grupo de fármacos más utilizados, sin embargo, la resistencia que *E. coli* produce frente a los mismos es alarmante.

La automedicación y la mala información sobre el uso correcto de los antibióticos ha generado que esta bacteria genera resistencia contra la mayoría de los betalactámicos (28).

### **Mecanismos de resistencia de *E. coli* frente a antibióticos**

Los mecanismos de resistencia de las bacterias se dividen en tres:

#### **✓ Inactivación del antibiótico mediante enzimas**

Las bacterias producen enzimas capaces de producir cambios en la estructura de los antibióticos e inactivarlos. Varias bacterias pueden producir beta-lactamasas, que, se caracterizan por hidrolizar el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico dando como resultado que la célula se haga resistente a los medicamentos betalactámicos.

#### **✓ Mutaciones bacterianas que no permiten la llegada del antibiótico a la diana**

Las bacterias mutan, modificando estructuras como las porinas de la membrana celular, de este modo no permiten la entrada de varios antibióticos (betalactámicos) o intervienen en los sistemas de transporte (aminoglucósidos), lo que conlleva a que los medicamentos no actúen de manera eficaz y por ende no se dé su efecto terapéutico.

#### **✓ Alteración por parte de la bacteria de su diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico**

Este mecanismo se debe a modificaciones en el gen que codifica el propio blanco del antibiótico, como por ejemplo: alteraciones a nivel de la ADN girasa (mecanismo que explica resistencia a quinolonas) del ARNr 23S (resistencia a

macrólidos), de las enzimas de proteínas fijadoras de penicilina necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos).

En este caso un mismo microorganismo bacteriano puede originar distintos mecanismos de resistencia frente a 1 o varios antibióticos, así como también de la misma forma, un medicamento puede ser inactivado por diferentes mecanismos de diversos microorganismos bacterianos (29).

#### ✓ **Otros mecanismos de resistencia**

Esta enterobacteria se caracteriza por presentar alta resistencia a los betalactámicos, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloranfenicol y ácido nalidíxico (11).

Las BLEE son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación, al aztreonam, a las penicilinas, Las BLEE son inhibidas por los inhibidores de beta-lactamasas. Se han descrito varias familias de BLEE, y las más prevalentes son las TEM, SHV y CTX-M (son enzimas de la clase A de las beta-lactamasas, fueron aisladas por primera vez en *E. coli*), se produce la hidrólisis de estas enzimas, inactivando de esta manera el antibiótico antes de que genere cualquier efecto.

El mecanismo de resistencia en trimetoprim-sulfametoxazol, se da por que tienen genes que poseen la capacidad de codificar mutaciones en la enzima blanco.

En las tetraciclinas la resistencia es debido a que estos antibióticos tienen bombas de eflujo específicamente para tetraciclinas.

En cloranfenicol se da una inactivación enzimática, mediante una reacción de etanoilación y por remitenes determinados de cloranfenicol. En el caso de las quinolonas, como el ácido nalidíxico unas mutaciones puntuales, generan el cambio de aminoácidos en la enzima blanco del antibiótico, además la presencia de genes plasmídicos de resistencia antibiótica, no permite que los medicamentos generen su efecto terapéutico deseado (30).

#### **Inhibidores de las beta-lactamasas**

Los inhibidores de beta-lactamasas actúan reversiblemente o irreversiblemente inhibiendo a muchas de las enzimas bacterianas de las beta-lactamasas, pero exhibiendo poca actividad antibacteriana.

Ayudan a vencer la resistencia bacteriana al asociarse con antibióticos betalactámicos, su principal acción es proteger a las penicilinas de la inactivación por beta-lactamasas.

Los tres inhibidores de las beta-lactamasas usados clínicamente son el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Se encuentran asociados a las penicilinas en las siguientes concentraciones: ácido clavulánico 125 mg + amoxicilina 875 mg; sulbactam 0.5 g + ampicilina 1 g y tazobactam 0.5 g + piperacilina 4 g.

El mecanismo mediante el cual se da su acción es idéntico en los 3 tipos. Actúan como inhibidores “suicidas”, de tal manera, que se unen irreversiblemente al centro activo de la enzima de los formando un complejo (31).

### **Características de las enzimas beta-lactamasas**

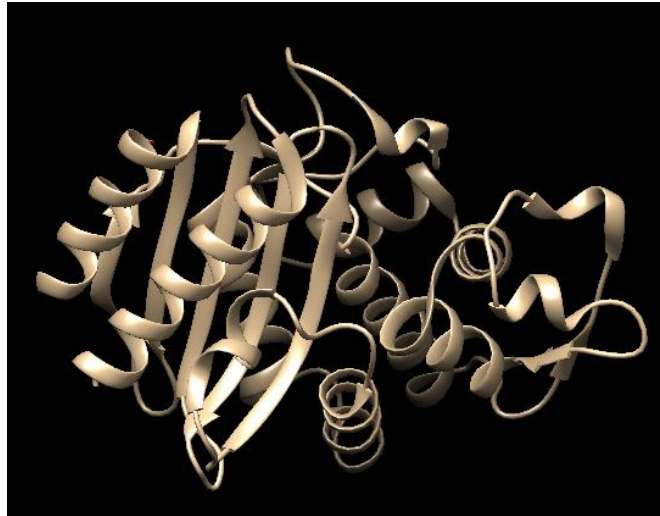
Las beta-lactamasas, son un tipo de proteínas especializadas, en su mayoría producidas por enterobacterias, que inactivan a los antibióticos betalactámicos al hidrolizar su anillo betalactámico

En 1940 se identificó la primera beta-lactamasa en una cepa de *E. coli* y partir de ese momento se han encontrado más de 190 enzimas de tipo beta-lactamasa. Por lo general estas enzimas se encuentran codificadas a los cromosomas de ciertas bacterias o suelen ser transmitidas horizontalmente por medio del ADN localizado en los integrones, transposones o plásmidos (32).

Según el peso, molecular, punto isoelectrico, estructura, secuencia de los aminoácidos y sitio activo se clasifican en cuatros clases: A, B, C y D.

La clase A, C y D se caracterizan por poseer una serina en su centro activo con la capacidad de mediar la hidrólisis, tienen secuencias de aminoácidos similares principalmente con las proteínas peptidasas que son las encargadas de unir la penicilina, siendo los sitios de acción de los betalactámicos.

Por otra parte, la clase B posee asociado al sitio activo de la enzima una o dos moléculas de zinc, estas son las metaloenzimas que son hidrolasas formadas por dos subdominios, cada uno separado por una hoja alfa y un par de hélices que caen hacia el exterior de cada una de ellas. Por medio de las moléculas de zinc actúan directamente atacando a los grupos carbonilo y amidas de los betalactámicos, a excepción de los monobactámicos (33).



**Figura 1:** Estructura de la enzima TEM-1.

**Fuente:** Protein Data Bank

### **Propiedades de la enzima beta-lactamasa TEM-1**

En el año 1963 se aisló una de las primeras beta-lactamasas TEM-1 en la bacteria *E. coli*, estas enzimas pertenecen a la clase A y están codificadas por plásmidos. Distintas bacterias se caracterizan por poseer el gen BLA<sub>TEM-1</sub>, el cual permite codificar a la enzima TEM-1, de tal manera que permite la transferencia de genes que son los responsables de la resistencia a los antibióticos, principalmente de las penicilinas y algunas cefalosporinas de primera generación. Estos genes pueden estar presentes en diferentes tipos de plásmidos con una frecuencia variable. Se le dio el nombre TEM en honor a una niña cuyo nombre era Temoniera, debido a que en esta paciente en su hemocultivo se aisló por primera vez una cepa de *E. Coli* productora de esta enzima, la frecuencia de este gen varía según la

especie y el lugar y se ha expandido entre un 20 y 60 % entre las enterobacterias (34).

Las beta-lactamasas del tipo TEM, específicamente las del tipo TEM-1 y TEM-2, son codificadas por los genes  $BLA_{TEM-1}$  y  $BLA_{TEM-2}$ , son las más comunes y similares, difieren únicamente debido a que uno de sus nucleótidos ha evolucionado, mutando cerca del sitio activo, esto hace que se altere la actividad enzimática de TEM-1 y TEM-2, provocando un gran espectro de actividad y concediendo a la bacteria mayor resistencia a los betalactámicos. La TEM-1 y TEM-2 poseen propiedades cinéticas idénticas, ambos isotipos difieren únicamente en un nucleótido y en un aminoácido que se encuentra en la posición 39 Glu-39→Lys que cambia el punto isoeléctrico de la proteína de 5,4 a 5,6 (34).

La resistencia por beta-lactamasas es muy común y en su gran totalidad suelen ser del tipo TEM-1, dichas enzimas poseen uno o varios reemplazos en la secuencia de sus aminoácidos, por esto se da un incremento en su capacidad de hidrolizar, pudiendo llegar a una hidrólisis enzimática no solo de las penicilinas, sino que también de los monobactámicos y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación (34).

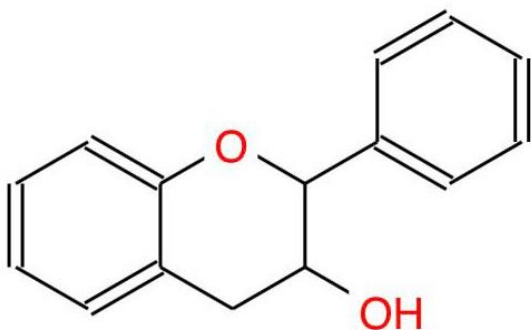
Varias beta-lactamasas de origen plasmídico son producidas por patógenos gram negativos, siendo la enzima más común la TEM-1. Esta es considerada una enzima totalmente eficiente, puede hidrolizar a la penicilina y a sus derivados tales como: ampicilina; carbenicilina y piperacilina. También es bastante activa frente a la cefalotina y la cefuroxima, pero presenta actividad insignificante contra cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona o aztreonam, y no posee ninguna acción contra las cefamicinas (cefoxitina o cefotetan) (35).

La acción de la enzima TEM-1 de *E. Coli* se puede inhibir con el uso concomitante de inhibidores de las beta-lactamasas con penicilinas y cefalosporinas en un 50% (36).

### **Aspectos generales sobre las catequinas**

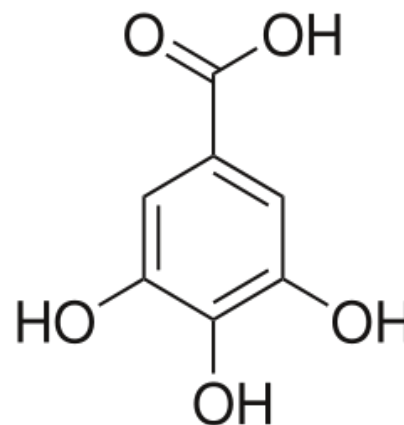
Las catequinas son un grupo de fitoquímicos de naturaleza fenólica, pertenecen a la familia de los flavonoides, son el tipo más común de las sustancias con estructura flavan-3-ol. Se le da el término catequina en honor al árbol *Cassia catecú* o árbol de la mimosa del cual se aisló el catecol por primera vez.

Las catequinas se componen de dos anillos de benceno (anillos A y B), unidos por un heterociclo de dihidropirano (anillo C), que contiene un hidroxilo en el carbono 3 [ 3 , 4 ] o varios hidroxilos, es por eso que se les conoce como compuestos fenólicos o polifenoles. Las catequinas a menudo se clasifican en grupos no aleados y galloilados, basándose en la ausencia o presencia de un grupo galato.



**Figura 2:** Estructura general del flavan-3-ol.

**Fuente:** Autora



**Figura 3:** Estructura del ácido gálico.

**Fuente:** Autora

Las catequinas son reconocidas por tener una actividad anticancerígena, además cumplen con otras propiedades como anti artríticas, antiinflamatorias, antiagregantes, inmunoestimulantes, hepatoprotectoras, antibacterianas y antifúngicas. Se encuentran distribuidas en varias plantas alimenticias como: cacao, vino, té y arándanos. El efecto astringente, que producen en la boca después de consumir productos ricos en café, como el chocolate o beber vino o té verde se debe en gran parte a la presencia de los compuestos fenólicos (37).

Un componente principal del té verde es un flavonol conocido como catequina, el cual posee cuatro tipos principales de catequinas: epicatequina (EC),

epigallocatequina (EGC), galato de epicatequina (ECG) y epigallocatequina galato (EGCG). En particular, la EGCG se encuentra solo en el té verde, que comprende entre el 40% y el 50% de las catequinas del té verde y se cree que es el principal responsable de las propiedades antioxidantes, antibacterianas y bactericidas del té verde. Epicatequina y epigallocatequina son los compuestos mayoritarios en frutas.

Desde el punto de vista nutricional, estos compuestos convocan gran interés a su alrededor por su contribución al mantenimiento de la salud. Muchas de sus propiedades beneficiosas están relacionadas con su actividad antioxidante, originada por la presencia de grupos fenólicos. Esta actividad tiene un papel protector contra las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y en los procesos de envejecimiento, tal como se ha estudiado en ensayos *in vivo* como *in vitro* (37, 38).

Se piensa que uno de los efectos más destacados de la epicatequina tiene gran relación con los niveles elevados de óxido nítrico en la sangre, ayudando a relajar los vasos sanguíneos y mejorar su flujo. Catequina y epicatequina se encuentran distribuidas en la naturaleza en cantidades variables y pequeñas en múltiples alimentos, siendo las fuentes principales las moras con un con 20 mg, damascos, cerezas y otros tipos de frutas; también poseen epicatequinas en el vino tinto, el té y chocolate, sobre todo el negro.

