

Toxinas de venenos de serpientes y escorpiones: una fuente natural de moléculas con actividad antimicrobiana

Leidy Johana Vargas-Muñoz, PhD*₁; Sebastián Estrada-Gómez, MSc₂;
Julieta Vásquez-Escobar MSc₂

¹Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Medellín, Colombia
²Programa de Ofidismo/Escurpionismo, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias,
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Recibido: 18 de noviembre del 2014. **Aprobado:** 7 de marzo del 2015.

***Autor de correspondencia:** Leidy Johana Vargas-Muñoz. Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Medellín. Calle 48 #28-00, Medellín, Colombia. Teléfono: (57) 4 4446065. Correo electrónico: leidy.vargasmu@campusucc.edu.co

Cómo citar este artículo: Vargas-Muñoz LJ, Estrada-Gómez S, Vásquez-Escobar J. Toxinas de venenos de serpientes y escorpiones: una fuente natural de moléculas con actividad antimicrobiana. *Curare*. 2015;2(2): 15-32. doi: 10.16925/cu.v2i2.1166

Resumen. *Propósito:* los venenos de animales constituyen una de las fuentes más ricas de sustancias activas biológicamente encontradas en la naturaleza. Dichas sustancias están presentes simultáneamente en un solo veneno garantizando la utilidad para el organismo productor del mismo. La mayoría de los componentes de estos venenos son polipéptidos, cuyo blanco son receptores específicos encontrados en la presa y es dicha precisión hacia los receptores lo que los convierte en sustancias con alto potencial terapéutico. Algunos polipéptidos activos han demostrado ser potenciales insecticidas y muy específicos en membranas bacterianas, ya que han sido selectivos contra bacterias Gram positivas o Gram negativas, y bacterias aerobias o anaerobias. *Tema:* se presenta una revisión bibliográfica de los últimos diez años acerca de toxinas y venenos de escorpiones y serpientes con actividad antimicrobiana. *Desarrollo:* la búsqueda bibliográfica se realizó en las plataformas Web of Science, PubMed y Science Direct. Con el ánimo de recabar la mayor información posible, en cada una de las mencionadas plataformas se usaron las siguientes palabras claves y operadores booleanos para la búsqueda: “snake” OR “scorpion”, según cada caso de búsqueda, junto con las palabras “venom” AND “antimicrobial”, para el caso del término “antimicrobial”, este podía variar por “antibiotic”. De la búsqueda se excluyeron los términos “virus” AND “leishmania” AND “plants”. *Hallazgos:* se logran revisar aproximadamente 80 artículos científicos de los que se extrae la información más relevante correspondiente al tema de estudio. *Conclusión:* esta revisión busca aportar una visión actual del uso de algunas moléculas aisladas de venenos de serpientes y escorpiones como herramientas o modelos en diferentes campos, para la búsqueda de alternativas terapéuticas.

Palabras clave: antimicrobiano, escorpiones, serpientes, venenos.



Toxins from Snake and Scorpion Venoms, a Natural Source of Molecules with Antimicrobial Activity

Abstract. *Purpose:* Animal venoms constitute one of the richest sources of biologically active substances found in nature. Those substances are simultaneously present in one single venom, guaranteeing its usefulness for the organism that produces it. Most of the components of these venoms are polypeptides, which target specific receptors found in the prey and it is this precise targeting of those receptors that make them substances with high therapeutic potential. Certain active polypeptides and very specific ones in bacterial membranes have been shown to be potential insecticides, because they have been selective against gram-positive or gram-negative bacteria, as well as aerobic or anaerobic bacteria. *Topic:* a bibliographical review was made of the last 10 years about toxins and venoms of scorpions and snakes with antimicrobial activity. *Development:* the bibliographic search was performed using the Web of Science, PubMed and Science Direct platforms. In order to gather the greatest possible amount of information, the following keywords and Boolean operators were used for the search on each of those platforms: “snake” OR “scorpion”, according to each search case, along with the words “venom” AND “antimicrobial”; the term “antimicrobial” could be alternated with “antibiotic”. The terms “virus” AND “leishmania” AND “plants” were excluded from the search. *Findings:* approximately 80 scientific articles were reviewed from which the most relevant information corresponding to the topic of study was extracted. *Conclusion:* this review seeks to provide a current overview of the use of certain molecules that have been isolated from snake and scorpion venoms as tools or models in different fields in the search for therapeutic alternatives.

Keywords: antimicrobial, scorpions, snakes, venoms.

Toxinas de venenos de serpentes e escorpiões, uma fonte natural de moléculas com atividade antimicrobiana

Resumo. *Propósito:* o veneno de animais constitui uma das fontes mais ricas de substâncias ativas biologicamente encontradas na natureza. Essas substâncias estão presentes simultaneamente num só veneno e garantem a utilidade para o seu organismo produtor. A maioria dos componentes desses venenos são polipeptídios, cujos alvos são receptores específicos encontrados na presa e é essa precisão aos receptores o que os torna substâncias com alto potencial terapêutico. Alguns polipeptídios ativos vêm demonstrando ser potenciais inseticidas e muito específicos em membranas bacterianas, já que têm sido seletivos contra bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, e bactérias aeróbias ou anaeróbias. *Tema:* apresenta-se uma revisão bibliográfica dos últimos dez anos sobre toxinas e venenos de escorpiões e serpentes com atividade antimicrobiana. *Desenvolvimento:* a busca bibliográfica foi realizada nas plataformas Web of Science, PubMed e Science Direct. Com o intuito de coletar maior quantidade possível de informações, em cada uma das mencionadas plataformas foram usadas as seguintes palavras-chave e operadores booleanos: “snake” OR “scorpion”, segundo cada caso de busca, junto com as palavras “venom” AND “antimicrobial”, para o caso do termo “antimicrobial”, este podia variar por “antibiotic”. Foram excluídos da busca os termos “virus” AND “leishmania” AND “plants”. *Achados:* pôde-se revisar aproximadamente 80 artigos científicos, dos quais foi extraída informação mais relevante correspondente ao tema de estudo. *Conclusão:* esta revisão procura contribuir com uma visão atual do uso de algumas moléculas isoladas de venenos de serpentes e escorpiões como ferramentas ou modelos em diferentes campos, para a busca de alternativas terapêuticas.

Palavras-chave: antimicrobiano, escorpiões, serpentes, venenos.



Introducción

A partir de 1928, cuando Fleming descubrió la penicilina en el cultivo de un hongo, comenzó la llamada época de los antibióticos, ya que en las décadas posteriores a esta fecha, se produjo un incremento de forma exponencial en la creación de nuevas clases de estos agentes, especialmente en países desarrollados [1]. En los años recientes, la producción de nuevos antimicrobianos ha disminuido de forma considerable y ha surgido, como un problema de consecuencias impredecibles, la resistencia a estos por la aparición en las bacterias, virus, hongos y protozoarios de mecanismos defensivos con el fin de evadir la acción destructiva de estas sustancias [2].

La necesidad en las últimas décadas de buscar nuevas alternativas terapéuticas, conduce a los investigadores a evaluar productos de origen diverso como son animales marinos y terrestres, así como plantas, con el fin de hallar moléculas que funcionen como prototipos que reemplacen o complementen los productos utilizados actualmente [2-8]. Los venenos de serpientes y escorpiones son un ejemplo de esto, ya que para ambos, se han descrito actividades potencialmente benéficas para el hombre, aislando moléculas que han servido como modelo terapéutico para el diseño de fármacos que actualmente se usan en la industria farmacéutica, como es el caso del captopril —un antihipertensivo aislado del veneno de *Bothrops jararacá* [9]—, Viprinex® —un anticoagulante aislado de *Agkistrodon rhodostoma* [10]—, un agente procoagulante como la reptilasa —obtenido del veneno de *B. atrox* [11]—, entre otras moléculas.

El estudio de los venenos y las toxinas ha estado encaminado principalmente a la descripción de las manifestaciones clínicas y estrategias de tratamiento, pero por lo descrito previamente, los componentes presentes en los venenos de algunos animales constituyen una fuente para el hallazgo de potenciales agentes terapéuticos, como posibles fuentes de moléculas con actividad antibacteriana o antimicótica; y aunque algunos de sus componentes no se puedan emplear inmediatamente o directamente por su toxicidad, servirán como prototipos para el desarrollo de estos fármacos.

Antimicrobianos convencionales

Las enfermedades infecciosas constituyen una de las principales causas de morbimortalidad en todo el mundo debido a la alta resistencia que se presenta a la antibioticoterapia, que incluyen desde infecciones menores de la piel hasta infecciones de heridas post-operatorias. Un ejemplo de esto y que se ha vuelto muy común es el caso del *Staphylococcus aureus* metilino resistente (MRSA), según cifras del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (NIH), la tercera parte de la población mundial puede tener en algún momento de su vida *S. aureus* en su cuerpo, de esta proporción, el 1 % corresponde a MRSA [12]. Con esta misma bacteria, se han registrado siete casos vancomicina resistentes (VRSA) en el 2007 en Estados Unidos [12]. En diez países se ha comprobado que las cefalosporinas de tercera generación pueden ser ineficaces para el tratamiento de la gonorrea [13] Asimismo en el 2013, la Organización Mundial de la Salud (OMS) registró 480.000 casos de tuberculosis multirresistente [13-14]. Es así como el desarrollo de vacunas, el establecimiento de medidas sanitarias adecuadas y el descubrimiento de los antimicrobianos y su constante mejoramiento, son factores muy importantes en la prolongación de las expectativas de vida y en el mejoramiento de su calidad [13, 15, 16], así como también lo es el tratamiento adecuado y oportuno [14].

Los tratamientos para las enfermedades infecciosas incluyen los antibacterianos, antivíricos y antimicóticos. Para el desarrollo de estos fármacos se debe tener presente que tengan el mayor potencial tóxico contra el microorganismo infectante y lo más seguros posible para las células humanas, es decir, que tengan una toxicidad selectiva [16-17]. Producir sustancias para combatir las bacterias y los hongos es relativamente sencillo porque son células diferentes a las humanas. No obstante, producir un fármaco que destruya un virus sin perjudicar a la célula humana infectada es una ardua labor, ya que los virus pierden su identidad dentro de esta y reprograman la célula para que produzca partículas del propio virus [16], lo que indica un menor número de productos comerciales adecuados para este uso.