Recientemente, se ha observado que la epigallocatequina galato, procedente del té, posee gran actividad antiinflamatoria, en la aterosclerosis evita que se dé la inflamación crónica de los vasos sanguíneos, esto se da a través de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que regulan la actividad de una enzima del citocromo p450 y del glutatión. La catequina-3 galato y epigallocatequina-3 galato se acopla al receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR) e interfieren con la señal proliferativa (39).

Los extractos de esta planta usando solventes como etanol, éter y diclorometano por el método de difusión poseen actividad antibacteriana contra algunas cepas de *Staphylococcus aureus* y *E. coli* (40).

La actividad antibacteriana de las catequinas del té verde resulta de una variedad de mecanismos que pueden clasificarse ampliamente en los siguientes grupos:

- ✓ inhibición de factores de virulencia (toxinas y matriz extracelular)
- ✓ rotura de la pared celular y la membrana celular
- ✓ inhibición de enzimas intracelulares
- ✓ estrés oxidativo
- ✓ daño al ADN
- ✓ quelación del hierro (41).

Hoy en día el uso terapéutico de estos compuestos fenólicos del té son una forma de medicina alternativa. Las catequinas del té, específicamente las epigalocatequinas son inhibidores eficientes de la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR). Esta enzima es diana de un tipo de fármacos, los anti folatos, que son usados en quimioterapia contra el cáncer, contra infecciones bacterianas y, más recientemente, como anti inflamatorios. La actividad anti-folato *in vivo* de dos de estas catequinas, la epicatequina galato y la epigalocatequina galato también ha sido demostrada.

Las catequinas tienen una alta actividad antibacteriana contra varios microorganismos, la creciente evidencia de estudios *in vitro* ha demostrado los efectos antimicrobianos de las catequinas en bacterias gram positivas y gram negativas proponiendo mecanismos terapéuticos directos e indirectos. Muestran potencial como agentes antimicrobianos tópicos alternativos o complementarios para infecciones que son resistentes a la terapia antibiótica tradicional. Inhiben a *Pseudomona aeruginosa* y *E. Coli*, el efecto bactericida de EGCG es más fuerte en bacterias gram positivas que en gram negativas, debido a las diferentes cantidades de EGCG absorbidas por las células bacterianas (42, 43).

En *E. Coli* se ha observado que el galato de epigalocatequina en concentraciones superiores a 0,4 mg/ml y los extractos del té verde inhiben su

crecimiento, esto se debe a que las catequinas tienen una gran capacidad para dividirse en bicapas lipídicas de diversas composiciones, debido a este comportamiento, se ha planteado la hipótesis de que la participación de las catequinas dentro de las células bacterianas disminuye el empaquetamiento de lípidos y aumenta la expansión lateral de la membrana, lo que resulta en una disminución de la actividad de barrera de la membrana. La actividad bactericida de las catequinas, especialmente de EGCG y de las hojas del té verde sobre *E. coli enterohemorrágica* también es eficaz pues inhiben el crecimiento de la bacteria (44).

El nivel de eficacia de EGCG en los patotipos de esta bacteria difiere del patrón de resistencia a los antibióticos, lo que sugiere que EGCG podría usarse como una estrategia alternativa para matar las bacterias resistentes a uno o más antibióticos (45).

Además, varios estudios han presentado evidencia de que las catequinas muestran efectos sinérgicos con ciertos antibióticos, potenciando así la actividad de los antibióticos en bacterias resistentes.

### **Ensayos *in silico* en el descubrimiento de nuevos fármacos**

El diseño y descubrimiento de nuevos fármacos por métodos convencionales resulta un proceso complejo, costoso y demorado, el cual puede llegar a generar un gasto de millones de dólares en un largo periodo de tiempo. Por esto, se han creado las metodologías computacionales, volviéndose cruciales para el descubrimiento de fármacos.

Existen diferentes casos de éxito logrados con la aplicación de estos métodos:

El primer caso reportado fue el diseño de captopril, utilizado como inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina –ACE– para el tratamiento de la hipertensión. La información necesaria para su diseño consistió en el conocimiento de los mecanismos enzimáticos de ACE y del diseño del fármaco basado en los ligandos y basado en estructura.

Otro ejemplo consistió en el desarrollo de zanamivir que es un inhibidor de la neuraminidasa utilizado en el tratamiento y profilaxis de la influenza causada por los virus de la influenza A e influenza B. Mediante cristalografía de rayos X se obtuvo la estructura de la proteína lo que permitió conocer la topología del sitio activo para posteriormente desarrollar a este fármaco Inhibidor de esta enzima (46).

Cuando en el año 2003 ocurrió en China un brote del síndrome respiratorio agudo severo –SARS–, un grupo de investigadores identificó por medio de cribado virtual (el cribado virtual *in silico* consiste en el análisis computacional de bases de datos de diferentes moléculas accesibles que sirven para seleccionar potenciales candidatos de fármacos a partir de ellas.) que la cinanserina, un viejo fármaco antagonista de la serotonina, tiene efectos inhibitorios sobre la proteasa tipo 3C del coronavirus. Las subsecuentes pruebas experimentales demostrarían detener la infección y propagación por el virus SARS.

Los estudios *in silico* presentan diversas ventajas como la predicción de factores importantes entre los que destacan, la interacción molecular con enzimas y descriptores de toxicidad. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que estos estudios presentan ciertas debilidades, las cuales pueden limitar su poder predictivo. Es por eso, que se recomienda realizar estudios de correlación entre el estudio *in silico* en comparación con estudios *in vitro* e *in vivo*.

El acoplamiento molecular o docking molecular, es un método bioinformático que permite predecir energías y calcular computacionalmente modos de enlace entre ligandos y proteínas, predice la posición beneficiosa entre un ligando y una proteína en representaciones tridimensionales. Cuando más específica, estable y favorable sea una unión entre un ligando y su blanco, mayor actividad biológica tendrá, de modo que el ligando será más efectivo (47).

El acoplamiento molecular generalmente usa dos algoritmos separados. Tiene un algoritmo de muestreo inicial, que predice todas las configuraciones o conformaciones estructurales posibles de un ligando dentro del dominio o sitio activo de una proteína diana, y otro algoritmo con función de puntuación, que predice la

energía de unión entre el ligando y su receptor de ligando respectivo. En función del rendimiento de estos dos algoritmos, todas las configuraciones de unión del ligando y sus receptores se clasifican y ordenan según sus energías de unión. De tal manera que las funciones de puntuación pueden filtrar compuestos de grandes bases de datos en búsquedas virtuales, en donde la composición de un compuesto que obtenga la puntuación más alta corresponde a la composición con la energía de enlace más favorable para que la molécula sea considerada una buena cabeza de serie o líder.

Por último, el acoplamiento molecular, método que se va a utilizar en esta investigación, se ha convertido en una herramienta central en la búsqueda y selección virtual con base a la estructura, tanto de ligandos con actividad biológica como de posibles blancos terapéuticos, siendo de gran utilidad en el estudio de nuevos compuestos con efectos terapéuticos (48).

**CAPÍTULO II**  
**METODOLOGÍA**

## II.1. Diseño de investigación.

El presente estudio experimental in silico partió de un enfoque cuantitativo con el objetivo de evaluar las energías de unión entre las catequinas seleccionadas y la enzima beta-lactamasa TEM-1 de *E. coli*. Además, se estudiaron las interacciones entre los mejores compuestos y la diana, así como algunas de sus propiedades fisicoquímicas y farmacodinámicas.

## II.2. Universo - Población

Se utilizaron las diferentes estructuras de catequinas naturales obtenidas de una búsqueda bibliográfica las mismas que fueron preparadas para el acoplamiento molecular.

## II.3. Muestreo y muestra

De la base de datos UCSF ZINC 15 se descargaron 44 moléculas de catequinas de origen vegetal que fueron evaluadas sobre la enzima TEM-1 de *E. coli*.

## II.4 Criterios de selección

Para obtener la población se tomó en cuenta los siguientes criterios de selección:

- **Criterios de inclusión:** En este estudio, se incluyeron las moléculas de catequinas que fueron obtenidas del programa UCSF ZINC 15, que sean de origen vegetal y tengan la estructura del flavan-3-ol.
- **Criterios de exclusión:** Se excluyeron del estudio las moléculas sintéticas y las que no tenían la estructura del flavan-3-ol.

## II.5 Definición y clasificación de las variables

1. Energía libre de unión: cuantitativa

Definición: cambio de energía libre asociado con la unión del ligando con la diana.

Indicador: escala de energía libre de unión de Autodock Vina

Escala de medición: Kcal/mol

## 2. Interacción Ligando-Enzima: cualitativa

Definición: enlaces polares y no-polares, que se forman entre ligando y la diana.

Indicador: representación gráfica de los enlaces.

Escala de medición: ninguna

## 3. Propiedades ADME: cualitativa

Definición: conjunto de criterios para definir la Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción.

Indicador: resultado del análisis de Swiss ADME prediction

Escala de medición: ninguna

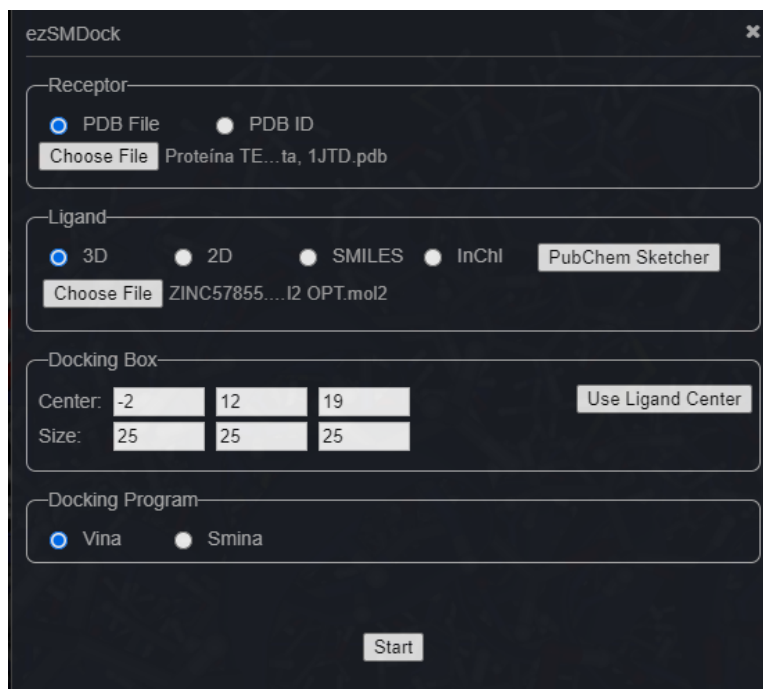
### **II.6 Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.**

Se realizó una búsqueda de las estructuras de catequinas naturales en la base de datos UCSF ZINC 15, el parámetro de búsqueda que se tomó en cuenta fue que todas las moléculas posean el núcleo general flavan-3-ol, obteniendo de este modo 44 moléculas en el estudio. Posteriormente en el programa Avogadro se les optimizó su estructura ajustando su protonación a pH 7,4 y minimizándolas usando el campo de fuerza MMFF94. Estas moléculas fueron guardadas en formato MOL2 para su posterior análisis de docking molecular.

La estructura de la enzima TEM-1 se descargó de Protein Data Bank (PDB). El código de la enzima utilizada es 1 JTD, esta fue preparada para los posteriores análisis usando el módulo Dockprep de USCF Chimera y guardada en el formato PDB.

El análisis de la evaluación de las afinidades de las catequinas por TEM-1 se realizó mediante el programa AutoDock Vina a través del servidor ezCADD (49). En este programa se cargó la proteína 1 JTD optimizada con cada uno de los 44 ligandos y

las coordenadas del centro activo para el docking box fueron: X: -2; Y: +12; Z: +19 y el tamaño en X, Y y Z fue 25. (Figura 4)



**Figura 4:** *Coordenadas del Box en el programa EzcaDD.*

**Fuente:** Autora

De las 44 moléculas se tomó en cuenta la energía de unión que corresponde a la pose 1 (valor de energía más negativo, equivalente a la mayor energía de unión), el cual fue guardado en formato pdbqt para posteriormente utilizarlo en el análisis de interacción de cada ligando.

Para el análisis de interacción y su visualización gráfica se usó el módulo de análisis de superficie y unión mediante el programa Biovia Discovery Studio. En este programa se cargó la proteína y la primera pose de cada uno de los ligandos. Observando de este modo en diagrama 2D, las interacciones que cada molécula generó.

El análisis de propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas se realizó mediante el servidor Swiss ADME disponibilizado por el Instituto Suizo de Bioinformática. Para esto, se usó la representación en 1 dimensión de las moléculas (códigos SMILES) de las mejores moléculas y se cargaron en SwissADME.

En este estudio a el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam que son conocidos como los inhibidores de las beta-lactamasas se les usó como controles positivos y preparados de la misma forma antes indicada para las catequinas.

### **II.6.1.- Procedimientos estadísticos y análisis de datos**

Todos los resultados de los análisis de Vina fueron descargados y registrados en plantillas de Excel. Los análisis de interacciones se realizaron usando el programa UCSF Chimera y los resultados se guardaron en formato .png. Los resultados de Swiss ADME fueron guardados en formato .csv y en .pdf.

Todas las energías de unión calculadas por AutoDock Vina se organizaron de forma jerárquica en tablas de Excel. Los análisis de interacciones se presentan como figuras que muestran la estructura terciaria de TEM-1 así como los aminoácidos involucrados en las interacciones con las catequinas seleccionadas.

### **II.7.- Aspectos éticos**

Por su naturaleza, el presente estudio no emplea ninguna muestra de origen biológico ni usa información sensible que pueda vulnerar algún aspecto bioético.

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **III.1 RESULTADOS**

##### **Evaluación de las energías de unión mediante Autodock Vina**

En este trabajo se seleccionaron 44 estructuras de catequinas de origen vegetal. Para evaluar las energías de estas moléculas se utilizó el software Autodock Vina, en donde se realizó el análisis de acoplamiento de cada una de las moléculas para conocer su energía de unión como se refleja en la tabla 1.