Los antibióticos, bien sean productos de un agente biológico como un microorganismo o de síntesis química, pueden producir un efecto bactericida o bacteriostático, el primero destruyendo las bacterias, y el segundo evitando su multiplicación y permitiendo que el organismo elimine las bacterias restantes [18]. Los mecanismos más utilizados para ejercer el efecto bacteriostático son la interferencia en procesos esenciales en los microorganismos por su selectividad en blancos específicos, como las enzimas que sintetizan la pared celular de hongos y bacterias, los ribosomas bacterianos, las enzimas requeridas para la síntesis de nucleótidos y la replicación del DNA. Para la mayoría de las infecciones, ambas clases de antibióticos parecen igualmente eficaces, pero en los casos en que el sistema inmune está debilitado o el paciente presenta afecciones mayores como una endocarditis bacteriana o una meningitis, un antibiótico bactericida suele ser más eficaz [16, 19].

Venenos de serpientes

Proteínas con actividad antimicrobiana

Desde la identificación del péptido que dio origen al captopril a partir del veneno de la serpiente *Bothrops jararaca* por parte de Ondetti y colaboradores en 1971 [9, 20], se despertó un interés en los venenos de animales como fuentes ricas en compuestos bioactivos y se pensó en el uso potencial de dichas sustancias como modelo terapéutico para el diseño de fármacos que actualmente se usan en la industria farmacéutica. Cientos de sustancias biológicamente activas están presentes simultáneamente en un solo veneno, la mayoría de ellos son polipéptidos que tienen células y órganos blancos específicos y representan una herramienta para el desarrollo de una nueva generación de antibióticos [7, 21].

Los venenos que producen las serpientes son una mezcla compleja de proteínas, péptidos, enzimas y trazas de elementos no proteicos tales como carbohidratos y sales [22], los cuales son útiles para el animal a la hora de capturar y digerir la presa, y para los investigadores debido a que se convierten en una fuente para la obtención de compuestos con diversas actividades, entre ellas la actividad antibacteriana, la cual se ha observado tanto en

venenos de elápidos como en vipéridos. Un ejemplo de ello es el veneno completo del elárido australiano *Pseudechis australis* que inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [20]. Otro ejemplo a mencionar es el veneno de la víbora *Bitis gabonica* que se mostró activo frente a *Pseudomona aeruginosa*, *S. aureus* y *E. coli* [23]. Adicionalmente, algunos venenos han sido selectivos en cuanto a si la bacteria es Gram positiva o Gram negativa, o si es una bacteria aerobia o anaerobia [24], lo cual se evidenció en los venenos de *Crotalus viridis helleri*, *C. atrox* y *C. horridus horridus*, que lograron inhibir el crecimiento de especies aerobias como *Staphylococcus epidermidis*, *P. aeruginosa*, y *Enterobacter cloacae*, pero no de las anaerobias [25]. Por su parte, el veneno de las víboras surafricanas *Causus rhombeatus*, *Bitis gabonica* y *Bitis arietans* presentaron potente actividad antibacteriana contra *S. aureus*, seguida por *P. aeruginosa* y *E. coli*, y en menor proporción, contra especies anaerobias como *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides intermedius*, *Clostridium sordellii* y *Clostridium perfringens* [23].

Adicional a la actividad hallada en los venenos completos, se han aislado algunos componentes de estos que demuestran actividad antimicrobiana. Samy y colaboradores [26] informaron la actividad antibacteriana de una metaloproteasa aislada del veneno de la víbora china *Agkistrodon halys pallas*, cuya masa molecular fue de 23,1 kDa y una secuencia N-terminal (MIQVLLVTICLAVFPYQGSSII-LES); la cual presenta identidad del 100 % con otras metaloproteasas aisladas de venenos de la familia Viperidae como la contortrostatina y la bothrostatina. Su espectro antibacteriano incluyó *S. aureus*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* y la bacteria multirresistente *Burkholderia pseudomallei*, además la concentración mínima inhibitoria (CMI) se mostró variable frente a cada bacteria y osciló entre 1,875 y 60 μM .

Las fosfolipasas (PLA_2), otro componente abundante en los venenos de vipéridos y elápidos [27], también han sido evaluadas en su acción antibacteriana y han demostrado ser activas contra algunas cepas bacterianas. Por ejemplo, una PLA_2 del grupo I, denominada BPPA obtenida del veneno de *Bungarus fasciatus*, reveló actividad antibacteriana frente a *E. coli* y *S. aureus* con una CMI de 0,4 y 0,1 μM respectivamente, lo que indica que la BPPA, por poseer una estructura con propiedades catiónicas, es más potente contra bacterias Gram positivas, debido tal vez a la capacidad de penetrar en la

pared celular aniónica de dichas bacterias, provocando en estas un efecto bactericida [28].

Así mismo, las miotoxinas II (PLA₂ sin actividad enzimática) y III (PLA₂ con actividad enzimática) obtenidas de la serpiente suramericana *Bothrops asper* demostraron actividad bactericida sobre múltiples bacterias Gram positivas y Gram negativas, pero con una limitante para su uso, debido a que presentaron toxicidad contra células eucarióticas [29]. No obstante, para la miotoxina II, lograron indicar que el residuo 115-129 de su región C-terminal era el responsable de perturbar el buen funcionamiento de la membrana plasmática de bacterias Gram negativas y que dicho efecto era independiente de una acción enzimática intrínseca [30]. Igualmente, el péptido sintético PEM-2 (KKWRWWLKALAKK) derivado de la misma, mostró una reducida toxicidad hacia células musculares, y una alta actividad bactericida *in vitro* que los autores observaron que interactuaba con el lipopolisacárido (LPS) bacteriano [29, 31]. Adicionalmente los estudios realizados por

Murillo y colaboradores con este mismo péptido demostraron que, además de la actividad antibacteriana, tenía una potente actividad fungicida (a concentraciones de 5 µM) frente a varias especies de cándida de importancia clínica (debido a la alta cantidad de diagnósticos de candidiasis vaginal) tales como *Candida parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. viswanathii*, *C. krusei*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. valida*, *C. tropicalis* y *C. kefyr* [32, 33], lo que permite hablar de una actividad de amplio espectro de este péptido sintético. Por otro lado, otra miotoxina aislada de *Bothrops moojeni* (MjTX-II) demostró una importante actividad antimicrobiana al inhibir el crecimiento de *E. coli* y *C. albicans* [34].

Foreman-Wykert y colaboradores [35] describieron el posible mecanismo de acción que poseen las PLA₂ para generar muerte en las bacterias (figura 1). La tabla 1 resume algunas fosfolipasas A₂ que han sido aisladas y caracterizadas de venenos de serpientes del mundo, y el grupo de microorganismos contra las que fueron probadas.

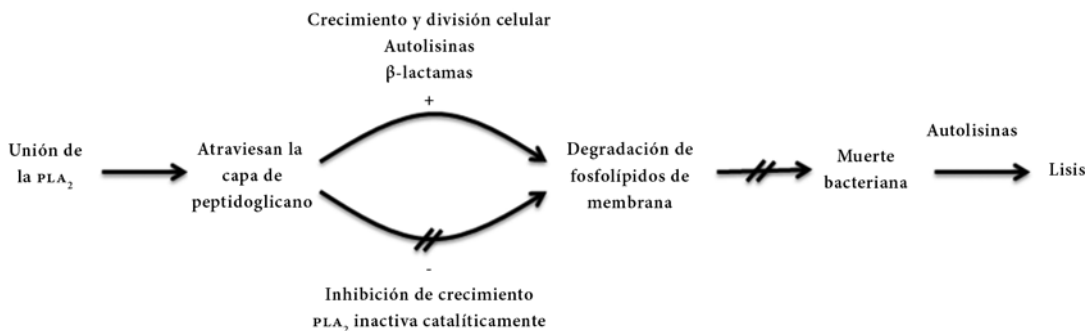


Figura 1. Mecanismo de acción antibacteriana de las PLA₂

Fuente: tomado y adaptado de [35]

Tabla 1. Fosfolipasas A₂ aisladas de serpientes con actividad antimicrobiana

Fosfolipasa aislada	Especie de la que se obtuvo	Actividad antimicrobiana	Dosis evaluada	Referencia
Miotoxina II	<i>Bothrops asper</i>	Bactericida contra Gram-positivos (<i>S. aureus</i>) y Gram-negativos	10 µM	[30]
BnSP-7	<i>Bothrops neuwiedi pauloensis</i>	Bactericida contra G(-) <i>E. coli</i> .	40-120 µM	[36]
Miotoxin I	<i>Bothrops atrox</i>	Activa contra <i>E. coli</i>	200 µg	[37]
BnpTX-I y II	<i>Bothrops neuwiedi pauloensis</i>	Activas contra <i>Escherichia coli</i> y <i>S. aureus</i>	30-180 µg	[38]

Cont.

BthTx-I y BthTx-II	<i>Bothrops jararacussu</i>	<i>Xanthomonas axonopodis. pv. passiflorae</i>	125 µg/mL	[39]
Daboiatoxina	<i>Daboia russelli siamensis</i>	Activas contra <i>Burkholderia pseudomallei</i>	0,5 mg/ml	[40]
Crotolina B	<i>Crotalus durissus terrificus</i>			
Mulgatoxin	<i>Pseudechis australis</i>			
MjTX-II	<i>Bothrops moojeni</i>	Inhibió el crecimiento de <i>E. coli</i> y <i>Candida albicans</i>	50-250 µg	[34]
BFPA	<i>Bungarus fasciatus</i>	Activa contra <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	0,4 y 0,1 µM	[28]
MTX -I y II	<i>Bothrops brazili</i>	Inhibió el crecimiento de <i>E. coli</i> y <i>C. albicans</i>	10-100 µg/mL	[41]
PLA ₂ ácida	<i>Porthidium nasutum</i>	Activa contra <i>S. aureus</i>	32 µg/mL	[42]

Fuente: elaboración propia

Otros péptidos también han demostrado determinada actividad microbicida, como es el caso de una proteína catiónica de 50 aminoácidos denominada Omwaprina, obtenida del veneno de la serpiente australiana *Oxyuranus microlepidotus*, la cual demostró actividad antibacteriana selectiva y dosis dependiente contra *Bacillus megaterium* y *Staphylococcus warneri* (Gram positivos), a dosis mínimas inhibitorias en un rango de 2-10 µg. El mecanismo de acción se determinó por microscopia electrónica de barrido donde se observó un severo daño en la pared. Igualmente, el rango de dosis establecido no presentó efectos tóxicos en ratones albinos Swiss cuando les fue administrado por vía intraperitoneal. [43]. De igual forma, del veneno de la serpiente brasileña *B. jararaca* se aisló un péptido con alta actividad antifúngica, el cual inhibió el crecimiento de los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum lindemuthianum* a una concentración de 25 µg/mL, así como de las levaduras *C. albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* a concentraciones de veneno crudo de 12,5 µg/mL [44].

La L-Amino ácido oxidasa (LAAO), enzima abundante en los venenos de varias especies de serpientes, también ha demostrado actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Ha sido aislada en los venenos de *Bothrops moojeni*, *Bothrops alternatus*, *Bothrops pirajai*, *Crotalus adamanteus*, *Crotalus durissus collilineatus*, *Pseudechis australis*, *Trimeresurus jerdonii* y *Vípera lebetina*

[45]. Igualmente ha sido aislada del veneno de *Bothrops jararaca* y *Bothrops jararacussu*, en las que se demostró actividad bactericida a una concentración de 0,8 mg/mL contra Gram positivos como: *Eubacterium lentum*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Propionibacterium acnés*, *S. aureus*, *S. epidermidis* y Gram negativos como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* [46]. Por otra parte, Vargas y colaboradores [47-48] aislaron del veneno de dos víboras colombianas *Bothriechis schlegelii* y *Crotalus durissus cumanensis* las proteínas BsLAAO y CdcLAAO respectivamente, las cuales se mostraron activas contra las bacterias de interés clínico en Colombia, *S. aureus* y *Acinetobacter baumannii*, a CMI entre los 2 µg/mL y los 16 µg/mL.

El mecanismo de acción propuesto para las LAAO con actividad antimicrobiana está asociado a la producción de peróxido de hidrógeno [49], debido a que la adición de catalasa al medio generó pérdida de la acción farmacológica encontrada. Al parecer, la actividad antimicrobiana de las LAAO no solo es ejercida por la molécula completa, sino que cada una de sus tres subunidades conserva esta actividad, como lo demostraron Okubo y colaboradores [50] con la LAAO de *Bothropoides matto-grosensis* en la que tres péptidos correspondientes a tres sitios diferentes de la proteína completa conservaron su actividad antimicrobiana, aunque se requirió de dosis superiores para inhibir el crecimiento con relación a la proteína completa.

Tabla 2. LAAO aisladas de venenos de serpientes con actividad antibacteriana

Especie de la que se aisló la LAAO	Actividad antibacteriana	Dosis evaluada	Referencia
<i>Crotalus adamanteus</i>	Activa contra G(-) <i>P. aeruginosa</i> y <i>E. coli</i> . <i>Burkholderia pseudomallei</i>	0,1 mg/mL	[51]
		0,34 mg/mL	[40]
<i>Pseudechis australis</i>	Activo contra <i>Aeromonas sp</i> y G(+) <i>B. subtilis</i> y <i>S. aureus</i> .	0,62 - 5 µg	[24]
<i>P. (Trimeresurus) mucrosquamatus</i>	Más activa contra G(+) <i>S. aureus</i> . Igualmente activa contra G(-) <i>E. coli</i> and <i>B. dysenteriae</i> .	1 - 13 µg	[52]
<i>Agkistrodon halys pallas</i>	Activa contra <i>E. coli</i>	0,03 g/L	[53]
<i>Bothrops alternatus</i>	Activa contra G(-) <i>E. coli</i> , y G(+) <i>S. aureus</i>	24 µg	[45]
<i>C. durissus cascavella</i>	Activa contra G(+) <i>Staphylococcus mutans</i> , G(-) <i>Xanthomonas axonopodis pv passiflorae</i>	150 µg/ml	[54]
<i>B. pirajai</i>	Activa contra G(-) <i>E. coli</i> y <i>P. aeruginosa</i>	1, 2, y 4 µg/mL	[55]
<i>Vipera lebetina</i>	Activa contra G(-) <i>E. coli</i> y contra G(+) <i>B. subtilis</i>	5 - 20µg	[56]
<i>B. moojeni</i>	Activa contra G(-) <i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>P. aeruginosa</i> y G(+) <i>S. aureus</i>	25 y 50 µg/mL	[57]
<i>B. pauloensis</i>	Más activa contra G(-) <i>E. coli</i> que contra G(+) <i>S. aureus</i> .	5- 25 µg/mL	[58]
<i>Bothrops jararaca</i>	Activa contra G(+) como <i>Eubacterium lentum</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> y G(-) <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>Salmonella typhimurium</i>	0,8 mg/mL	[46]
<i>Daboia russellii siamensis</i>	Activa contra G(+) <i>S. aureus</i> , G(-) <i>P. aeruginosa</i> y <i>E. coli</i>	9,0 µg/mL, 144 µg/mL y 288 µg/mL	[59]
<i>Naja naja oxiana (Naja oxiana)</i>	Más activa contra G(+) <i>B. subtilis</i> que contra G(-) <i>E. coli</i>	5,5 µg/mL y 7,5 µg/mL	[60]
<i>B. marajoensis</i>	Activa contra G(+) <i>S. aureus</i> , G(-) <i>P. aeruginosa</i> y <i>Candida albicans</i> .	50 µg/mL 200 µg/mL	[61]
<i>Agkistrodon blomhoffii ussurensis</i>	Activo contra <i>S. aureus</i> .	3,75 - 30 µg	[62]
<i>Ophiophagus hannah</i>	Activa moderadamente contra <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> .	25 - 50 µg/mL (0,2-0,4µM)	[63]
<i>B. mattogrosensis</i>	Activa contra: <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>P. mirabilis</i> .	64 µg/mL 256 µg/mL	[50]
<i>Crotalus durissus cumanensis</i>	Activa contra <i>S. aureus</i> y <i>Acinetobacter baumannii</i>	8 µg/mL y 16 µg/mL	[48]
<i>Bothriechis schlegelii</i>	Activa contra <i>S. aureus</i> y <i>A. baumannii</i>	4µg/mL y 2 µg/mL	[47]

Fuente: elaboración propia

Venenos de escorpiones

Péptidos antimicrobianos

Los venenos de escorpiones son una fuente rica de péptidos los cuales han sido seleccionados a través de 400 millones de años de evolución, para

reconocer con una gran especificidad, canales iónicos permeables a sodio (Na⁺), potasio (K⁺), cloro (Cl⁻) y calcio (Ca²⁺) en mamíferos o en invertebrados. Se estima que la riqueza de este tipo de moléculas en los venenos de escorpiones se encuentra alrededor de 200.000 péptidos, de los cuales menos del 1% son conocidos, esto teniendo en cuenta el estimado de diversidad de estos arácnidos a nivel

mundial, el cual es de aproximadamente 2.231 especies [64] y solo en una especie (un solo veneno de escorpión) se ha logrado identificar hasta 106 compuestos [65-68]. Estos venenos se convierten así, para la ingeniería de síntesis de péptidos, como una vasta fuente de moléculas para el desarrollo de nuevos péptidos con potencial farmacológico y/o biológico.

Los péptidos presentes en venenos de escorpiones se pueden clasificar de diversas formas, por su actividad farmacológica, por su peso molecular o por su estructura. Basándonos en este último caso, nos podemos encontrar con tres grupos. El primero llamado péptidos ricos en cisteína, conocidos también como DBP (por sus siglas en inglés, *disulfide bridge peptides*) o *knottin scorpion toxin like peptides*, que difieren en sus estructuras primaria y secundaria por la formación de hojas β principalmente, y en algunos casos con presencia de hélices α [69-71]. El segundo son los péptidos sin residuos de cisteína usualmente con estructura anfipática α -helicoidal o *non-disulfide bridge* (NDBP) [69-71]; y el tercero, péptidos ricos en ciertos aminoácidos poco comunes como prolina y glicina, o que presentan estructuras especiales como anillos tio-eter [69-71].

En el primer grupo, péptidos ricos en cisteína, se encuentran principalmente los compuestos que tienen la capacidad de modular algunos canales iónicos, como se explicará más adelante. Además de los péptidos moduladores de canales iónicos, se pueden encontrar otros tipos de péptidos de gran interés como los NDBP, los cuales se caracterizan porque en su estructura primaria se observan aminoácidos polares cargados positivamente, que prevalecen sobre el número de aminoácidos cargados negativamente, polares no cargados o apolares, generando así cargas netas positivas en la molécula [72]; además se caracterizan porque en ambientes similares a los de las membranas celulares, adoptan formas de alfa-hélices, un factor esencial para ejercer su mecanismo de acción. Estas dos características son esenciales para que estos péptidos ejerzan su principal actividad biológica, ¡antimicrobiana!, esto ha sido demostrado por Giangaspero y colaboradores [72].

Estos péptidos son ampliamente conocidos como péptidos antimicrobianos (AMP, por sus siglas en inglés) o péptidos anfipáticos α -helicoidales y ocurren naturalmente en los arácnidos, ya que hacen parte importante del sistema inmune como

un mecanismo de defensa innata y humoral, el cual permite la rápida síntesis y secreción de los AMP, no solo en la glándula venenosa, sino que además algunos se secretan en la hemolinfa de estos, como respuesta a la presencia de microorganismos patógenos [73]. Hasta hoy, se han reportado algo más de 1200 AMP procedentes de la hemolinfa y venenos (principalmente) de algunos animales [73]. Además, estos péptidos poseen un efecto despolarizante en células excitables, lo que les permite actuar como agentes paralíticos empleados en estrategias de captura o para evitar la aproximación de depredadores y bacterias.