El análisis de las energías muestra que la media de energía del total de las 44 moléculas evaluadas es -7.1 Kcal/mol. Las 10 mejores moléculas presentan energías en un rango de -8,7 a -7,6 Kcal/mol, mientras que las 5 últimas moléculas presentan energías que van desde -6,5 a 6,0 Kcal/mol.

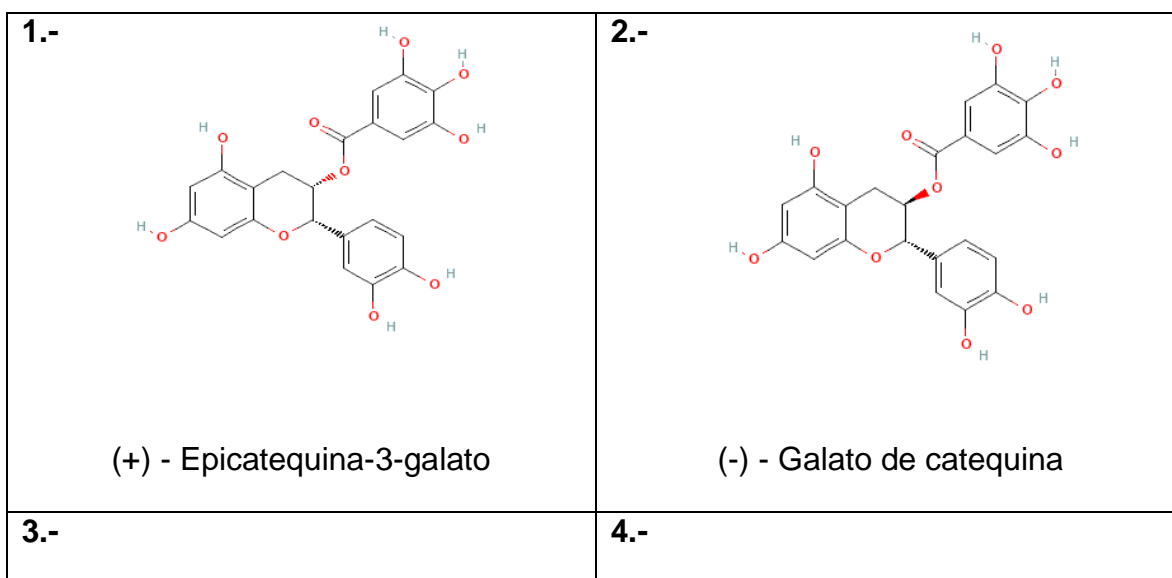
**Tabla 1:** Moléculas incluidas en el estudio y su energía de unión calculada por Autodock Vina

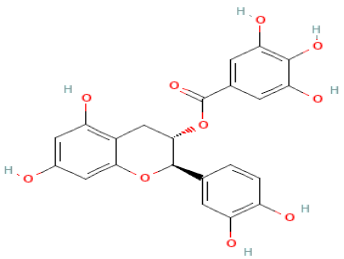
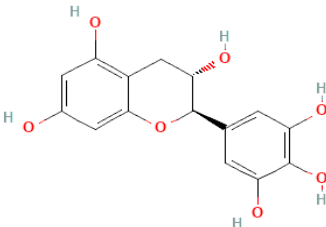
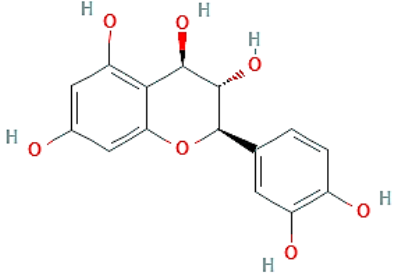
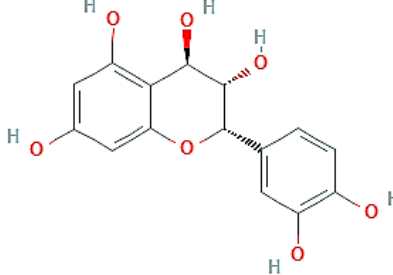
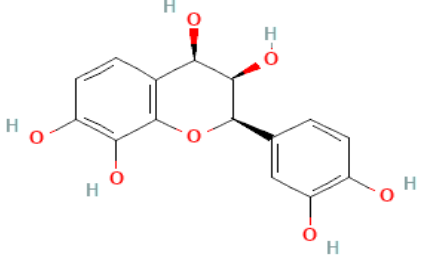
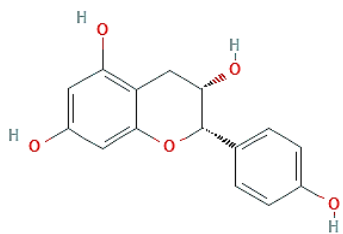
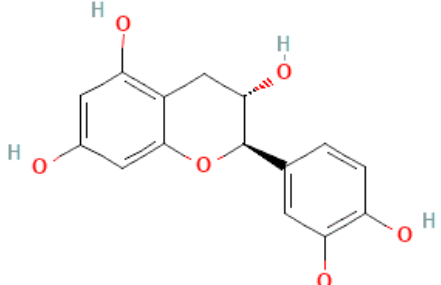
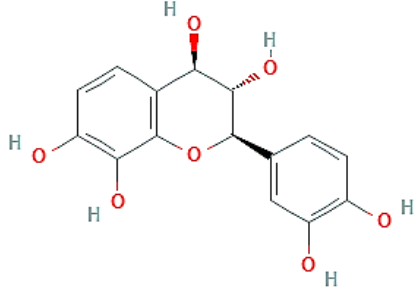
	Código Zinc	Nombre Común	Fórmula	Energía
1	ZINC4544252	(+) - Epicatequina-3-galato	C22H18O10	-8,7
2	ZINC8681494	(-) - Galato de catequina	C22H18O10	-8,4
3	ZINC4534390	(+) - Galato de catequina	C22H18O10	-8,3
4	ZINC3870338	(+) - Galocatequina	C15H14O7	-7,9
5	ZINC3591028	Leucocianidol	C15H14O7	-7,9
6	ZINC968223	(2S, 3S, 4R) -2- (3,4-dihidroxifenil) -3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,5,7-tetrol	C15H14O7	-7,8
7	ZINC4933656	Melacacidina	C15H14O7	-7,8
8	ZINC968078	Afzelequina	C15H14O5	-7,6
9	ZINC119983	Catequina	C15H14O6	-7,6
10	ZINC14436085	(2R, 3S, 4R) -2- (3,4-dihidroxifenil) -3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,7,8-tetrol	C15H14O7	-7,6
11	ZINC8681596	Epifisetinidol	C15H14O5	-7,5
12	ZINC3870336	Epigalocatequina	C15H14O7	-7,5
13	ZINC3870339	(+) - Epigalocatequina	C15H14O7	-7,5
14	ZINC3978494	Fisetinidol	C15H14O5	-7,4
15	ZINC6092138	Fisetinidol-4-ol	C15H14O6	-7,4
16	ZINC3870337	Galocatequina	C15H14O7	-7,4
17	ZINC14727929	5-desoxileucopelargonidina	C15H14O5	-7,3
18	ZINC119978	Catequina	C15H14O6	-7,3
19	ZINC119988	Catequina	C15H14O6	-7,3
20	ZINC4096940	Leucocianidol	C15H14O7	-7,3
21	ZINC36375220	(2S, 3R, 4R) -2- (3,4-dihidroxifenil) -3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,7,8-tetrol	C15H14O7	-7,3
22	ZINC36375222	(2S, 3S, 4R) -2- (3,4-dihidroxifenil) -3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,7,8-tetrol	C15H14O7	-7,3
23	ZINC14642912	4'-O-Metilcatequina	C16H16O6	-7,3
24	ZINC95004884	(2R, 3R) -dihidroflavonol	C15H12O3	-7,2
25	ZINC1721694	(-) - Epiáfzelequina	C15H14O5	-7,2
26	ZINC14643106	Epioritin-4alfa-ol	C15H14O6	-7,2
27	ZINC59727703	(-) - Leucofisetinidina	C15H14O6	-7,2
28	ZINC119985	Catequina	C15H14O6	-7,1
29	ZINC419	2beta- (3,4-Dihidroxifenil) -3,4-dihidro-2H-1-benzopiran-3alfa, 4alfa, 5,7-tetrol	C15H14O7	-7,0
30	ZINC1721693	(+) - Afzelequina	C15H14O5	-6,8
31	ZINC14814852	Tupichinol A	C17H18O4	-6,8
32	ZINC898356	(-) - Afzelequina	C15H14O5	-6,7
33	ZINC1647781	(6aR, 12aR) -7,12a-dihidro-6H-cromeno [3,2-c] cromen-6a-ol	C16H14O3	-6,7
34	ZINC4173801	7-metoxi-2-fenil-3-cromanol	C16H16O3	-6,7
35	ZINC1647793	(6aS, 12aR) -2-metoxi-7,12a-dihidro-6H-cromeno [3,2-c] cromen-6a-ol	C17H16O4	-6,7
36	ZINC1647783	(6aS, 12aR) -7,12a-dihidro-6H-cromeno [3,2-c] cromen-6a-ol	C16H14O3	-6,6
37	ZINC1647784	(6aS, 12aS) -7,12a-dihidro-6H-cromeno [3,2-c] cromen-6a-ol	C16H14O3	-6,6
38	ZINC30729434	cis-3-flavanol	C15H14O2	-6,5
39	ZINC33669818	(2S, 3R) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol	C16H16O3	-6,5
40	ZINC33669819	(2R, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol	C16H16O3	-6,5
41	ZINC381763	(2S, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol	C16H16O3	-6,4
42	ZINC381762	trans-3-flavanol	C15H14O2	-6,3
43	ZINC4649471	trans - (+) 3-flavanol	C15H14O2	-6,2
44	ZINC33899502	cis - (+) - 3-flavanol	C15H14O2	-6,0

De las 10 mejores estructuras todas poseen entre 4 a 7 grupos hidroxilos. De las cuales las 3 primeras moléculas: (+) – Epicatequina-3-galato (ZINC 4544252); (-) – Galato de catequina (ZINC 8681494) y (+) – Galato de catequina (ZINC 4534390), enantiómero de la segunda molécula, presentes en la planta *Camellia sinensis*,

poseen similar estructura, el mismo número de carbonos, hidrógenos y oxígenos, tienen la misma fórmula  $C_{22}H_{18}O_{10}$ ; además las 3 estructuras se encuentran esterificadas al ácido gálico.

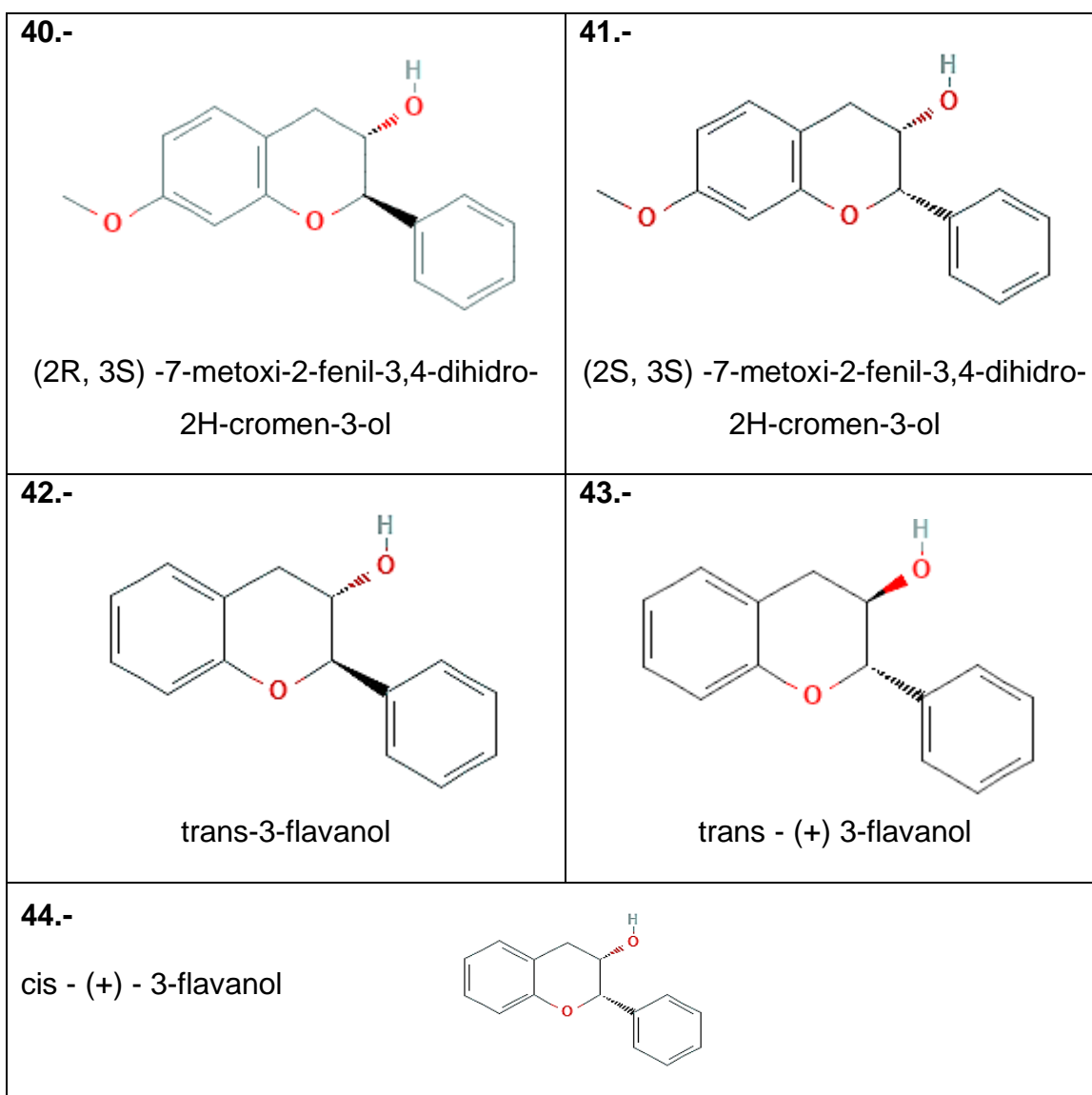
Las otras 7 estructuras poseen el mismo número de carbonos, y varían las posiciones de los grupos hidroxilos; la cuarta, quinta, sexta, séptima y décima molécula: (+) - galocatequina (ZINC3870338), compuesto principal del té verde; leucocianidol (ZINC 3591028), relacionado con las leucoantocianidinas, se puede encontrar principalmente en *Anadenanthera peregrina*; (2S, 3S, 4R) -2- (3,4-dihidroxifenil) -3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,5,7-tetrol (ZINC968223), presente en *Anadenanthera peregrina*, derivado de leucocianidol; melacacidina (ZINC 4933656), relacionado con las leucoantocianidinas, presente en *Acacia crassicarpa* y (2R, 3S, 4R) -2- (3,4-dihidroxifenil) -3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,7,8-tetrol (ZINC 14436085) presente en *Anadenanthera peregrina*, están unidas a 6 grupos funcionales -OH y su fórmula es la misma ( $C_{15}H_{14}O_7$ ). La octava molécula Afzelequina (ZINC968078), es un flavan-3-ol que se puede encontrar en *Bergenia ligulata*, su fórmula es ( $C_{15}H_{14}O_5$ ), posee 5 grupos funcionales -OH y la novena molécula Catequina (ZINC 119983), pertenece al grupo de los flavonoides es un antioxidante polifenólico con la fórmula ( $C_{15}H_{14}O_6$ ) está unida a 5 grupos hidroxilos. Además, las 10 primeras moléculas coinciden que todas poseen en la posición 3 del tercer anillo aromático un grupo hidroxilo como se indica en la figura 5.