En su mayoría, estos péptidos anfipáticos son de carácter catiónico, con prevalencia de aminoácidos como lisina y arginina, lineales y cortos con menos de 50 aminoácidos. El último grupo compuesto por estructuras poco comunes, se caracteriza porque estas son ricas en aminoácidos que impiden el correcto plegamiento de las hélices alfa, lo que hace que disminuya su actividad antimicrobiana, sin importar cuan cargado positivamente se encuentre el péptido [72].

Mecanismos de acción de los péptidos antimicrobianos aislados de venenos de escorpiones

Péptidos ricos en cisteínas

Estos péptidos tipo DBP, se caracterizan porque en términos generales, conservan una estructura representada por una serie de láminas beta y una hoja alfa estabilizadas por 3 o 4 puentes disulfuro. Este tipo de péptidos se caracteriza desde el punto de vista del mecanismo de acción tóxico porque afectan canales iónicos como los de sodio, potasio, calcio y cloro [74]. De los venenos de escorpiones se han aislado diferentes tipos de estos péptidos que selectivamente interactúan con proteínas de membrana tipo canal iónico de sodio, potasio, calcio o cloro [65, 75-76].

El mecanismo de acción antimicrobiano de estos péptidos varía según el tipo de estructura que presentan, el cual está asociado a la interacción específica de estos péptidos ricos en cisteína con canales de sodio, teniendo en cuenta que hasta ahora no se ha observado una asociación de la actividad antimicrobiana con la interacción de otro

tipo de canales iónicos como los de potasio o calcio [70]. La modulación de los canales de sodio es el paso inicial para la propagación del potencial de acción de membrana en las células, generando así la propagación de potenciales de acción en células como las neuronas y otras células excitables presentes en diversos tejidos y órganos [75-77].

Estos canales constan de una subunidad principal (α) asociada a otras cuatro subunidades (β_1 , β_2 , β_3 , β_4) 'accesorias', siendo la subunidad α una glicoproteína transmembrana de aproximadamente 2.000 aminoácidos, la cual forma físicamente el canal. Las demás subunidades son consideradas sitios alostéricos que permiten modular el cierre, apertura y/o inactivación del canal [75, 78]. La subunidad α está compuesta por cuatro dominios homólogos (I-IV), no idénticos, unidos por *loops* que se exponen a nivel citoplasmático y citosólico.

Estos dominios, una vez plegados en la membrana plasmática, van a formar el poro por donde transitan los iones, así como el filtro de selectividad de estos [75-76, 78]. Cada uno de estos dominios está compuesto por seis segmentos transmembrana (S1-S6), los cuales van a ser fundamentales para el funcionamiento normal del canal y para regular estos receptores [75, 78] (figura 2). Estos segmentos son ricos en aminoácidos hidrofóbicos o no polares, a diferencia de los aminoácidos polares cargados o no cargados que se encuentran comúnmente en los *loops*. Cada segmento cumple una función específica, los segmentos S5-S6 de cada dominio, van a ser los responsables de filtrar selectivamente los iones que ingresan al canal por medio de los *loops* que los unen en cada dominio, los cuales se internalizan hacia la cara interna del canal interactuando así con los iones [79]. Así mismo, estos segmentos van a ejercer la función de 'puerta', ya que regiones en estos segmentos donde se presentan residuos de Prolina y Glicina le permiten cierta 'movilidad' a estos segmentos y así, pueden cerrar o inactivar los canales por medio de la internalización de estos segmentos en el poro [78].

El segmento S4 es particularmente diferente de los demás en cuanto a su composición, ya que además de los aminoácidos hidrofóbicos que predominan en los segmentos transmembrana, el segmento S4 está conformado además por aminoácidos que se caracterizan por poseer cadenas laterales con cargas positivas como la arginina (Arg) o la lisina (Lys), y se encuentran ubicados en intervalos de tres [78]. Estas cargas permiten que estos

segmentos puedan detectar cambios en el voltaje del canal, actuando como un segmento sensor de voltaje. Estos sensores de voltaje actúan de manera independiente y para que el poro se active se requiere que al menos uno de ellos esté en posición activa para abrir el canal [80].

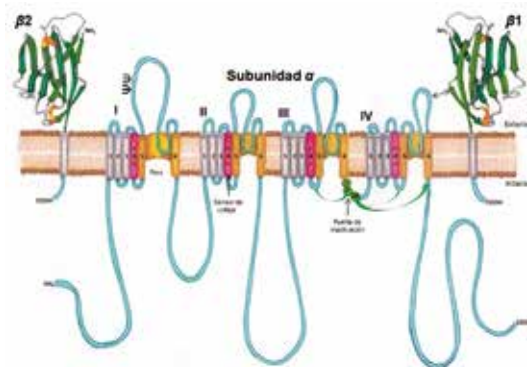


Figura 2. Canal de sodio transmembrana. Se observan las tres subunidades (α , β_1 , β_2) y cuatro dominios (I, II, III, IV) con seis segmentos transmembrana (S1-S6).

Fuente: tomado y adaptado de [75]

En estos canales iónicos se presentan siete sitios de unión diferentes de ligandos, entre estos, las toxinas de escorpiones que alteran la activación como respuesta de la conductancia así como la inactivación de estos canales. Los sitios 1, 3 y 4 son los más frecuentes blancos de las toxinas neuromoduladoras de estos venenos, ubicándose cada uno a nivel extracelular, en los *loops* que comunican diferentes segmentos [75-76, 80]. El sitio 1 está ubicado entre los *loops* de los segmentos S5-S6, se caracteriza por generar un bloqueo de la conductancia del canal interfiriendo con el transporte de iones que están obstruyendo físicamente el poro. En este sitio se unen selectivamente toxinas como las tetrodotoxina (TTX), μ -conotoxinas, entre otras toxinas de arañas como las hainantoxinas y huwentoxinas, las cuales se encuentran en las especies *Ornithoctonus hainana* y *Ornithoctonus huwena* (Mygalomorphae: Theraphosidae) respectivamente [75, 77, 81].

El sitio 3 se encuentra ubicado en el *loop* que une los segmentos 3 y 4 (S3-S4) del dominio IV en la subunidad alfa (α). La unión de ligandos a este sitio genera una disminución o bloqueo de los cambios conformacionales necesarios para la inactivación rápida de estos canales, haciendo que el canal se encuentre en la posición de apertura por más tiempo (milisegundos) y permitiendo un mayor

flujo de iones de sodio, prolongando así los potenciales de acción (figura 3).

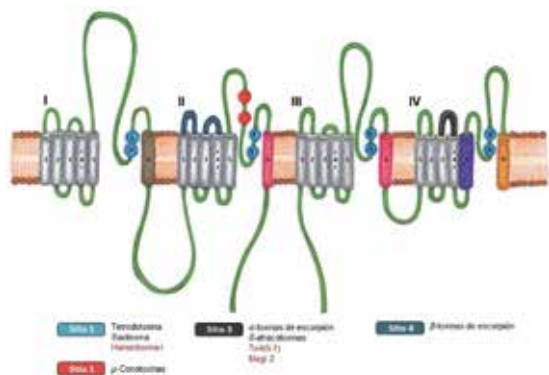


Figura 3. Sitios de unión de los péptidos ricos en cisteína con los canales de sodio

Fuente: tomado y adaptado de [75]

La despolarización de la membrana cumple un papel fundamental en la actividad de estas toxinas ya que puede disminuir la afinidad de unión de las toxinas a este sitio, indicando esto que el cambio conformacional generado por la despolarización es esencial para la actividad de estas toxinas [79]. Los aminoácidos Glu y Arg, presentes en este *loop*, parecen participar activamente de la unión de los ligandos a este, ya que su cambio por aminoácidos con cadenas laterales más negativas o con cadenas laterales más cortas aumentan la afinidad de algunas toxinas, y la presencia de cadenas laterales con cargas positivas pueden disminuir la afinidad [79]. Específicamente, esto se ha comprobado en los canales de sodio de rata (*r*) voltaje dependientes ($rNa_v1.2$), en los que los cambios de E1613 por D1613 y K1617 por T1617 generan un aumento en la afinidad de toxinas como la Lqh3, una α -toxina derivada del veneno de *Leiurus quinquestriatus* [76]. Cuando las toxinas interactúan con este sitio de unión, impiden el movimiento normal del segmento a su posición *outward* durante la despolarización de la membrana, atrapando el segmento en la posición *inward* [75-76, 78-79].

Las toxinas de escorpiones que selectivamente se unen al sitio 3 son conocidas como α toxinas, las cuales generan una disminución en la inactivación rápida de estos canales. En este sentido, las α toxinas presentes en los venenos de escorpiones son consideradas como *gating-modifiers*, lo que significa que estas toxinas modulan el flujo del canal, ya sea favoreciendo la apertura del canal o disminuyendo su

inactivación [80]. Estas toxinas presentan unos aminoácidos esenciales (arginina, lisina, isoleucina, entre otros) para ejercer el mecanismo de acción, los cuales una vez plegado el péptido, forman un sitio conocido como ‘superficie hidrofóbica conservada’ (CHS por sus siglas en inglés) que se encuentra conservado en estas α toxinas, así mismo residuos aromáticos que se encuentran en este CHS se encuentran involucrados en el mecanismo de acción [76].

Algunas de estas toxinas se han aislado e identificado en escorpiones. Es así como en el escorpión *Tityus discrepans*, Díaz y colaboradores (2013) aislaron e identificaron dos péptidos, Bactridine 1 y Bactridine 2, que a pesar de no poseer gran actividad antimicrobiana, tienen un mecanismo de acción asociado al eflujo de sodio después de la interacción de estas toxinas con células de *Y. enterocolitica* en presencia de sodio fluorescente [82]. Esta actividad se ve bloqueada cuando se usan antagonistas de canales de sodio como amiloride o mibefradil, confirmando la interacción de estas toxinas con este tipo de canales. No se observó interacción alguna de estas toxinas con canales de potasio o calcio. La secuencia de estos péptidos muestra la presencia de ocho residuos de cisteína, indicando la probable formación de cuatro puentes disulfuro en estas toxinas. Asimismo se puede dar cuenta de una carga neta positiva en estas dos toxinas ante la presencia predominante de residuos de lisina (K) y arginina (R) y de los importantes residuos de prolina (P) responsables de una disminución considerable de la actividad antimicrobiana. En términos generales, las toxinas de escorpiones que actúan sobre canales de sodio, suelen tener entre 58 y 76 aminoácidos de longitud, un peso molecular entre 6.500 y 8.500 Da, una hélice alfa y dos a tres láminas beta y cuatro puentes disulfuros que permiten que se establezca esta estructura, generando así péptidos ‘hiperestables’, resistentes a diversos ambientes químicos, térmicos y biológicos [74, 76].

Asimismo se han descrito en escorpiones, toxinas que generan una disminución de la inactivación del canal, es decir un cierre o inactivación más lento, generando tiempos de apertura del canal más prolongados al interactuar específicamente con el sitio 4. Este sitio se encuentra ubicado en el dominio 2 en el *loop* que une los segmentos S3-S4. Una vez se unen las toxinas en este sitio, ‘atrapan’ el sensor de voltaje en el estado activado, en un mecanismo llamado *trapping mechanism*, el cual fue propuesto al observar las actividades encontradas en el veneno del

escorpión *Centruroides sulffusus* (*Centruroides sulffusus sulffusus*) sobre canales de sodio neuronales.

La unión de las toxinas en este sitio ha sido reportada como voltaje independiente, sin embargo, al igual que en el sitio 3, se requiere de un breve pre-pulso de despolarización que lleve a los sensores de voltaje a su posición activa para ejercer el mecanismo de acción [80]. Unas de las más conocidas son las β escorpio-toxinas, así como otras toxinas reportadas en venenos de arañas como las atracotoxinas (ACTX), distribuidas principalmente en el género *Atrax* (Mygalomorphae: Hexathelidae). Estas toxinas incrementan la corriente de sodio aumentando el umbral de activación a potenciales de hiperpolarización [80]. En el caso de estas β escorpio-toxinas, se manejan dos teorías referentes al sitio de unión en los canales de sodio. En el primero, se maneja el clásico sitio de unión 4 ubicado en el dominio 2 entre los segmentos S3 y S4, sin embargo, Campos y colaboradores [80] plantean la posibilidad de que este tipo de toxinas podría afectar no solo estos segmentos en el dominio 2, sino que además podrían interactuar con los demás dominios presentes en los canales de sodio. Es importante tener en cuenta que estos autores utilizaron la toxina Ts1, aislada del escorpión.

Péptidos anfipáticos

Esta clase de moléculas se ha reportado en los fluidos de animales, los cuales pueden estar en contacto con el medio externo como es el caso de los venenos y la hemolinfa. Es así como en el veneno de abejas, avispas, hormigas y arañas se han encontrado algunos de estos péptidos, como es el caso del lycotoxin, del cupiennin y del oxyopinín, aislados e identificados estos en el último grupo mencionado [83]. Estos péptidos hacen parte del sistema inmune de estos animales y son considerados como uno de los principales mecanismos de defensa contra microorganismos invasores.

Estos péptidos anfipáticos, clasificados como péptidos sin residuos de cisteína o también conocidos como *non-disulfide bridge peptides*, son muy diferentes a los mencionados anteriormente y presentan una gran variedad de actividades diferentes a la antimicrobiana, como anticancerígena, hemolítica, antiinflamatoria, ente otras [74]. Estos compuestos presentan una estructura anfipática α -helicoidal y el mecanismo de acción consiste esencialmente en la desestabilización de las membranas.

Para esto es fundamental la carga neta del péptido, la cual debe ser positiva, lo que le permite interactuar con diferentes tipos de membrana, encontrando péptidos de amplio espectro con actividad tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas. Si bien en estas toxinas no se ha reportado una conservación posicional de los aminoácidos polares cargados positivamente, se conoce que en estas la estructura α -helicoidal se encuentra en la región N-terminal del péptido, y que en el caso de los escorpiones se pueden encontrar hasta dos hélices alfa. Además de la carga positiva, la presencia de aminoácidos hidrofóbicos es fundamental para que cada péptido pueda expresar ese carácter anfipático.

La carga presenta un efecto directamente proporcional a la actividad antimicrobiana así como la formación de las hélices alfa, sin embargo conforme aumenta la carga neta positiva, aumenta también el efecto hemolítico de estos péptidos [72]. La presencia de prolinas en distintos puntos de los péptidos disminuye considerablemente la actividad antimicrobiana sin importar la carga neta [72].

Las características antes mencionadas permiten que se genere una interacción electrostática entre el ambiente negativo de la membrana y el ambiente anfipático (positivo e hidrofóbico) del péptido. En un estudio realizado por Nomura y colaboradores [84], se propone que la interacción de estos péptidos con membranas de bacterias genera una curvatura negativa en la membrana, facilitando la inserción del péptido en un ángulo de 45° [70, 84]. Esta curvatura permite la exposición de las caras negativas de la membrana interna y la formación de una hélice transmembrana, la cual se oligomerizará con otras hélices transmembrana, formando así un poro que atraviesa la bicapa lipídica. La formación del poro puede darse de diversas formas, en forma de carpeta o *carpet*, en forma de barril o *barrel stave* y en forma de poro toroidal [70] (figura 4).

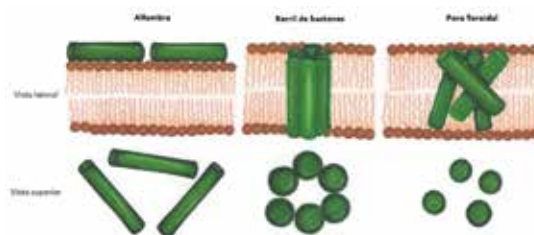


Figura 4. Formación de poros en las membranas celulares por péptidos anfipáticos

Fuente: tomado y adaptado de [70]

La formación de estos poros altera la permeabilidad de la membrana, desestabilizando y permitiendo el eflujo de sustancias al citosol (figuras 4 y 5). Es de gran importancia tener en cuenta que esta actividad se presenta tanto en células procariotas como eucariotas, presentándose en estas últimas, actividad sobre membranas de glóbulos rojos generando hemólisis. Esta actividad se evidencia en una gran cantidad de los péptidos catiónicos antimicrobianos reportados, ya sean nativos obtenidos de venenos de escorpiones, o derivados sintéticos. Además de la actividad desestabilizadora de la membrana y la capacidad formadora de poro en las membranas, estos péptidos pueden influenciar la función celular al interactuar con proteínas involucradas en la señalización celular.

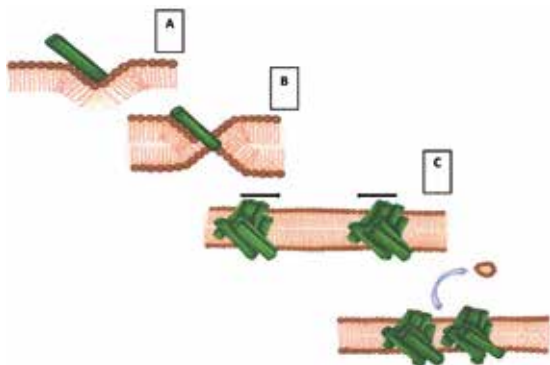


Figura 5. Interacción de los péptidos con la membrana plasmática. (A) Unión del péptido con la membrana celular (B, interacción con la curvatura negativa que se genera en esta y (C), la posterior polimerización de los péptidos para formar el poro. Por último, se da la formación del poro en la membrana. Fuente: tomado y adaptado de [70]

Diversos péptidos catiónicos formadores de poros en membrana han sido descritos en venenos de escorpiones con actividades antibacterianas y antifúngicas, entre ellos, la opistoporina 1 y opistoporina 2, ambos péptidos de 44 aminoácidos de longitud, aislados del escorpión *Opisthophthalmus carinatus* [83] y la parabutoporina, aislada de este mismo escorpión [85]. La opistoporina 1, se caracteriza porque es un péptido que contiene 12 residuos cargados, 8 lisinas (L), 3 glutamatos (D) y un glutamato (E), expresando una carga neta de más de 4 a pH neutro. Ambas opistoporinas se caracterizan por la presencia de dos hélices alfa entre los residuos 3 a 14 y 20 a 39, ambas separadas por una región 'enrollada'. En este mismo sentido, la

parabutoporina se diferencia de las opistoporinas porque desde el aminoácido 3 hasta el 35 se observa una estructura tipo hélice alfa [83].

Este tipo de características estructurales han sido reportadas igualmente en otros géneros de escorpiones para los péptidos pandinin 1 y hadrurin [71, 83, 86]. El péptido formador de poro, parabutoporina, se caracteriza por poseer una importante actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram negativas como *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Salmonella choleraesuis* a concentraciones menores a 32,7 µg/ml [85]. Además de las actividades antimicrobianas, en estos péptidos descritos (opistoporin y parabutoporina) se evidenció actividad inhibitoria del crecimiento hasta del 50% en los hongos *Neurospora crassa*, conocidos comúnmente como hongo del pan; *Botrytis cinerea* y *Fusarium culmorum*, hongos patógenos de muchas especies vegetales; así como de *S. cerevisiae*, levadura utilizada en la producción del pan, del vino y de la cerveza.

Los péptidos opistoporin 1 presentaron mejores actividades inhibitorias contra *N. crassa* y *F. culmorum*, hecho que según los estudios [69, 87], también está relacionado con la permeabilidad de la membrana de estos hongos. Ambos péptidos mostraron una leve actividad hemolítica al compararlos con la melitina, un péptido extraído del veneno de una abeja conocido por su gran capacidad hemolítica, el cual es capaz de inducir una hemólisis del 100% a una concentración de 5 µM, concentración a la cual la Parabutoporina presentó una hemólisis menor al 10% y que aumenta al 50%, a una concentración de 38 µM. La Opistoporin 1 es mucho menos hemolítica, presenta un 50% de actividad a una concentración de 100 µM [83]. En el veneno de *Opisithacanthus madagascariensis* se aislaron e identificaron los péptidos IsCT e IsCT2, que presentan un 78% de homología con el primero y similar actividad biológica.