 <p>(+) - Galato de catequina</p>	 <p>(+) - Galocatequina</p>
<p>5.-</p>  <p>Leucocianidol</p>	<p>6.-</p>  <p>2S, 3S, 4R)-2-(3,4-dihydroxifenil)-3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,5,7-tetrol</p>
<p>7.-</p>  <p>Melacacidina</p>	<p>8.-</p>  <p>Afzelequina</p>
<p>9.-</p>  <p>Catequina</p>	<p>10.-</p>  <p>(2R, 3S, 4R)-2-(3,4-dihydroxifenil)-3,4-dihidro-2H-cromeno-3,4,7,8-tetrol</p>

**Figura 5:** Estructuras químicas de las 10 moléculas con mayor energía de unión.

Por otro lado, las moléculas con menor afinidad a la enzima TEM-1 de *E. coli* presentan las siguientes características estructurales. Las últimas cinco moléculas, son similares, son estereoisómeros. Las moléculas (2R, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol (ZINC 33669819) y (2S, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol (ZINC 381763), derivados de la catequina, tiene un grupo hidroxilo y su fórmula es (C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>). Las últimas tres moléculas trans-3-flavanol (ZINC381762); trans - (+) 3-flavanol (ZINC4649471) y cis - (+) - 3-flavanol (ZINC33899502), se encuentran distribuidas en ciertos alimentos, tales como: semillas, flores, soja, frutas, verduras, tés, vino y cervezas, poseen un grupo hidroxilo y la misma fórmula (C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>) como se indica en la figura 6.



**Figura 6:** Estructuras químicas de las 5 moléculas con menor energía de unión.

**Fuente:** Autora

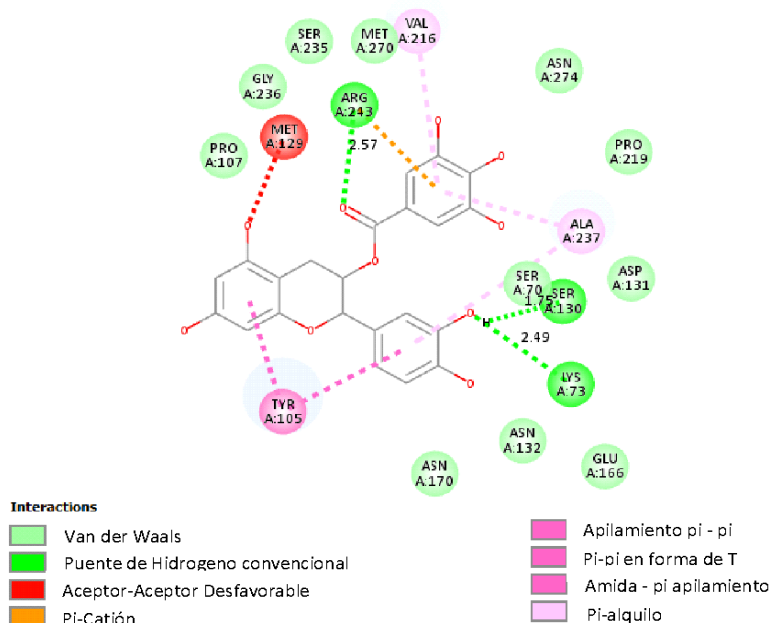
Adicionalmente se analizó la energía de unión de los controles positivos utilizados en esta investigación, conocidos como inhibidores de la beta-lactamasa, según los resultados utilizados en este estudio con el programa Autodock Vina, al comparar las energías de los controles positivos: ácido clavulánico (-5.8 Kcal/mol), sulbactam (-6.3 Kcal/mol) y tazobactam (-5.8 Kcal/mol) con la primera molécula, la energía que muestra (+) - Epicatequina-3-galato es 8.3 Kcal/mol, las energías de unión de esta molécula superan a los controles positivos.

### **Análisis de interacciones entre catequinas y la enzima TEM-1**

Además, se realizó el análisis de interacción de las 5 mejores moléculas con TEM-1 para observar las interacciones entre estas moléculas y los aminoácidos del centro activo de la enzima y que tipos de enlaces forman.

La primera molécula (+) - Epicatequina-3-galato, tuvo la mejor interacción molecular en el sitio activo de la enzima TEM-1, con una energía (-8.7 Kcal/mol) formó 3 puentes de hidrógeno convencionales, dos de ellos parten del grupo hidroxilo de la posición 3, el uno se une a la Lys 73 con una distancia de 2.49 Å y el otro se une a la Ser130 con una distancia de 1.75 Å, el tercer puente de hidrógeno se forma entre un enlace éster y la Arg 243 con una distancia de 2.57 Å.

Además, formó cinco interacciones no polares, un enlace Pi-cación, entre el amino de la Arg 243 y el anillo aromático de la molécula, también se dio una interacción desfavorable aceptor-aceptor, entre el oxígeno fenólico de la (+) - Epicatequina-3-galato con el enlace peptídico de la Met 129, una interacción pi-pi en forma de T entre los dos grupos aromáticos y la Tyr 105 y dos enlaces pi-alquilo entre el anillo aromático del ácido gálico y la Val 216 y Ala 237 como se refleja en la figura 7.

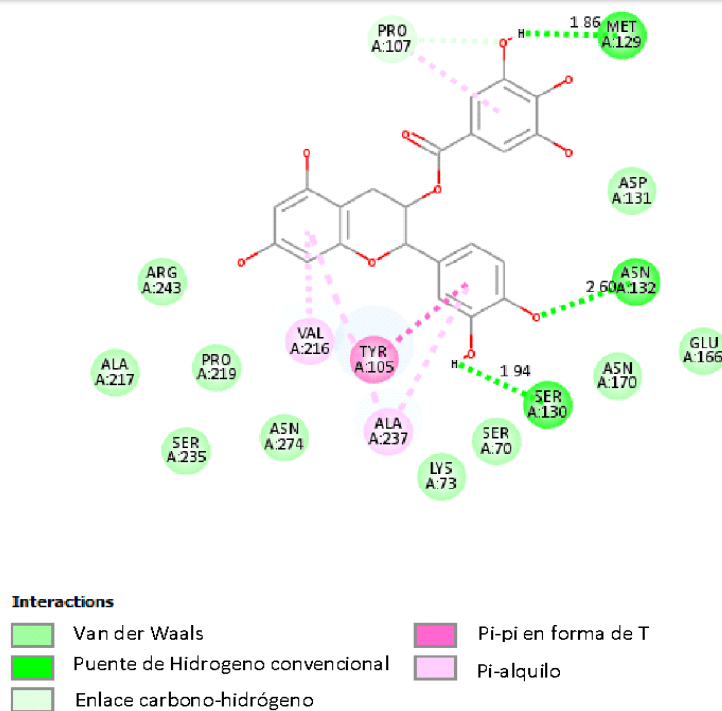


**Figura 7:** Análisis de Interacción de 3-galocatequina, molécula con mayor energía de unión con TEM-1.

**Fuente:** Autora

La segunda molécula (-) - Galato de catequina con una energía de -8.4 Kcal/mol forma de igual manera que la primera molécula tres puentes de hidrógeno convencionales, el primero parte de un grupo hidroxilo de la posición 3 del ácido gálico de la molécula y se une a la Met 129 con una distancia de 1.86 Å, el segundo se forma entre un enlace hidroxilo en la posición 3 y la Asn132 con una distancia de 2.60 Å y el último puente de hidrógeno se forma entre un hidroxilo en la posición 4 y una Ser130 con una distancia de 1.94 Å.

Adicionalmente tiene tres interacciones no polares, una interacción pi-pi en forma de T entre los dos grupos aromáticos y la Tyr 105 y dos enlaces pi-alkilo entre el anillo aromático y la Val 216 y Ala 237 como se refleja en la figura 8.

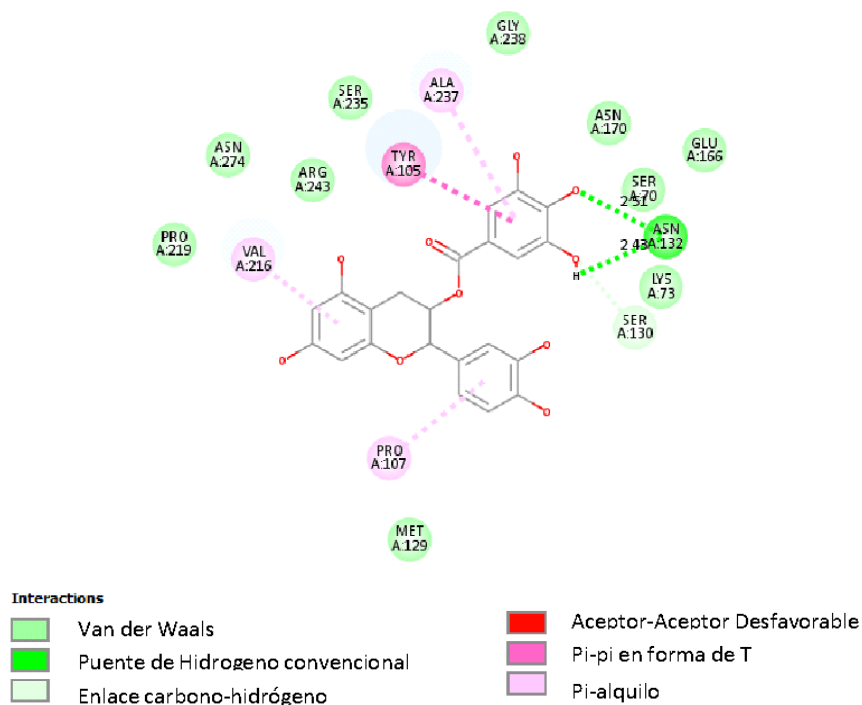


**Figura 8:** Análisis de Interacción de la segunda molécula con mejor energía.

**Fuente:** Autora

La tercera molécula (+) - Galato de catequina, con una energía de -8.3 Kcal/mol, formó 2 puentes de hidrógenos convencionales, los dos parten del ácido gálico, interaccionan los hidroxilos de la posición 2 y 3 con la Asn 132, la unión de la posición 2 tiene una distancia de 2.51 Å y el de la posición 3 tiene una distancia de 2.43 Å.

Formó también 4 interacciones no polares, una interacción pi-pi en forma de T entre el anillo aromático del ácido gálico y la Tyr 105 y tres enlaces pi-alkilo entre los anillos aromáticos y la Ala 237, Val 216 y Pro 107 como se refleja en la figura 9.

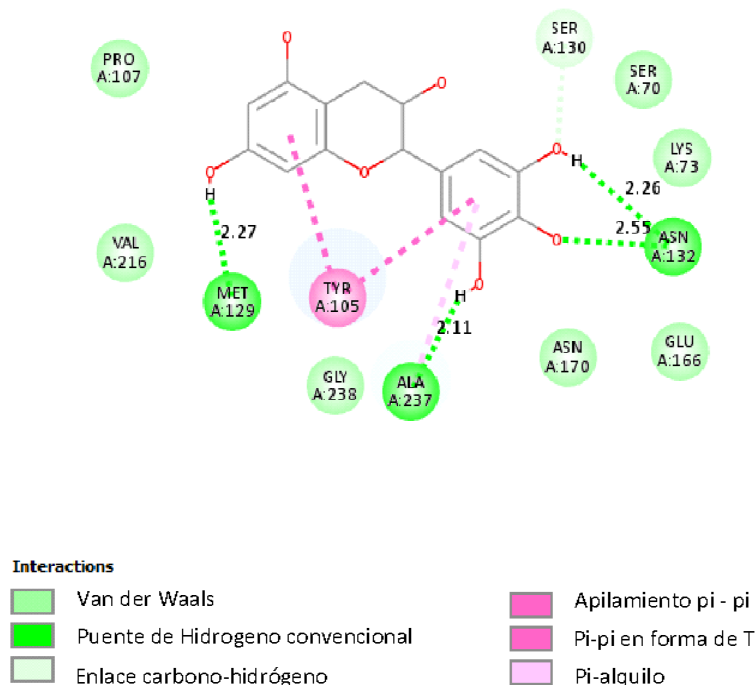


**Figura 9:** Análisis de Interacción de la tercera molécula con mejor energía.

**Fuente:** Autora

La cuarta molécula (+) - Galocatequina con una energía de -7.9 formó 4 puentes de hidrógeno: 2 de ellos con el mismo aminoácido, la Asn132 se une al hidroxilo de la posición 2 a una distancia de 2.26 Å y al hidroxilo de la posición 3 a una distancia de 2.55 Å. El tercer puente de hidrógeno se forma entre un enlace hidroxilo en la posición 4 y la Ala 237 a una distancia de 2.11 Å y el último puente se forma entre un enlace hidroxilo y la Met 129 a una distancia de 2.27 Å.