IsCT es un péptido de 13 aminoácidos de longitud y 1502,9 Da, rico en aminoácidos hidrofóbicos como tres isoleucinas, dos leucinas, y aminoácidos básicos como dos lisinas con una estructura de hélice alfa y una carga neta de +2. Este péptido presentó actividad antibacteriana tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas, como en el caso de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, entre otras, con CMI de 1 µg/ml, 1 µg/ml, >200 µg/ml y 5 µg/ml respectivamente.

De este mismo escorpión se aisló un nuevo péptido llamado IsCT2 el cual presenta una homología del 78% con el péptido IsCT, la misma carga neta +2 y un peso molecular de 1463.92 Da. Al igual que en el caso anterior, este péptido presentó actividad antibacteriana tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas contra las mismas bacterias mencionadas anteriormente con CMI de 0,7 µg/ml, 0,7 µg/ml, >150 µg/ml, 3,4 µg/ml respectivamente. Además, estos péptidos mostraron actividad hemolítica sobre glóbulos rojos. Igualmente se aislaron los péptidos IsCTf e IsCTf2, los cuales no poseen en el C-terminal los aminoácidos Leu-Phe-NH₂ y además, no pueden formar la hélice α anfipática. A pesar de tener una estructura primaria muy similar a IsCT e IsCT2, estos no mostraron actividad antimicrobiana ni citotóxica [69, 87]. Por otro lado, del escorpión africano *Pandinus imperator*, se han aislado las pandinin 1 y 2, y la scorpine [86, 88] y la hadrurin del escorpión mexicano *Hoffmannihadrurus aztecus* (= *Hadrurus aztecus*) [71].

Pandinin 1 es un péptido básico de 44 aminoácidos de longitud y un peso de 4799,5 Da, mientras que pandinin 2 es un péptido de 24 aminoácidos, con un peso de 2612,6 Da e igualmente básico como la Pandinin 1. Ambos péptidos mostraron baja actividad contra bacterias Gram positivas como *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *Ent. faecalis* and *S. aureus*, pero una gran actividad contra las bacterias Gram negativas como *P. aeruginosa* y *E. coli*. Para la evaluación con *C. albicans*, ambos péptidos no mostraron actividad significativa ante este hongo, siendo en todo caso más efectivo pandinin 2 sobre pandinin 1 [86].

En el caso de la hadrurin, este es un péptido lineal básico de 44 aminoácidos con un peso molecular de 4436 Da. Este péptido mostró actividad al inhibir el crecimiento de bacterias tales como *E. cloacae*, *E. coli* y *S. marcescens* a concentraciones menores a 10 µM y menor fue su potencia cuando se probó contra *Salmonella thyphi* y *K. pneumoniae*, donde requirió concentraciones cercanas a 40 µM para ejercer actividad antimicrobiana. Sin embargo, estos péptidos, mostraron actividad hemolítica importante, tanto la forma nativa, como la forma sintética, obteniéndose cerca de un 80 % de lisis de los eritrocitos a una concentración de 20 µM, siendo estas menos hemolíticas que la melitina [71]. El péptido BmKn2 es un péptido de naturaleza básico que expresa una hélice α y fue aislado del

escorpión chino *Mesobuthus martensii*. Este péptido no contiene puentes disulfuro en su estructura química y también demostró tener una fuerte actividad antibacteriana tanto para bacterias Gram positivas (*S. aureus*, *Micrococcus luteus* y *B. subtilis*); como Gram negativas (*E. coli* y *P. aeruginosa*), siendo más alta su actividad contra las Gram positivas [89] Amino Acid</keyword></keywords><dates><year>2004</year><pub-dates><date>Feb</date></pub-dates></dates><isbn>0196-9781 (Print.

Del escorpión *Isometrus maculatus*, se aisló un péptido lineal que además de la actividad antibacteriana, mostró actividad insecticida sobre grillos (*A. domestica*) El veneno completo de este escorpión presentó una actividad insecticida sobre los grillos con una dosis letal 50 de 94 µg/g de peso del insecto. La dosis necesaria para ejercer una actividad de parálisis fue seis veces menor, 16 µg/g de peso del insecto. Una vez fraccionado y separado el veneno, se encontró el péptido Im-1, el cual presentó una masa molecular de 6344,5 Da, mostrando igualmente la actividad insecticida. Este péptido de 56 aminoácidos de longitud, con 10 residuos de Lys y 3 de Arg, presentó una importante homología con otros péptidos ya descritos como el parabutoporin y el BmKbpb. Este péptido inhibió el crecimiento de *E. coli* y *B. subtilis* a bajas concentraciones (micromolares).

Al igual que en escorpiones, en algunas arañas se han aislado ciertos compuestos de interés que pueden afectar canales iónicos o que pueden interactuar directamente en las membranas celulares. Aunque la mayoría de los trabajos se han realizado en el exterior, Estrada-Gómez, junto con Vargas y colaboradores, han adelantado aproximaciones al contenido proteico de escorpiones y arañas que han permitido la caracterización de algunos venenos [68, 90-92]. Es muy importante continuar con estudios que profundicen y enriquezcan el conocimiento de estos venenos, en especial los de arácnidos que se describen para Colombia.

Conclusión

Por miles de años, la naturaleza ha sido una fuente rica en sustancias con actividad biológica. Los venenos de serpientes y escorpiones contienen un gran número de proteínas y péptidos biológicamente activos, que no solo les son útiles para

digerir las presas, sino también como defensa contra microorganismos. Estudios sobre la estructura, actividad y blanco farmacológico de las toxinas derivadas del veneno, han llevado no solo a un mejor entendimiento del papel de tales proteínas en los procesos fisiológicos, sino también al desarrollo de nuevos fármacos.

Referencias

1. Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Science*. 1992;257(5073):1064-73.
2. Benavides-Plascencia L, Aldama-Ojeda AL, Vázquez HJ. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud Pública Mex* 2005;47:219-26.
3. Michaut L, Fehlbaum P, Moniatte M, Van Dorsse-laer A, Reichhart J-M, Bulet P. Determination of the disulfide array of the first inducible antifungal peptide from insects: drosomycin from *Drosophila melanogaster*. *FEBS Letters*. 1996;395(1):6-10. Doi: 10.1016/0014-5793(96)00992-1
4. Hancock REW, Lehrer R. Cationic peptides: a new source of antibiotics. *Trends in Biotechnology*. 1998;16(2):82-8. doi:10.1016/S0167-7799(97)01156-6
5. Epand RM, Vogel HJ. Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochimica et biophysica acta*. 1999;1462(1-2):11-28.
6. Duarte MCT, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;97(2):305-11. Doi:10.1016/j.jep.2004.11.016
7. Bailey P, Wilce J. Venoms as a source of useful biologically active molecules. *Emergency Medicine* 2001;13:28-36.
8. Ovechkina YY, Pettit RK, Cichacz ZA, Pettit GR, Oakley BR. Unusual antimicrotubule activity of the antifungal agent spongistatin I. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1999;43(8):1993-9.
9. Ondetti MA, Williams NJ, Sabo EF, Pluscec J, Weaver ER, Kocy O. Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of *Bothrops jararaca*. Isolation, elucidation of structure, and synthesis. *Biochemistry*. 1971;10(22):4033-9.
10. Huang TF, Chang MC, Peng HC, Teng CM. A novel alpha-type fibrinogenase from *Agkistrodon rhodostoma* snake venom. *Biochimica et biophysica acta*. 1992;1160(3):262-8.
11. Furlan M, Beck EA. [Structural model of factor VIII complex]. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 1976;106(40):1378.
12. Institute NH. Examples of Antimicrobial (Drug) Resistance 2015 [internet]. 2016 [citado feb 2016]. Disponible en: <https://www.niaid.nih.gov/topics/antimicrobialresistance/examples/Pages/default.aspx>
13. World Health Organization (WHO). Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Executive Summary. Suiza: World Health Organization [internet]. 2001 [citado 1 nov 2015]. Available from: http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf
14. Echavarría J, Iglesias D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Revista Médica Herediana*. 2003;14(4):195-203.
15. Jaramillo EL. Resistencia bacteriana a los antibióticos en la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital de Caldas, 1992-1994. *Colombia Médica* 1996;27(2):69-76.
16. Vélez L. Terapia antimicrobiana. En *Fundamentos de medicina. Enfermedades infecciosas 1*. 5 ed. Medellín: CIB; 1996. p. 26-60.
17. Katzung BG. Quimioterapéuticos. En *Moderno EM*, editor. *Farmacología Básica y Clínica 1*. 9 ed. Bogotá: El Manual Moderno; 2005. p. 730.
18. Goodman LS, Gilman AG, Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. *Bases farmacológicas de la terapéutica*. 11 ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2007.
19. Safrin S. Antivirales. En: *Moderno EM*, editor. *Farmacología Básica y Clínica 1*. 9 ed. Bogotá: El Manual Moderno; 2005. p. 793-5.
20. de Lima DC, Álvarez Abreu P, de Freitas CC, Santos DO, Borges RO, Dos Santos TC, et al. Snake Venom: Any Clue for Antibiotics and CAM? *Evid Based Complement Alternat Med*. 2005 mar; 2(1):39-47. Doi:10.1093/ecam/neh063
21. Shlyapnikov YM, Andreev YA, Kozlov SA, Vasilevski AA, Grishin EV. Bacterial production of laticin 2a, a potent antimicrobial peptide from spider venom. *Protein expression and purification*. 2008;60(1):89-95. Doi:10.1016/j.pep.2008.03.011
22. Meier J, Stocker KF. Biology and distribution of venomous snakes of medical importance and the composition of snake venoms. En White J, Meier J, editores. *Handbook of Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons*. United Kingdom: Taylor & Francis; 1995. p. 367-412.
23. Blaylock RS. Antibacterial properties of KwaZulu natal snake venoms. *Toxicon*. 2000;38(11):1529-34.

24. Stiles BG, Sexton FW, Weinstein SA. Antibacterial effects of different snake venoms: purification and characterization of antibacterial proteins from *Pseudechis australis* (Australian king brown or mulga snake) venom. *Toxicon*. 1991;29(9):1129-41. Doi:10.1016/0041-0101(91)90210-I
25. Talan DA, Citron DM, Overturf GD, Singer B, Froman P, Goldstein EJ. Antibacterial activity of crotalid venoms against oral snake flora and other clinical bacteria. *The Journal of infectious diseases*. 1991;164(1):195-8. Doi:10.1093/infdis/164.1.195
26. Samy RP, Gopalakrishnakone P, Chow VT, Ho B. Viper metalloproteinase (*Agkistrodon halys pallas*) with antimicrobial activity against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of cellular physiology*. 2008;216(1):54-68. Doi:10.1002/jcp.21373
27. Gutiérrez JM, Lomonte B. Phospholipase A2 myotoxins from *Bothrops* snake venoms. En Kini RM, editor. *Venom Phospholipase ASUB 2/SUB Enzymes: Structure, Function and Mechanism*. United States: Wiley; 1997. p. 321-52.
28. Xu C, Ma D, Yu H, Li Z, Liang J, Lin G, et al. A bactericidal homodimeric phospholipases A2 from *Bungarus fasciatus* venom. *Peptides*. 2007;28(5):969-73. doi:10.1016/j.peptides.2007.02.008
29. Santamaria C, Larios S, Angulo Y, Pizarro-Cerda J, Gorvel JP, Moreno E, et al. Antimicrobial activity of myotoxic phospholipases A2 from crotalid snake venoms and synthetic peptide variants derived from their C-terminal region. *Toxicon*. 2005;45(7):807-15. doi:10.1016/j.toxicon.2004.09.012
30. Paramo L, Lomonte B, Pizarro-Cerda J, Bengoechea JA, Gorvel JP, Moreno E. Bactericidal activity of Lys49 and Asp49 myotoxic phospholipases A2 from *Bothrops asper* snake venom--synthetic Lys49 myotoxin II-(115-129)-peptide identifies its bactericidal region. *European journal of biochemistry/FEBS*. 1998;253(2):452-61. doi:10.1046/j.1432-1327.1998.2530452.x
31. Santamaria C, Larios S, Quiros S, Pizarro-Cerda J, Gorvel JP, Lomonte B, et al. Bactericidal and antiendotoxic properties of short cationic peptides derived from a snake venom Lys49 phospholipase A2. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005;49(4):1340-5. Doi:10.1128/AAC.49.4.1340-1345.2005
32. Phillips AJ. Treatment of non-albicans *Candida* vaginitis with amphotericin B vaginal suppositories. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2005;192(6):2009-12; discussion 12-3. doi:10.1016/j.ajog.2005.03.034
33. Murillo LA, Lan CY, Agabian NM, Larios S, Lomonte B. Fungicidal activity of a phospholipase-A2-derived synthetic peptide variant against *Candida albicans*. *Revista Española de Quimioterapia*. 2007;20(3):330-3.
34. Stabeli RG, Amui SF, Sant'Ana CD, Pires MG, Nomizo A, Monteiro MC, et al. *Bothrops moojeni* myotoxin-II, a Lys49-phospholipase A2 homologue: an example of function versatility of snake venom proteins. *Comparative biochemistry and physiology Toxicology & pharmacology: CBP*. 2006;142(3-4):371-81. doi: 10.1016/j.cbpc.2005.11.020
35. Foreman-Wykert AK, Weinrauch Y, Elsbach P, Weiss J. Cell-wall determinants of the bactericidal action of group IIA phospholipase A2 against Gram-positive bacteria. *The Journal of clinical investigation*. 1999;103(5):715-21. doi: 10.1172/jci5468
36. Soares AM, Guerra-Sa R, Borja-Oliveira CR, Rodrigues VM, Rodrigues-Simioni L, Rodrigues V, et al. Structural and functional characterization of BnSP-7, a Lys49 myotoxic phospholipase A(2) homologue from *Bothrops neuwiedi pauloensis* venom. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2000;378(2):201-9. doi:10.1006/abbi.2000.1790
37. Nuñez V, Arce V, Gutiérrez JM, Lomonte B. Structural and functional characterization of myotoxin I, a Lys49 phospholipase A2 homologue from the venom of the snake *Bothrops atrox*. *Toxicon*. 2004;44(1):91-101. doi:10.1016/j.toxicon.2004.04.013
38. Rodrigues VM, Marcussi S, Cambraia RS, de Araujo AL, Malta-Neto NR, Hamaguchi A, et al. Bactericidal and neurotoxic activities of two myotoxic phospholipases A2 from *Bothrops neuwiedi pauloensis* snake venom. *Toxicon*. 2004;44(3):305-14. doi:10.1016/j.toxicon.2004.06.008
39. Barbosa PS, Martins AM, Havt A, Toyama DO, Evangelista JS, Ferreira DP, et al. Renal and antibacterial effects induced by myotoxin I and II isolated from *Bothrops jararacussu* venom. *Toxicon*. 2005;46(4):376-86. doi: 10.1016/j.toxicon.2005.04.024
40. Perumal Samy R, Pachiappan A, Gopalakrishnakone P, Thwin MM, Hian YE, Chow VT, et al. In vitro antimicrobial activity of natural toxins and animal venoms tested against *Burkholderia pseudomallei*. *BMC infectious diseases*. 2006;6:100. doi:10.1186/1471-2334-6-100
41. Costa TR, Menaldo DL, Oliveira CZ, Santos-Filho NA, Teixeira SS, Nomizo A, et al. Myotoxic phospholipases A(2) isolated from *Bothrops brazili* snake venom and synthetic peptides derived from their C-terminal region: cytotoxic effect on microorganism and tumor cells. *Peptides*. 2008;29(10):1645-56. Doi:10.1016/j.peptides.2008.05.021
42. Vargas LJ, Londoño M, Quintana JC, Rua C, Segura C, Lomonte B, et al. An acidic phospholipase A(2) with antibacterial activity from *Porthidium nasutum*

- snake venom. Comparative biochemistry and physiology Part B, Biochemistry & molecular biology. 2012;161(4):341-7. doi:10.1016/j.cbpb.2011.12.010
43. Nair DG, Fry BG, Alewood P, Kumar PP, Kini RM. Antimicrobial activity of omwaprin, a new member of the waprins family of snake venom proteins. The Biochemical journal. 2007;402(1):93-104. doi:10.1042/BJ20060318
44. Gomes VM, Carvalho AO, Da Cunha M, Keller MN, Bloch C, Jr., Deolindo P, et al. Purification and characterization of a novel peptide with antifungal activity from *Bothrops jararaca* venom. Toxicon. 2005;45(7):817-27. doi:10.1016/j.toxicon.2004.12.011
45. Stabeli RG, Marcussi S, Carlos GB, Pietro RC, Selistre-de-Araujo HS, Giglio JR, et al. Platelet aggregation and antibacterial effects of an L-amino acid oxidase purified from *Bothrops alternatus* snake venom. Bioorganic & medicinal chemistry. 2004;12(11):2881-6. doi:10.1016/j.bmc.2004.03.049
46. Ciscotto P, Machado de Avila RA, Coelho EA, Oliveira J, Diniz CG, Farias LM, et al. Antigenic, microbicidal and antiparasitic properties of an L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops jararaca* snake venom. Toxicon. 2009;53(3):330-41. doi:10.1016/j.toxicon.2008.12.004
47. Vargas Munoz LJ, Estrada-Gomez S, Nunez V, Sanz L, Calvete JJ. Characterization and cDNA sequence of *Bothriechis schlegelii* L-amino acid oxidase with antibacterial activity. International journal of biological macromolecules. 2014;69:200-7. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.05.039
48. Vargas LJ, Quintana JC, Pereanez JA, Nuñez V, Sanz L, Calvete J. Cloning and characterization of an antibacterial L-amino acid oxidase from *Crotalus durissus cumanensis* venom. Toxicon. 2013;64:1-11. doi:10.1016/j.toxicon.2012.11.027
49. Tan NH, Fung SY. Snake Venom L-Amino Acid Oxidases. En Mackessy SP, editor. Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles. United States: CRC Press; 2009. p. 221.
50. Okubo BM, Silva ON, Miglioli L, Gomes DG, Porto WF, Batista CL, et al. Evaluation of an antimicrobial L-amino acid oxidase and peptide derivatives from *Bothropoides matogrossensis pitviper* venom. PloS one. 2012;7(3):e33639. Doi:10.1371/journal.pone.0033639
51. Skarnes RC. L-amino-acid oxidase, a bactericidal system. Nature. 1970;225(5237):1072-3.
52. Wei JF, Wei Q, Lu QM, Tai H, Jin Y, Wang WY, et al. Purification, characterization and biological activity of an L-amino acid oxidase from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom. Sheng wu hua xue yu sheng wu li xue bao Acta biochimica et biophysica Sinica. 2003;35(3):219-24.
53. Liu JW, Chai MQ, Du XY, Song JG, Zhou YC. Purification and characterization of L-amino acid oxidase from *Agkistrodon halys pallas* venom. Sheng wu hua xue yu sheng wu li xue bao Acta biochimica et biophysica Sinica. 2002;34(3):305-10.
54. Toyama MH, Toyama Dde O, Passero LF, Laurenti MD, Corbett CE, Tomokane TY, et al. Isolation of a new L-amino acid oxidase from *Crotalus durissus cascavella* venom. Toxicon. 2006;47(1):47-57. doi:10.1016/j.toxicon.2005.09.008
55. Izidoro LF, Ribeiro MC, Souza GR, Sant'Ana CD, Hamaguchi A, Homs-Brandeburgo MI, et al. Biochemical and functional characterization of an L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops pirajai* snake venom. Bioorganic & medicinal chemistry. 2006;14(20):7034-43. doi:10.1016/j.bmc.2006.06.025
56. Tonismagi K, Samel M, Trummal K, Ronnholm G, Siigur J, Kalkkinen N, et al. L-amino acid oxidase from *Vipera lebetina* venom: isolation, characterization, effects on platelets and bacteria. Toxicon. 2006;48(2):227-37. doi:10.1016/j.toxicon.2006.05.004
57. Stabeli RG, Sant'Ana CD, Ribeiro PH, Costa TR, Ticli FK, Pires MG, et al. Cytotoxic L-amino acid oxidase from *Bothrops moojeni*: biochemical and functional characterization. International journal of biological macromolecules. 2007;41(2):132-40. doi:10.1016/j.ijbiomac.2007.01.006
58. Rodrigues RS, da Silva JF, Boldrini Franca J, Fonseca FP, Otaviano AR, Henrique Silva F, et al. Structural and functional properties of Bp-LAAO, a new L-amino acid oxidase isolated from *Bothrops pauloensis* snake venom. Biochimie. 2009;91(4):490-501. doi:10.1016/j.biochi.2008.12.004
59. Zhong SR, Jin Y, Wu JB, Jia YH, Xu GL, Wang GC, et al. Purification and characterization of a new L-amino acid oxidase from *Daboia russellii siamensis* venom. Toxicon. 2009;54(6):763-71. S0041-0101(09)00294-3 [pii] doi: 10.1016/j.toxicon.2009.06.004
60. Samel M, Tonismagi K, Ronnholm G, Vija H, Siigur J, Kalkkinen N, et al. L-Amino acid oxidase from *Naja naja oxiana* venom. Comparative biochemistry and physiology Part B, Biochemistry & molecular biology. 2008;149(4):572-80. doi:10.1016/j.cbpb.2007.11.008
61. Costa Torres AF, Dantas RT, Toyama MH, Diz Filho E, Zara FJ, Rodrigues de Queiroz MG, et al. Antibacterial and antiparasitic effects of *Bothrops marajoensis* venom and its fractions: Phospholipase A2 and L-amino acid oxidase. Toxicon. 2010;55(4):795-804. doi:10.1016/j.toxicon.2009.11.013