Adicionalmente tiene muy pocas interacciones no polares, una interacción pi-pi en forma de T entre el primer y tercer anillo aromático de la estructura, como se refleja en la figura 10.



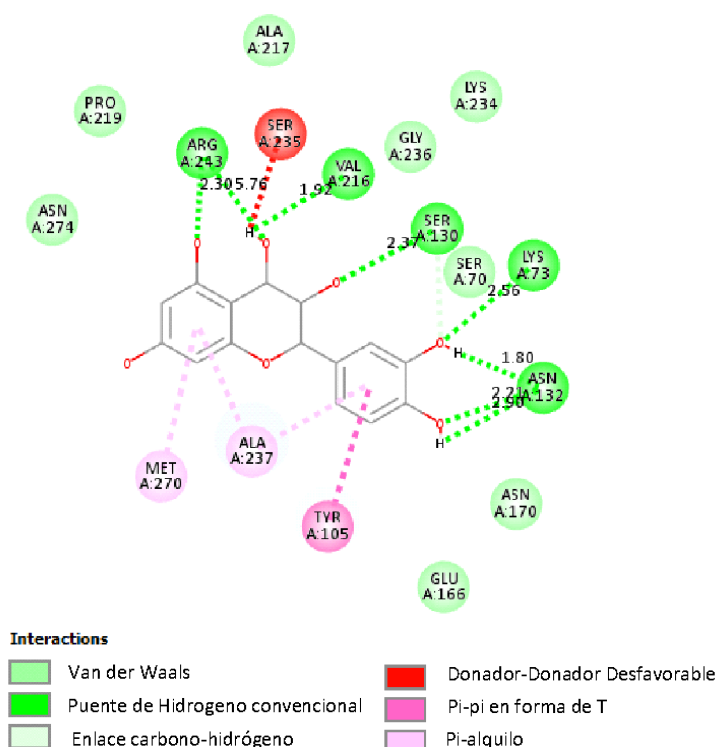
**Figura 10:** Análisis de Interacción de la cuarta molécula con mejor energía.

**Fuente:** Autora

Y por último la quinta mejor molécula Leucocianidol, tiene una energía de 7.9 Kcal/mol, forma 8 puentes de hidrógeno convencionales, el primero se da entre un enlace hidroxilo de la posición uno del primer anillo y la Arg 243 a una distancia de 2.30 Å, el segundo y tercero interacciona un hidroxilo ubicado en la posición uno del segundo anillo con la Arg 243 a una mayor distancia de 5.76 Å y con la Val 216 a una distancia de 1.92 Å, el cuarto puente de hidrógeno se forma entre un enlace hidroxilo en la posición dos del segundo anillo y la Ser130 a una distancia de 2.37 Å. El quinto y sexto puente de hidrógeno se da entre el grupo hidroxilo de la posición dos del tercer anillo con la Lys 73 a una distancia de 2.56 Å y la Asn132 a una distancia de 1.80 Å y los dos últimos puentes de hidrógeno se originan entre el mismo grupo hidroxilo de la posición tres del tercer anillo con el mismo aminoácido Asn132, el uno a una distancia de 2.21 Å y el otro a una distancia de 2.90 Å.

Además, posee 4 interacciones no polares, dos enlaces pi-alkilo entre el primer anillo aromático con la Met 270 y Ala 237, una interacción pi-pi en forma de T entre el tercer grupo aromático y la Tyr 105 y un enlace desfavorable donador-donador

entre el grupo hidroxilo de la posición uno del segundo anillo aromático y la Ser 235 como se refleja en la figura 11.

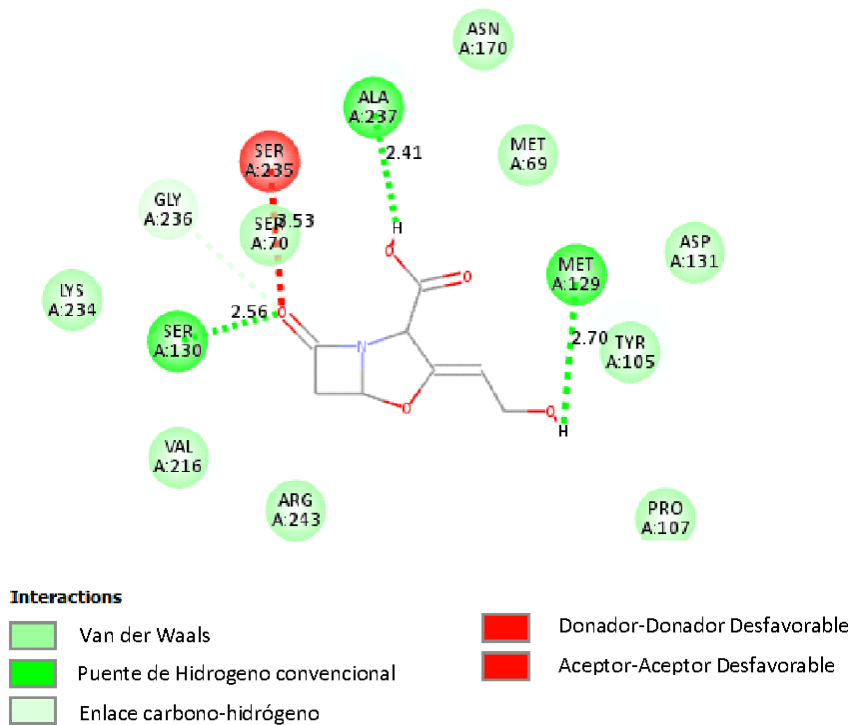


**Figura 11:** Análisis de Interacción de la quinta molécula con mejor energía.

**Fuente:** Autora

Además, se realizó el análisis de interacción de los controles, en donde se observó que el ácido clavulánico formó 3 puentes de hidrógeno convencionales, el primero se dio entre un enlace de tipo éster y la Ser130 a una distancia de 2.56 Å, el segundo y tercero entre un hidroxilo con la Ala 237 a una distancia de 2.41 Å y la Met 129 a una distancia de 2.70 Å.

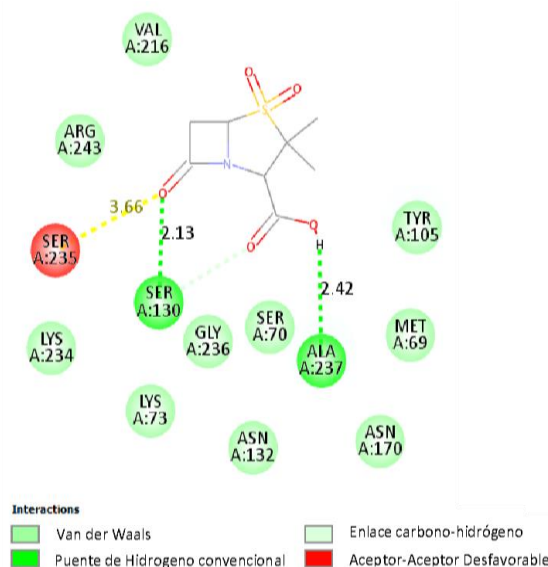
También, se originó una interacción desfavorable donador-donador y aceptor-aceptor entre la Ser 235 y un enlace de tipo éster como se refleja en la figura 12.



**Figura 12:** Análisis de Interacción del ácido clavulánico.

**Fuente:** Autora

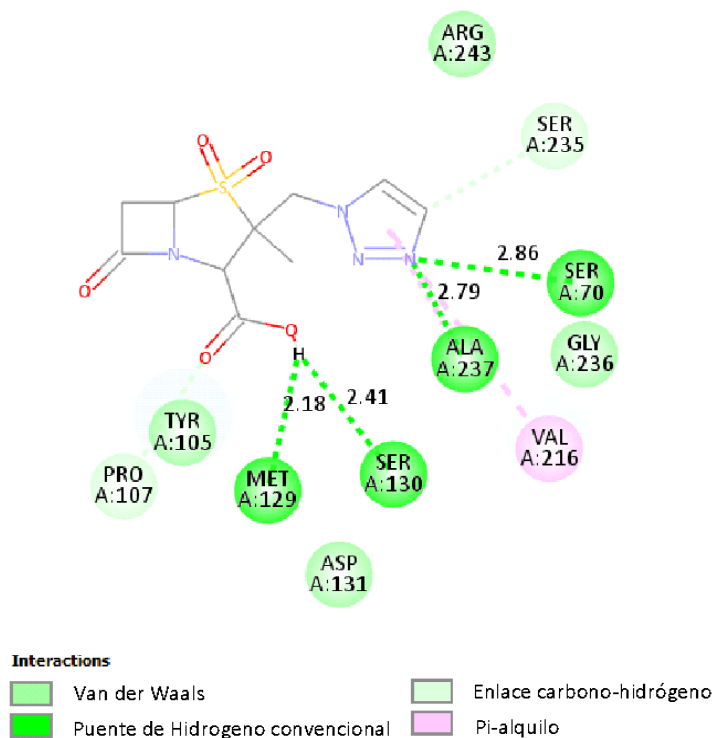
El sulbactam, formó dos puentes de hidrógeno convencionales, el uno entre un enlace de tipo éster y la Ser 130 a una distancia de 2.13 Å y el otro entre un grupo hidroxilo y la Ala 237 a una distancia de 2.42 Å. También se dio una interacción desfavorable aceptor-aceptor entre en enlace éster y la Ser 235 como se refleja en la figura 13.



**Figura 13:** Análisis de Interacción del sulbactam.

**Fuente:** Autora

Y por último el tazobactam, formó 4 puentes de hidrógeno convencionales, los dos primeros se dieron entre el enlace hidroxilo con la Met 129 a una distancia de 2.18 Å y con la Ser130 a una distancia de 2.41 Å y los otros dos se originaron entre el nitrógeno con la Ala 237 a una distancia de 2.79 y con la Ser70 a una distancia de 2.86 Å. Además, se dio una interacción no polar, un enlace pi-alquilo entre la pentosa y la Val 216 como se indica en la figura 14.

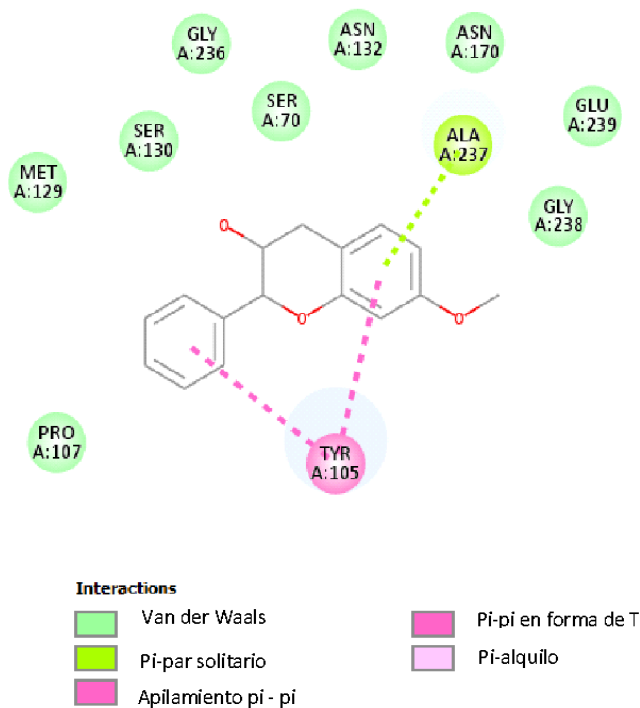


**Figura 14:** Análisis de Interacción del tazobactam.

**Fuente:** Autora

### El análisis de interacción de las 5 moléculas con menor afinidad por TEM-1

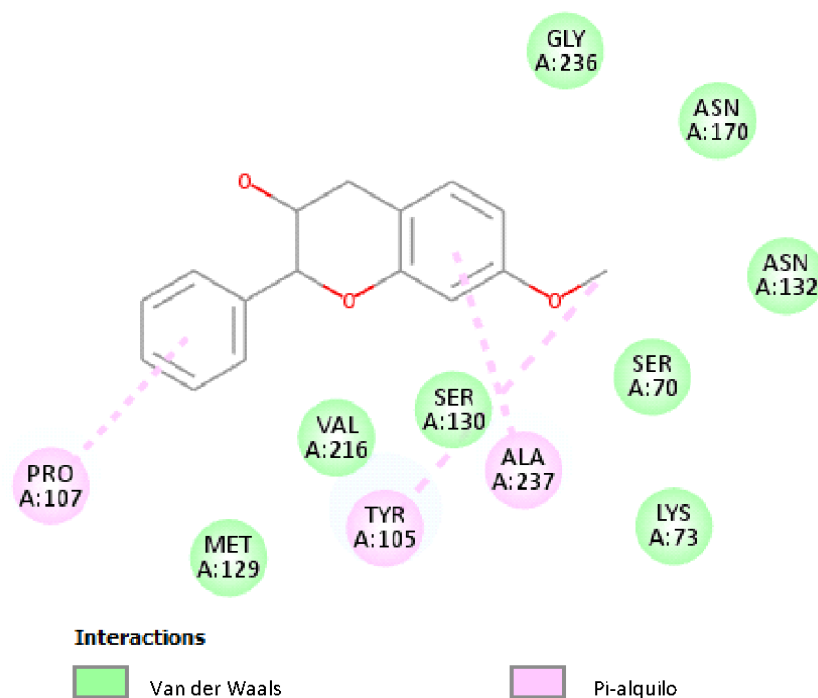
Para complementar el análisis comparativo de las catequinas se analizaron las interacciones de las moléculas con menor afinidad por TEM-1. (2R, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol, con una energía de -6.5 Kcal/mol, no formó ningún puente de hidrógeno convencional. Sin embargo, se dieron 2 interacciones no polares, una interacción pi-pi en forma de T entre el primer y tercer anillo aromático y un enlace pi-par solitario entre el tercer anillo aromático y la Ala 237 como se indica en la figura 15.