62. Sun MZ, Guo C, Tian Y, Chen D, Greenaway FT, Liu S. Biochemical, functional and structural characterization of Akbu-LAAO: a novel snake venom L-amino acid oxidase from *Agkistrodon blomhoffii ussuriensis*. *Biochimie*. 2010;92(4):343-9. doi:10.1016/j.biochi.2010.01.013
63. Lee ML, Tan NH, Fung SY, Sekaran SD. Antibacterial action of a heat-stable form of L-amino acid oxidase isolated from king cobra (*Ophiophagus hannah*) venom. *Comparative biochemistry and physiology Toxicology & pharmacology: CBP*. 2011;153(2):237-42. doi:10.1016/j.cbpc.2010.11.001
64. Santibáñez-López EC, Francke FO, Ureta C, Possani DL. Scorpions from Mexico: From Species Diversity to Venom Complexity. *Toxins*. 2016;8(1). doi:10.3390/toxins8010002
65. Possani LD, Merino E, Corona M, Becerril B. Scorpion genes and peptides specific for potassium channels: Structure, function and evolution. En André M, editor. *Perspectives in molecular toxicology*. England: John Wiley & Sons, Ltd; 2002. p. 200-14.
66. Prendini L. Order Scorpiones. En *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. Auckland: Magnolia Press; 2011. p. 115-7.
67. Cupitra NI, Cubides S, Saldarriaga-Córdoba MM, Estrada-Gómez S. Distribución de *Centruroides edwardsii* (GERVAIS, 1843) en el departamento de Antioquia, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. 2015;20(1):207-15. doi:10.15446/abc.v20n1.42832.
68. Estrada-Gómez S, Vargas Muñoz LJ, Saldarriaga-Córdoba M, Quintana Castillo JC. Venom from *Opisthacanthus elatus* scorpion of Colombia, could be more hemolytic and less neurotoxic than thought. *Acta tropica*. 2016;153:70-8. doi:10.1016/j.actatropica.2015.09.019
69. Dai L, Corzo G, Naoki H, Andriantsiferana M, Nakajima T. Purification, structure-function analysis, and molecular characterization of novel linear peptides from scorpion *Opisthacanthus madagascariensis*. *Biochemical and biophysical research communications*. 2002;293(5):1514-22. doi:10.1016/S0006-291X(02)00423-0
70. Harrison PL, Abdel-Rahman MA, Miller K, Strong PN. Antimicrobial peptides from scorpion venoms. *Toxicon*. 2014;88:115-37. doi:10.1016/j.toxicon.2014.06.006
71. Torres-Larios A, Gurrola GB, Zamudio FZ, Possani LD. Hadrurin, a new antimicrobial peptide from the venom of the scorpion *Hadrurus aztecus*. *European journal of biochemistry/FEBS*. 2000;267(16):5023-31. doi:10.1046/j.1432-1327.2000.01556.x
72. Giangaspero A, Sandri L, Tossi A. Amphipathic alpha helical antimicrobial peptides - A systematic study of the effects of structural and physical properties on biological activity. *European Journal of Biochemistry*. 2001;268(21):5589-600. doi:10.1046/j.0014-2956.2001.02494.x
73. Bulet P, Stocklin R. Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. *Protein and peptide letters*. 2005;12(1):3-11.
74. Santibáñez-López CE, Possani LD. Overview of the Knottin scorpion toxin-like peptides in scorpion venoms: Insights on their classification and evolution. *Toxicon*. 2015;107(Part B):317-26. doi:10.1016/j.toxicon.2015.06.029
75. Nicholson GM. Insect-selective spider toxins targeting voltage-gated sodium channels. *Toxicon*. 2007;49(4):490-512. doi:10.1016/j.toxicon.2006.11.027
76. Bosmans F, Tytgat J. Voltage-gated sodium channel modulation by scorpion α -toxins. *Toxicon*. 2007;49(2):142-58. doi:10.1016/j.toxicon.2006.09.023
77. Nicholson GM. Spider venom peptides. En Hastin A, editor. *Handbook of Biologically Active Peptides*. Louisiana: Elsevier; 2006. p.1640.
78. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*. 2000;26(1):13-25.
79. Rogers JC, Qu Y, Tanada TN, Scheuer T, Catterall WA. Molecular determinants of high affinity binding of alpha-scorpion toxin and sea anemone toxin in the S3-S4 extracellular loop in domain IV of the Na⁺ channel alpha subunit. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(27):15950-62. doi:10.1074/jbc.271.27.15950
80. Campos FV, Chanda B, Beirão PSL, Bezanilla F. β -Scorpion Toxin Modifies Gating Transitions in All Four Voltage Sensors of the Sodium Channel. *The Journal of General Physiology*. 2007;130(3):257-68. doi:10.1085/jgp.200609719
81. Yuan C, Jin Q, Tang X, Hu W, Cao R, Yang S, et al. Proteomic and peptidomic characterization of the venom from the Chinese bird spider, *Ornithoctonus huwena* Wang. *J Proteome Res*. 2007;6(7):2792-801. doi:10.1021/pr0700192
82. Diaz P, D'Suze G, Salazar V, Sevcik C, Shannon JD, Sherman NE, et al. Antibacterial activity of six novel peptides from *Tityus discrepans* scorpion venom. A fluorescent probe study of microbial membrane Na⁺ permeability changes. *Toxicon*. 2009;54(6):802-17. doi:10.1016/j.toxicon.2009.06.014
83. Moerman L, Bosteels S, Noppe W, Willems J, Clynen E, Schoofs L, et al. Antibacterial and antifungal properties of alpha-helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. *European*

- journal of biochemistry / FEBS. 2002;269(19):4799-810.
84. Nomura K, Ferrat G, Nakajima T, Darbon H, Iwashita T, Corzo G. Induction of morphological changes in model lipid membranes and the mechanism of membrane disruption by a large scorpion-derived pore-forming peptide. *Biophysical journal*. 2005;89(6):4067-80. doi:10.1529/biophysj.105.070292
 85. Verdonck F, Bosteels S, Desmet J, Moerman L, Noppe W, Willems J, et al. A novel class of pore-forming peptides in the venom of *parabuthus schlechteri* Purcell (scorpions: *buthidae*). *Cimbebasia*. 2000;16:247-60.
 86. Corzo G, Escoubas P, Villegas E, Barnham KJ, He W, Norton RS, et al. Characterization of unique amphipathic antimicrobial peptides from venom of the scorpion *Pandinus imperator*. *The Biochemical journal*. 2001;359(Pt 1):35-45.
 87. Dai L, Yasuda A, Naoki H, Corzo G, Andriantsiferana M, Nakajima T. IsCT, a novel cytotoxic linear peptide from scorpion *Opisthacanthus madagascariensis*. *Biochemical and biophysical research communications*. 2001;286(4):820-5. doi:10.1006/bbrc.2001.5472
 88. Conde R, Zamudio FZ, Rodriguez MH, Possani LD. Scorpine, an anti-malaria and anti-bacterial agent purified from scorpion venom. *FEBS Lett*. 2000;471(2-3):165-8.
 89. Zeng XC, Wang SX, Zhu Y, Zhu SY, Li WX. Identification and functional characterization of novel scorpion venom peptides with no disulfide bridge from *Buthus martensii* Karsch. *Peptides*. 2004;25(2):143-50. doi:10.1016/j.peptides.2003.12.003
 90. Estrada-Gómez S, Cupitra NI, Arango WM, Muñoz LJ. Intraspecific variation of *centruroides edwardsii* venom from two regions of Colombia. *Toxins*. 2014;6(7):2082-96. doi:10.3390/toxins6072082
 91. Estrada-Gómez S, Muñoz LJ, Lancho P, Latorre CS. Partial Characterization of Venom from the Colombian Spider *Phoneutria Boliviensis* (Aranae: Ctenidae). *Toxins*. 2015;7(8):2872-87. doi:10.3390/toxins7082872
 92. Estrada-Gómez S, Vargas Muñoz LJ, Quintana Castillo JC. Extraction and partial characterization of venom from the Colombian spider *Pamphobeteus aff. nigricolor* (Aranae: Theraphosidae). *Toxicon*. 2013;76C:301-9. doi:10.1016/j.toxicon.2013.10.014