**Figura 15:** Análisis de Interacción de la molécula ZINC33669819 con menor energía

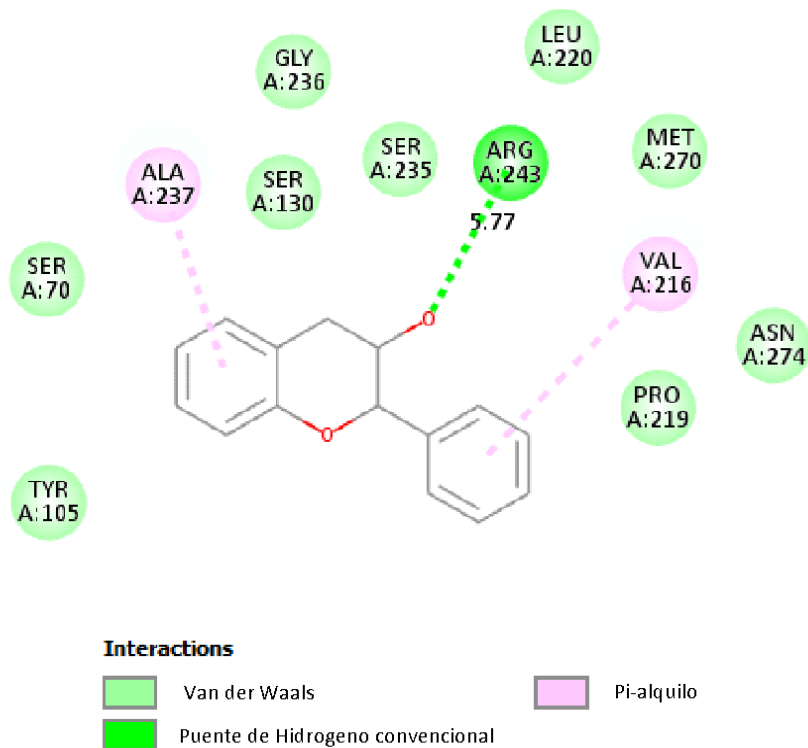
**Fuente:** Autora

(2S, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol, con una energía de -6.4 Kcal/mol, no formó ningún puente de hidrógeno convencional, sin embargo, se dieron tres enlaces pi-alquilo uno entre el primer anillo aromático y la Pro 107, otro entre el tercer anillo y la Ala 237 y el último entre cómo se refleja en la figura 16.



**Figura 16:** Análisis de Interacción de la molécula ZINC 381763 con menor energía  
**Fuente:** Autora

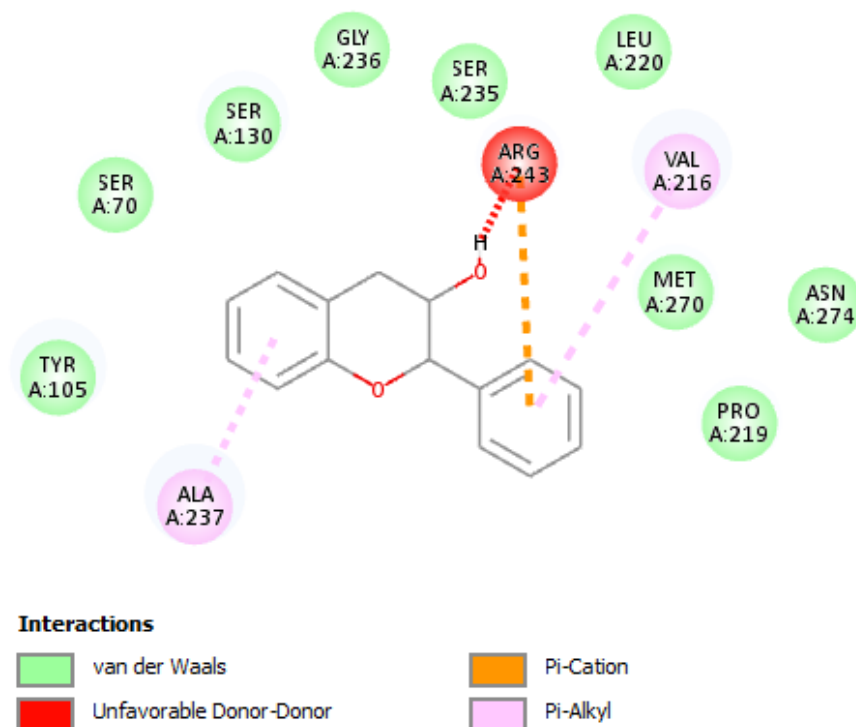
Trans-3-flavanol, con una energía de -6.3 Kcal/mol, formó un puente de hidrógeno convencional entre la Arg 243 y un enlace de tipo éster con una distancia de 5.77 Å, además se dieron dos enlaces pi-alquilo, el primero entre el primer anillo aromático y la Ala 237 y el segundo entre el tercer anillo aromático y la Val 216, cómo se refleja en la figura 17.



**Figura 17:** Análisis de Interacción de la molécula ZINC 381762 con menor energía.

**Fuente:** Autora

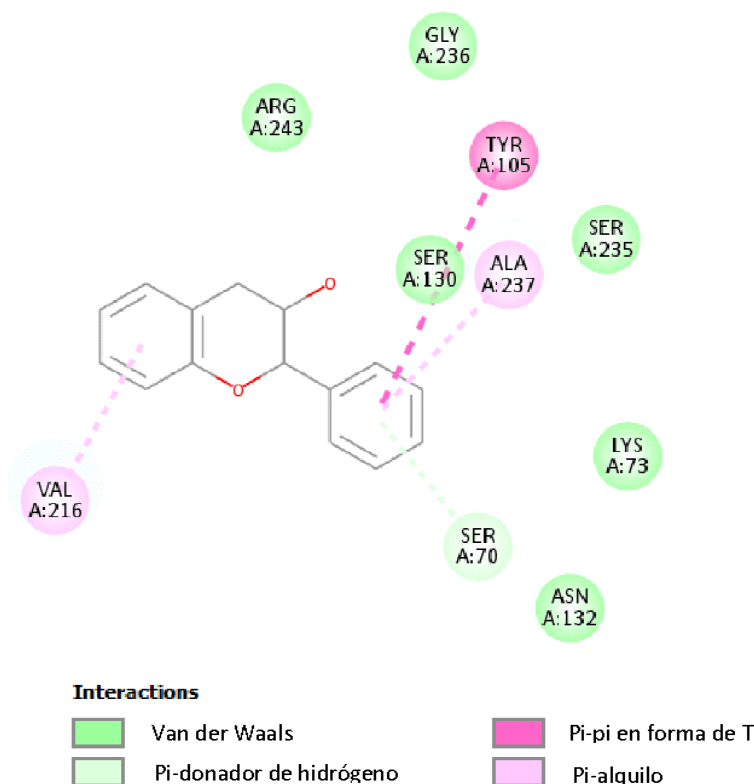
Trans - (+) 3-flavanol con una energía de -6.2 Kcal/mol, no formó un puente de hidrógeno convencional, sin embargo, formó varias interacciones no polares, dos enlaces pi-alquiló, el primero entre el primer anillo aromático y la Ala 237 y el segundo entre el tercer anillo aromático y la Val 216, una interacción donador-donador desfavorable entre el grupo hidroxilo del segundo anillo aromático y la Arg 243 y un enlace pi-cación, entre el amino de la Arg 243 y el tercer anillo aromático de la molécula cómo se refleja en la figura 18.



**Figura 18:** Análisis de Interacción de la molécula ZINC 4649471 con menor energía.

**Fuente:** Autora

Y por último la molécula cis - (+) - 3-flavanol, con una energía de -6.0 Kcal/mol no formo ningún puente de hidrogeno, pero tiene 3 interacciones no polares. Una interacción pi-pi en forma de T entre un grupo aromático y la Tyr 105, dos enlaces pi-alquilo entre un anillo aromático y la Val 216 y la Ala 237 como se refleja en la figura 19.



**Figura 19:** Análisis de Interacción de la ZINC 33899502 con menor energía.

**Fuente:** Autora

### Predicción de las propiedades ADME de las catequinas

Para complementar la información de las 5 moléculas con mayor energía de unión adicionalmente se realizó la predicción de sus propiedades ADME en el programa Swiss ADME para evaluar la probabilidad de que se puedan convertir en fármacos, encontrando de esta manera los siguientes resultados:

Las tres primeras moléculas: (+) - epicatequina-3-galato, (-) - galato de catequina y (+) - galato de catequina tienen las mismas características farmacocinéticas: absorción gastrointestinal baja, no son permeables a través de la barrera hematoencefálica, no son sustrato de la glicoproteína P y no inhiben a ningún citocromo.

Las siguientes moléculas: (+) – galocatequina y leucocianidol presenta las siguientes características: absorción gastrointestinal alta, no son permeables a través de la barrera hematoencefálica, no son sustrato de la glicoproteína P, no inhiben a ningún citocromo.

Y en cuanto a la probabilidad de que puedan convertirse en un fármaco, en las reglas de Lipinski las cinco primeras moléculas tienen una violación debido a que poseen más de 5 grupos donadores de puentes de hidrogeno como se refleja en la tabla 2.

**Tabla 2:** Características farmacocinéticas de las 5 mejores moléculas

	1	2	3	4	5
	ZINC4544252	ZINC8681494	ZINC4534390	ZINC3870338	ZINC3591028
ABSORCIÓN GI	Baja	Baja	Baja	Alta	Alta
PERMEABILIDAD BHE	No	No	No	No	No
SUBSTRATO DE LA gp-P	No	No	No	No	No
CYP1A2 inhibitor	No	No	No	No	No
CYP2C19 inhibitor	No	No	No	No	No
CYP2C9 inhibitor	No	No	No	No	No
CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	No
CYP3A4 inhibitor	No	No	No	No	No
<b>Lipinski</b>	Si; 1 violación: NHorOH>5	Si; 1 violación: NHorOH>5	Si; 1 violación: NHorOH>5	Si; 1 violación: NHorOH>5	Si; 1 violación: NHorOH>5

Del mismo modo, de las 5 últimas moléculas con menor energía, se realizó la predicción de las propiedades ADME y la probabilidad de que pueda convertirse en un fármaco en el programa Swiss ADME, encontrando de esta manera los siguientes resultados:

Las moléculas 40 y 41 (2R, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol) y (2S,3S)-7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol presentan: absorción gastrointestinal alta, son permeables a través de la barrera hematoencefálica, no son sustrato de la glicoproteína P, no inhiben a los citocromos CYP1A2, CYP2C9, y CYP3A4, pero si inhiben a los citocromos CYP2C19 y CYP2D6.

Las moléculas 42,43 y 44: trans-3-flavanol, trans - (+) 3-flavanol, cis - (+) - 3-flavanol tienen las mismas características farmacocinéticas y probabilidad de que sean un fármaco: absorción gastrointestinal alta, son permeables a través de la barrera

hematoencefálica, no son sustrato de la glicoproteína P, no inhiben a los citocromos CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 y CYP3A4, pero si inhiben al citocromo CYP2D6.

En cuanto a las reglas de Lipinski las cinco últimas moléculas no tienen ninguna violación como se refleja en la tabla 3.

**Tabla 3:** Características farmacocinéticas de las 5 moléculas con menor energía.

	40	41	42	43	44
	ZINC33669819	ZINC381763	ZINC381762	ZINC4649471	ZINC33899502
ABSORCIÓN GI	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta
PERMEABILIDAD BHE	Si	Si	Si	Si	Si
SUBSTRATO DE LA gp-P	No	No	No	No	No
CYP1A2 inhibidor	No	No	No	No	No
CYP2C19 inhibidor	Si	Si	No	No	No
CYP2C9 inhibidor	No	No	No	No	No
CYP2D6 inhibidor	Si	Si	Si	Si	Si
CYP3A4 inhibidor	No	No	No	No	No
<b>Lipinski</b>	Si; 0 violación	Si; 0 violación	Si; 0 violación	Si; 0 violación	Si; 0 violación

### III. 2 DISCUSIÓN

Las catequinas son un tipo de antioxidantes polis fenólicos que provienen de las plantas, este término se utiliza para referirse a la familia de los flavonoides y al subgrupo de los flavan-3-oles, son compuestos que se encuentran repartidos en gran medida en la naturaleza, mayoritariamente en el vino y el cacao. Epicatequina es el compuesto mayoritario en frutas, en cambio el galato de catequina aparece principalmente en las hojas del té verde.

Diferentes investigaciones científicas reportan una gran variedad de compuestos fenólicos disponibles en el reino vegetal, la presencia de estos grupos hidroxilos en las catequinas y sus derivados muestran actividad antioxidante efectiva en estudios *in vitro* e *in vivo*. Hoy en día esta clase de sustancias fitoquímicas son altamente interesantes por su contenido nutricional, debido a que ayudan y contribuyen a mantener la salud del ser humano, por otra parte, las catequinas han demostrado tener actividad antibacteriana (50).

En los últimos años, el incremento desmedido de la resistencia de las bacterias a los antibióticos ha generado fallas terapéuticas, por lo que se ha visto necesario

buscar e investigar nuevas sustancias y moléculas con una gran relación en su farmacodinamia y farmacocinética.

Nuevos estudios se delimitan en la búsqueda de inhibidores que sean capaces de ejercer una acción sobre la totalidad de las beta-lactamasas. Si bien es cierto, no se ha obtenido una eficacia del 100% debido a que cada vez aparecen nuevos tipos de enzimas bacterianas con la capacidad de inactivar a los medicamentos, sin embargo, se han conseguido grandes avances que ayudan en este tipo de resistencia, así como también, la combinación adecuada con diversos betalactámicos ha aumentado su potencial uso clínico.

Hasta donde conocemos, existen relativamente pocos trabajos que hayan evaluado nuevos inhibidores de TEM-1. Uno de estos estudios expuso que los boronatos bicíclicos tienen la capacidad de inhibir la acción de beta-lactamasas de los grupos de Ambler (Clase A, B, C y D), tales como TEM-1, los nuevos inhibidores de betalactamasas pertenecen al grupo de boronatos cíclicos como: taniborbactam, vaborbactam y QPX 7728 (51,52).

Los resultados de la presente investigación indican que las catequinas que se encuentran esterificadas con el ácido gálico presentan mayor energía de unión al centro activo de la enzima TEM-1 de *E. coli*.

Aunque no se ha reportado estudios con catequinas y TEM-1, diferentes estudios han demostrado que algunas catequinas presentan actividad bactericida sobre *E. coli*, siendo más efectiva la epigalocatequina la cual inhibe el crecimiento de diferentes bacterias con concentraciones, dosis y tiempos de exposición menores que la catequina (53).

El análisis comparativo de las catequinas con mayor afinidad muestra que la presencia de hidroxilos favorece la acción inhibitoria sobre la enzima TEM-1 de *E. Coli*. Aparentemente en las 10 moléculas con mejor energía de unión sus numerosos grupos hidroxilos benefician la unión de los ligandos al centro activo de la enzima TEM-1 de *E. coli*. Al comparar con las 5 moléculas con menor energía se puede observar que estas presentan muy pocos grupos hidroxilos, lo que podría

explicar su menor energía de unión. Sin embargo, estos resultados deberán ser corroborados con programas adicionales.

Por otra parte, al realizar el análisis de interacción de las 5 mejores moléculas con la enzima TEM-1 de *E. coli*: (+) - Epicatequina-3-galato, es la molécula con mayor energía y mejor interacción molecular en el sitio activo de la enzima, formó varias interacciones como puentes de hidrógeno convencionales y varios enlaces no polares lo que le colocó en un primer lugar.

Las otras 2 mejores moléculas: (-) - Galato de catequina y (+) - Galato de catequina de igual manera formaron varios puentes de hidrógenos convencionales y enlaces no polares, además las 3 primeras moléculas tienen en común la esterificación con el ácido gálico lo que ayuda a que tengan mejor energía de unión.

Las 2 moléculas restantes con mejor energía (+) – Galocatequina y Leucocianidol, no se encuentran esterificadas al ácido gálico, sin embargo, forman más puentes de hidrógeno que las 3 primeras moléculas y varios enlaces no polares, lo que les ayuda a estar entre las mejores moléculas.

Se debe tener en cuenta que en las 5 mejores moléculas la presencia de los puentes de hidrógeno favorece la energía de unión debido a que estos puede aportar alrededor de 2 Kcal/mol, además que las distancias de los puentes de hidrógenos generados son menores a 3.5 Å lo que ayuda a que sea una interacción efectiva.

Al comparar las cinco moléculas con mayor energía de unión y las cinco moléculas con menor energía de unión, se puede observar que la molécula con menor energía como; trans-3-flavanol, presenta un solo puente de hidrógeno convencional con una distancia mayor a 3.5 Å lo que no favorece la interacción para la energía de unión.

Por otra parte, las cuatro últimas moléculas restantes: (2R, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol; (2S, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol; trans - (+) 3-flavanol y cis - (+) - 3-flavanol no presentan ningún puente de hidrogeno, por lo que su energía de unión disminuye, colocándose entre las últimas moléculas.

En cuanto a las propiedades ADME de las 5 mejores moléculas: (+) - epicatequina-3-galato; (-) - galato de catequina y (+) - galato de catequina presentan las mismas

características farmacocinéticas, su absorción gastrointestinal es baja. Esto puede ser beneficioso, cuando se precise que este compuesto específicamente actúe en infecciones localizadas en el tracto gastrointestinal para minimizar la posibilidad de efectos adversos sistémicos.

Las moléculas (+) – galocatequina y leucocianidol, tienen una absorción gastrointestinal alta, esto puede ser útil cuando se quiere que actúe para una infección que se requiera acción sistémica (54).

Por otra parte, ninguna de estas cinco moléculas atraviesa la barrera hematoencefálica, lo que impide que estas moléculas lleguen al cerebro, esto puede ser beneficioso en infecciones que no involucren el SNC ya que al no atravesar la barrera hematoencefálica se reduce la probabilidad de reacciones adversas en el sistema nervioso central (55).

En el programa utilizado para evaluar estas moléculas, Swiss ADME, en cuánto a la glicoproteína P que analiza es la humana más no la bacteriana.

La glicoproteína P está presente en las bacterias y en nuestras células, el papel que cumple es detoxificar las células de varias moléculas incluyendo antibióticos. Estas a veces juegan en nuestra contra, porque si se requiere que un fármaco actúe sobre bacterias intracelulares, estas glicoproteínas P pueden reducir la concentración efectiva del fármaco en la célula (56).

En el caso de las 5 mejores moléculas evaluadas en este estudio, al no ser sustratos de la glicoproteína P muestra un perfil adecuado y además hay que considerar que *E. coli* no es una bacteria intracelular.

También se debe tener en cuenta que los citocromos son enzimas que metabolizan varios fármacos, si alguna de estas moléculas fueran inhibidores de algún citocromo y el paciente estaría medicado con otro fármaco que sea metabolizado por el citocromo podría generar interacciones. Sin embargo, en el caso de estas moléculas ninguna inhibe algún citocromo, al igual que los inhibidores de las beta-lactamasa, por lo tanto, aparentemente se podría administrar de ser el caso concomitantemente con otros fármacos que sean metabolizados por estos citocromos (57).

En cuanto a las propiedades de una molécula para que pueda ser considerada un fármaco, es importante tener en cuenta la “regla de cinco” de Lipinski. Esta establece que para que un compuesto pueda ser suministrado por vía oral debe cumplir con las siguientes condiciones:

1. Poseer un peso molecular por debajo de 500
2. Poseer un coeficiente de partición octanol-agua debajo de 5
3. No tener más de 5 átomos donadores de puentes de hidrógeno
4. No tener más de 10 átomos aceptores de puentes de hidrógeno (58).

En esta investigación, las 5 mejores moléculas: (+) - Epicatequina-3-galato; (-) - Galato de catequina; (+) - Galato de catequina; (+) – Galocatequina y Leucocianidol violan a una de las reglas de Lipinski, tienen más de 5 donadores de puentes de hidrógeno, esto se debe a que son moléculas muy hidroxiladas.

Sin embargo, no se podría descartar que estas moléculas si podrían funcionar como inhibidores de la TEM 1 por vía oral, de hecho, la gran mayoría de antibióticos como: amikacina, gentamicina, tobramicina, cefalexina, cefuroxima, ceftriaxona, cefepime, entre otros violan las reglas de Lipinski también y sin embargo son antibióticos aprobados.

En el caso de las 5 últimas moléculas incluidas en este estudio: (2R, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol; (2S, 3S) -7-metoxi-2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol; trans-3-flavanol; trans - (+) 3-flavanol y cis - (+) - 3-flavanol ninguna presenta violaciones de las reglas de Lipinski, esto se debe a que son moléculas pocas hidroxiladas, es por eso que su absorción es alta, lo que no sería tan adecuado si se quisiera que actué específicamente para tratar infecciones en el tracto digestivo, pues se absorbería mucho compuesto.

Además, estas moléculas atraviesan la barrera hematoencefálica, lo que podría generar reacciones adversas en el sistema nervioso central.

También estos compuestos al inhibir los citocromos, presentan un inconveniente, pues si se llegará a administrar concomitantemente con otros fármacos que sean

metabolizados por los citocromos podrían generar interacciones con diferentes consecuencias.

**CAPÍTULO IV**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### IV.1 CONCLUSIONES

- ✓ Se realizó el estudio *in silico* de catequinas vegetales frente a la enzima beta-lactamasa TEM-1 de *Escherichia coli*. El análisis, demostró que las catequinas, especialmente las que se encuentran esterificadas al ácido gálico efectivamente inhiben a la enzima TEM-1. Los estudios de acoplamiento molecular de las catequinas en la enzima TEM-1 de *E. coli* presentaron energías de enlaces favorables, como son las cinco mejores moléculas con energías de -8.7 a 7.9 kcal/mol. De esta manera, las catequinas tienen afinidad e inhiben dicha enzima. Las cinco mejores moléculas fueron: (+) - epicatequina-3-galato, (-) - galato de catequina, (+) - galato de catequina, galocatequina y leucocianidol. En el análisis de interacción entre la enzima TEM-1 y las catequinas con mayor afinidad, se pudo observar que dichas moléculas formaron varios puentes de hidrógeno favorables que aportaron las kcal necesarias para la energía de unión. Además, se dieron varias interacciones no polares, que ayudan a potenciar la efectividad de las catequinas. Con respecto a las propiedades farmacológicas de las catequinas con mayor afinidad por la enzima TEM-1, al predecir la absorción, distribución, metabolismo, eliminación y reglas de Lipinski se puede decir que presentan un perfil farmacológico seguro, pudiendo llegar a ser una opción terapéutica eficaz. Por lo tanto, especialmente (+) - epicatequina-3-galato merece estudios adicionales para confirmar los resultados del presente trabajo.

## IV.2 RECOMENDACIONES

- ✓ Evaluar las moléculas en programas adicionales que emplean otros algoritmos para poder corroborar estos resultados.
- ✓ Realizar estudios adicionales de dinámica molecular para evaluar la estabilidad del complejo formado por la enzima TEM-1 y las catequinas con mejor energía.
- ✓ Se recomienda dar continuidad a esta investigación empleando especialmente las cinco moléculas con mayor energía de unión con TEM-1 para realizar estudios *in vitro* e *in vivo* y determinar su potencial farmacoterapéutico y para demostrar la eficacia y seguridad de los mismos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Brenda Lorena Fina. Investigación de un fenómeno natural: ¿estudios in vivo, in vitro o in silico? [Internet]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/21655/CONICET\\_Digital\\_Nro.25729.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/21655/CONICET_Digital_Nro.25729.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
2. Alemán, Carlos & Muñoz-Guerra, Sebastián. (2003). Aplicaciones de los métodos computacionales al estudio de la estructura y propiedades de polímeros. *Polímeros*. 13. 10.1590/S0104-14282003000400010.
3. Medina-Franco José L., Fernández-de Gortari Eli, Naveja J. Jesús. Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educ. quím* [revista en la Internet]. 2015 [citado 2021 Oct 11] ; 26( 3 ): 180-186. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-893X2015000300180&Ing=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-893X2015000300180&Ing=es). <https://doi.org/10.1016/j.eq.2015.05.002>.
4. Betrán Ana, Lavilla María José, Cebollada Rocío, Calderón José Manuel, Torres Luís. Resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias nosocomiales y adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Huesca 2016-2018. *Rev Clin Med Fam* [Internet]. 2020 [citado 2021 Oct 11] ; 13( 3 ): 198-202. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1699-695X2020000300198&Ing=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2020000300198&Ing=es). Epub 23-Nov-2020.
5. Ross, J., Larco, D., Colon, O., Coalson, J., Gaus, D., Taylor, K., Lee, S. Evolución de la Resistencia a los antibióticos en una zona rural de Ecuador. *Práctica Familiar Rural*. 2020 marzo; 5(1).
6. Lee CH y Koohy H. Identificación in silico de los objetivos de la vacuna para 2019-nCoV [versión 2; revisión por pares: 3 aprobados] . *F1000Research* 2020, 9 : 145 ( <https://doi.org/10.12688/f1000research.22507.2> )

7. Carlos Liñan. Compuestos fenólicos en germinados de haba (vicia faba L.) y su efecto antiadipogénico in silico. [Tesis doctoral en Nutrición]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/22194/1/1080315270.pdf>
8. Evaluación in silico del efecto de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus* sobre la enzima 5-lipoxigenasa (5- LOX) [Internet]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002021000200002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000200002)
9. Evaluación in silico de los polifenoles de la rosa de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y diseño de derivados como inhibidores de la enzima HMG Co-A reductasa. [Internet]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF1531.pdf>
10. Investigación de *Staphylococcus aureus* y coliformes en los teclados de las computadoras del centro de documentación regional Juan Bautista Vásquez [Internet]. [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4714/1/TESIS.pdf>
11. Glenda Morocho. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Laboratorio Clínico MEDILAB-Loja [Internet]. [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/21394/1/TESIS%20GLE NDA%20MOROCHO.pdf>
12. Souza, Valeria, Castillo, Amanda, Rocha, Martha, Sandner, Luisa, Silva, Claudia, Eguiarte, Luis E., Ecología evolutiva de *Escherichia coli*. *Interciencia* [Internet]. 2001;26(10):513-517. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33906116>

13. Jorge, David. Microbiología lo esencial y lo práctico. 1ª Ed. Guatemala. Universidad Francisco Marroquín. [Internet]. [citado 13 de mayo de 2021]. Disponible en: [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51601/MicrobiologiaPractico\\_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51601/MicrobiologiaPractico_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
14. Farfán-García AE, Ariza-Rojas SC, Vargas-Cárdenas FA, Vargas-Remolina LV. Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena. Rev Chil Infectol. agosto de 2016;33(4):438-50. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf>
15. Pérez Pintado AC, Astudillo Vallejo KF. Caracterización molecular de aislados de Escherichia coli en pollos de carne (Gallus gallus domesticus) de la provincia de Azuay, Ecuador [bachelor's thesis on the Internet]. Cuenca; 2020-09-29 [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/35014>
16. Salame-Khoury L, Contreras-Pichardo B, Arias-Rodríguez S, et al. Epidemiología de las bacteriemias por Escherichia coli en dos hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. An Med Asoc Med Hosp ABC. 2018;63(2):91-95.
17. Ecuador. Instituto nacional de investigación en salud pública reporte de datos de resistencia a los antimicrobianos en Ecuador 2014-2018 [Internet]. [citado 30 de abril de 2021]. Disponible en: [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta\\_ram2018.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf)
18. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli [Internet]. [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342002000500011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011)

19. Danilo Soto. Presencia de *Escherichia coli* y *Staphilococcus aureus* en la oferta de alimentos de locales informales de comida rápida ubicados en la avenida de las Américas de la ciudad de Cuenca. [Internet]. [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/3344/1/10110.pdf>
20. Echevarría-Zarate J, Aguilar ES, Osoro-Plenge F. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. :6. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v23n1/a06v23n1>
21. Bado et al. - PRINCIPALES GRUPOS DE ANTIBIÓTICOS.pdf [Internet]. [citado 30 de abril de 2021]. Disponible en: <http://higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Principales%20grupos%20de%20antibi%F3ticos.pdf>
22. Andraca Perera José Raúl, Rodríguez Gil Enrique, Fundora Santana Alexander. Cefalosporinas. Granja Rev Cubana [Internet]. Diciembre de 2001 [consultado el 5 de octubre de 2021]; 35 (3): 219-222. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152001000300011&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152001000300011&lng=en).
23. Milagros Davalos. Cefalosporinas de tercera generación. [Internet]. [citado 13 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/spmi/v11n1/cefalosporinas.htm>
24. Monge - CARBAPENÉMICOS TIPOS Y MECANISMOS DE RESISTENCIA .pdf [Internet]. [citado 30 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc134i.pdf>
25. Mella M. Sergio, Sepúlveda A. Marcela, González R. Gerardo, Bello T. Helia, Domínguez Y. Mariana, Zemelman Z. Raúl et al. Aminoglucósidos-aminociclitolos: características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. Rvdo. chil. infectol. [Internet]. Diciembre de 2004 [consultado el 05

- de octubre de 2021]; 21 (4): 330-338. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182004000400007](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182004000400007)
26. Álvarez-Hernández Diego Abelardo, Garza-Mayén Gilda Sofía, Vázquez-López Rosalno. Quinolonas: Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. Rev. chil. infectol. [Internet]. 2015 Oct [citado 2021 Oct 05]; 32 (5): 499-504. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182015000600002](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182015000600002)
27. Maguiña-Vargas Ciro, Ugarte-Gil César Augusto, Montiel Marco. Uso adecuado y racional de los antibióticos. Acta méd. peruana [Internet]. 2006 Ene [citado 2021 Oct 05] ; 23( 1 ): 15-20. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1728-59172006000100004](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172006000100004)
28. Cortes JA, Perdomo D, Morales RA, Alvarez CA, Cuervo SI, Leal AL, et al. Guía de práctica clínica sobre diagnóstico y tratamiento de infección de vías urinarias no complicada en mujeres adquirida en la comunidad. Rev Fac Med. 10 de diciembre de 2015;63(4):565-81. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v63n4/v63n4a02.pdf>
29. bacterias.pdf [Internet]. [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
30. Principalesmecanismosderesistenciaantibiotica.pdf [Internet]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Principalesmecanismosderesistenciaantibiotica.pdf>
31. Barcelona et al. - 2008 - BETALACTAMICOS CON INHIBIDORES DE BETALACTAMASAS A.pdf [Internet]. [citado 30 de abril de 2021]. Disponible

- en: [https://medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol68-08/1/v68\\_1\\_p65\\_74\\_.pdf](https://medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol68-08/1/v68_1_p65_74_.pdf)
32. Abarca Gabriela, Herrera Marco Luis. Betalactamasas: su importancia en la clínica y su detección en el laboratorio. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) [Internet]. Enero de 2001 [consultado el 1 de octubre de 2021]; 36 (1-2): 77-104. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85462001000100011&lng=en](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462001000100011&lng=en).
33. Aliaga Almedo. Caracterización de las betalactamasas de espectro extendido. [Internet]. [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3848/rrea2de6.pdf;jsessionid=BE555D230271459021DF18E233BEFBD4?sequence=2>
34. Rada AM, Hernández-Gómez C, Restrepo E, Villegas MV. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. Biomédica. 1 de mayo de 2019;39:199-220. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v39s1/0120-4157-bio-39-s1-00199.pdf>
35. Barcelona et al. - 2008 - BETALACTAMICOS CON INHIBIDORES DE BETALACTAMASAS A.pdf [Internet]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: [https://medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol68-08/1/v68\\_1\\_p65\\_74\\_.pdf](https://medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol68-08/1/v68_1_p65_74_.pdf)
36. Paúl Beltrán. Determinación de la presencia de los Genes  $\beta$ -lactámicos tipo TEM-SHV-CTXM en bacterias betalactamasas de espectro extendido en muestras de cultivo del área de microbiología procedentes de los distintos servicios del Hospital Carlos Andrade Marín en el periodo diciembre 2018 – mayo 2019. [Internet]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/19871/1/T-UCE-0014-CME-119.PDF>

37. Evaluación química y capacidad antioxidante de extractos polifenólicos de cortezas de *Pinus cooperi*, *P. engelmannii*, *P. leiophylla* y *P. teocote* [Internet]. [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-04712009000300005](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712009000300005)
38. Gómez D, Octavio R. Efecto antibacteriano del ácido gálico y de la catequina sobre *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*. 16 de octubre de 2017 [citado 30 de abril de 2021]; Disponible en: <https://www.repositoriodirplan.cl/handle/20.500.12140/9814>
39. Paolo Valverde. La Epicatequina. [Internet]. [citado 30 de abril de 2021]. Disponible en: [https://www.iidenut.org/pdf\\_revista\\_tec\\_libre/Renut%201/RENUT%202007%20TEC\\_1\\_7-10.pdf](https://www.iidenut.org/pdf_revista_tec_libre/Renut%201/RENUT%202007%20TEC_1_7-10.pdf)
40. Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A.. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2012 Feb [citado 2021 Oct 05]; 27( 1 ): 76-89. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es).
41. Cartaya, O., Reynaldo, Inés, Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2001;22(2):5-14. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>
42. Determinación de la capacidad antimicrobiana del té verde (*Camellia sinensis*) contra los agentes potencialmente patógenos *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger* [Internet]. [citado 30 de abril de 2021]. Disponible en: <http://www.alanrevista.org/ediciones/2013/3/art-8/>

43. Wu M, marrón AC. Aplicaciones de las catequinas en el tratamiento de infecciones bacterianas. *Patógenos*. 1 de mayo de 2021; 10 (5): 546. doi: 10.3390 / patógenos10050546. PMID: 34062722; PMCID: PMC8147231.
44. Okubo S, Sasaki T, Hara Y, Mori F, Shimamura T. [Bactericidal and anti-toxin activities of catechin on enterohemorrhagic *Escherichia coli*]. *Kansenshogaku Zasshi*. marzo de 1998;72(3):211-7.
45. Jeon J, Kim JH, Lee CK, Oh CH, Song HJ. The Antimicrobial Activity of (-)-Epigallocatehin-3-Gallate and Green Tea Extracts against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* Isolated from Skin Wounds. *Ann Dermatol*. octubre de 2014;26(5):564-9.
46. Víctor Vargas. Estudio in silico del genoma del virus de la hepatitis C para buscar su interrupción viral mediante la identificación de fármacos candidatos [Internet]. [citado 4 de octubre de 2021]. Disponible en: [https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/1776/1/Tesis\\_Vargas\\_Berm%c3%badez\\_Victor\\_Hugo\\_27\\_nov\\_2017.pdf](https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/1776/1/Tesis_Vargas_Berm%c3%badez_Victor_Hugo_27_nov_2017.pdf)
47. Ballón Paucara WG, Grados Torrez RE. Acomplamiento molecular:: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Rev CON-Cienc*. noviembre de 2019;7(2):55-72.
48. Velásquez, Margarita, Drosos, Juan, Gueto, Carlos, Márquez, Johana y Vivas-Reyes, Ricardo. (2013). Método acoplado Autodock-PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Revista Colombiana de Química*, 42 (1), 101-124. Obtenido el 5 de octubre de 2021 de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28042013000100007&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042013000100007&lng=en&tlng=es).
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.
50. Porras-Loaiza, A.P., López-Malo, A. 2009. "Importancia de los grupos fenólicos en alimentos," *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3 (1): 121-134. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)
51. Rincón Riveros A, Acevedo Cepeda D, Chaparro Lozano D, Serrato Ladino KN. Nuevos inhibidores de betalactamasas: actualidad y aplicación en la práctica. *Hech Microb.* [Internet]. 1 de mayo de 2021 [citado 11 de enero de 2022];12(1):41-55. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/hm/article/view/344743>.
52. López-Terradas Mota, Pedro Javier (2016) Diseño y mecanismo de acción molecular de nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20FRESCO%20MERINO.pdf>
53. EFECTO ANTIBACTERIANO DE KAEMPFEROL Y (-)-EPICATEQUINA SOBRE *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli* Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo Tesis para optar al Grado de Magíster en Enología y Vitivinicultura
54. Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica* ©2009. Editorial Médica Panamericana. Disponible en: [https://bibliotecas.unr.edu.ar/muestra/medica\\_panamericana/9788498351682.pdf](https://bibliotecas.unr.edu.ar/muestra/medica_panamericana/9788498351682.pdf)
55. von Bernhadi Rommy. La Barrera Hemato-Encefálica en la patología del Sistema Nervioso Central: su importancia en la Respuesta Inflamatoria. *Rev. chil. neuro-psiquiatr.* [Internet]. 2004 Abr [citado 2022 Ene 12]; 42(2): 121-130. Disponible en:

[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-92272004000200005&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272004000200005&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272004000200005>.

56. Ruiz Gómez M. J., Souvion Rodríguez A., Martínez Morillo M.. La glicoproteína-P una bomba de membrana que representa una barrera a la quimioterapia de los pacientes con cáncer. An. Med. Interna (Madrid) [Internet]. 2002 Sep [citado 2022 Ene 12] ; 19( 9 ): 49-57. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992002000900011&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992002000900011&lng=es).
57. Flores-Pérez, Janett, Cruz-Reyes, Irma A., Flores-Pérez, Carmen, El apoyo del citocromo p450 (CYP2D6) en el uso de medicamentos antipsicóticos. Acta Pediátrica de México [Internet]. 2007;28(6):282-288. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=423640308007>
58. Beltrán Delgado Yaixa, Rojas Vargas Julio, Morales González Isaac, Morris Quevedo Humberto. Evaluación in silico del efecto de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus* sobre la enzima 5-lipoxigenasa (5- LOX). Rev Cubana Invest Bioméd [Internet]. 2021 [citado 2022 Ene 12] ; 40( Suppl 1 ): e678. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002021000200002&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000200002&lng=es). Epub 01-Mar-2021.

## ABREVIATURAS

Å: Angstroms

ACE: Enzima convertidora de angiotensina

ADME: Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción.

Arg: Arginina

Asn: Asparagina

BLEE: Beta-lactamasa de espectro extendido

DAEC: *Escherichia coli* de adherencia difusa

DHFR: Enzima dihidrofolato reductasa

*E. coli*: *Escherichia coli*

EAEC: *Escherichia coli* enteroagregativa

EC: Epicatequina

ECG: Galato de epicatequina

ECST: *Escherichia coli* shigatoxigénica

EGC: Epigalocatequina

EGCG: Galato de epigalocatequina

EHEC: *Escherichia coli* enterohemorrágica

EIEC: *Escherichia coli* enteroinvasiva

EPEC: *Escherichia coli* enteropatógena

ETAs: Enfermedades transmitidas por los alimentos

ETEC: *Escherichia coli* enterotoxigénica

INSPI: Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública

ITU: Infecciones del tracto urinario

KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa

Lys: Lisina

Met: Metionina

MNEC: *Escherichia coli* causante de meningitis/septicemias

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

NDM: Nueva Delhi metalo-beta-lactamasa

PBPs: Proteínas fijadoras de penicilinas

PDB: Protein Data Bank

PDGFR: Receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas

PPAR $\gamma$ : Receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma

Pro: Prolina

ROS: Especies reactivas de oxígeno

Ser: Serina

SHU: Síndrome Hemolítico Urémico

Tyr: Tirosina

UPEC: *Escherichia coli* uropatógena

Val: Valina

## **ANEXOS REQUERIDOS**



**MARÍA NICOLE LUZURIAGA BLANDÍN** portadora de la cédula de ciudadanía N.º **010457623-6**. En calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación ***“EVALUACIÓN IN SILICO DE CATEQUINAS COMO INHIBIDORES DE LA BETA-LACTAMASA TEM-1 DE Escherichia coli”*** 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, **08 de abril de 2022**

**MARÍA NICOLE LUZURIAGA BLANDÍN**

**C.I. 010457623-6**