

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS  
AMÉRICAS**

**ESCUELA DE FARMACIA**

**DISEÑO MOLECULAR *IN SILICO* DE UN  
GASTROPROTECTOR, ANTIULCEROSO Y  
CITOPROTECTOR A PARTIR DEL METABOLITO  
BAICALEÍN PRESENTE EN LA PLANTA LLANTÉN  
(*PLANTAGO MAYOR*) COMO AGONISTA DEL  
RECEPTOR EP3A DE LA PROSTAGLANDINA  
ACOPLADO A LA PROTEÍNA G INHIBIDORA**

**DZIN MEN ZHEN LIANG**

**SAN JOSÉ, NOVIEMBRE, MAYO, 2018**

## CONTENIDO

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....	7
Planteamiento del problema .....	7
Hipótesis.....	8
Objetivo general .....	9
Objetivos específicos.....	9
Justificación.....	9
Antecedentes .....	12
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	16
Generalidades de la secreción gástrica y mecanismo de defensas contra ellas.....	16
Fisiología de la secreción gástrica .....	16
Defensas gástricas contra el ácido gástrico.....	17
Función de prostaglandinas a nivel gástrico .....	18
Generalidades de los Antiinflamatorios No Esteroides (AINEs).....	22
Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos.....	22
Farmacocinética de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....	23
Selección de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) según necesidad.....	24
Factores de riesgo de gastroscopía inducidas por AINEs .....	25
Reacciones adversas de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....	25
Gastropatías ocasionadas por la administración de antiinflamatorios no esteroideos.....	26
Gastritis inducidas por AINEs. ....	26
Úlceras inducidas por AINEs.....	26
Tratamientos que mejoran las defensas de la mucosa .....	27
Generalidades de los Inhibidores de bomba de protones (IBP) .....	28
Efectos adversos y complicaciones de los inhibidores de bomba de protones (IBP) .....	29
Aumento del riesgo de demencia o alteraciones neurológicas. ....	29
Déficit de vitamina B12 o cobalamina.....	30
Déficit de magnesio o hipomagnesemia. ....	31
Riesgo de fracturas óseas.....	31

Riesgo de infecciones entéricas y de neumonía. ....	32
Inhibición de la absorción de hierro. ....	33
Generalidades de <i>Plantago mayor</i> .....	33
Baicaleín: Componente bioactivo de <i>Plantago mayor</i> .....	36
Emisión de señales celulares .....	37
Generalidades sobre los receptores fisiológicos en seres vivos. ....	39
Proteínas G heterotriméricas .....	40
Ciclo de las proteínas G heterotriméricas .....	42
Receptores acoplados a proteína G (GPCR) .....	46
Segundos mensajeros involucrados en la activación de las proteínas G heterotriméricas. ....	50
Adenilil-ciclase.....	50
Activación de fosfolipasa C por la subunidad G $\alpha$ . ....	53
Calcio (Ca <sup>2+</sup> ). ....	54
Metabolitos del ácido araquidónico.....	55
Etapas del descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos a nivel <i>in silico</i> .....	55
Modelado molecular de compuestos con actividades biológicas.....	58
Relaciones de estructura-actividad y diseño de fármacos.....	59
Modelado por homología.....	61
Cribado virtual o filtrado computacional de colecciones de compuestos .....	63
Biblioteca virtual de las moléculas sintetizadas .....	66
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO .....	67
Enfoque .....	67
Método .....	67
Variables.....	68
Instrumentos y técnicas .....	71
Procedimiento de recolección y análisis de los datos .....	73
Paso 1. Diseño del ligando.....	73
Paso 2. Análisis de las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los derivados .....	73
Paso 3. Obtención del modelo tridimensional del receptor EP3A de prostaglandina acoplado a la proteína G inhibidora. ....	74

4. Anclaje o acople molecular .....	74
Paso 5. Proceso de optimización de la molécula hit .....	75
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	76
Modelado por homología .....	76
Diseño de la biblioteca virtual de compuestos .....	77
Propiedades fisicoquímicas de las moléculas incluidas en la biblioteca virtual y su cumplimiento con los parámetros definidos.....	79
Sitio de unión de los ligandos en el receptor de prostaglandina EP3A.....	84
“Docking” de la molécula prototipo y baicaleín con el receptor EP3A de prostaglandina.....	86
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	92
Conclusiones .....	92
Recomendaciones.....	93
Referencias .....	94
Apéndice A. Estructura primaria en formato FASTA de los receptores usados para el modelado por homología de EP3A .....	104
Apéndice B. Datos obtenidos de la molécula baicaleín .....	106
Apéndice C. Estructura de los derivados de baicaleín .....	107
Apéndice D. Propiedades fisicoquímicas de los análogos derivados de baicaleín .....	129

## CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Regulación Fisiológica y Farmacológica de la Secreción Gástrica.....	18
Figura 2. Biosíntesis de Eicosanoides.....	19
Figura 3. Diferentes Estructuras de Prostaglandinas.....	20
Figura 4. Mecanismo de Acción de los Antiinflamatorios No Esteroides sobre la Vía Ciclooxigenasa .....	23
Figura 5. La Planta <i>Plantago mayor</i> o Llantén .....	34
Figura 6. Propiedades Medicinales del <i>Plantago mayor</i> y sus Compuestos Químicos .....	35
Figura 7. Estructura Molecular del Baicaleín.....	36
Figura 8. Ubicación de la Molécula Reguladora según su Solubilidad .....	39
Figura 9. Propagación de la Señal para llevar a cabo el Efecto Farmacológico .....	40
Figura 10. Procesos que Ocurren en el Ciclo de la Proteína G Heterotrimérica.....	43
Figura 11. Reacciones que Ocurren al Receptor Acoplado a la Proteína G al Unirse un Ligando	44
Figura 12. Componentes del Sistema Efecto de Ligando-Proteína G .....	44
Figura 13. Estructuras Cristalizadas Representativas de los Receptores Acoplados a la Proteína G .....	46
Figura 14. Esquema Representativo de los Bucles del Receptor EP3A Acoplada a las Proteína G .....	47
Figura 15. Carga Positiva (Representado en Color Azul) del Receptor EP3A de Prostaglandina	48
Figura 16. Diferentes Tipos de Receptores Acoplados a las Proteínas G .....	49
Figura 17. Sistema de Activación e Inhibición de una Adenilil-Ciclase según el Receptor en que se Une el Ligando .....	51
Figura 18. Sistema de Regularización de la Actividad del Adenilil.Ciclase.....	52
Figura 19. El Ciclo de Fosfatidilinositol .....	53
Figura 20. Liberación de Inositol-Trifosfato y Diacilglicerol como Segundos Mensajeros .....	54

Figura 21. Proceso de Optimización de Compuestos Activos (Hits).....	57
Figura 22. Esquema General del Proceso de Descubrimiento y Desarrollo de un Fármaco.....	58
Figura 23. Estructura Cristalizada del Receptor $\beta$ 2-Adrenérgico (PDB-ID 2RH1).....	62
Figura 24. Estructura Cristalizada del Receptor de Prostaglandina D2 (PDB-ID 6D26) .....	63
Figura 25. Modelado por Homología del Receptor EP3A Proyectada en Chimera.....	77
Figura 26. Estructura Tridimensional del Baicaleín Proyectada en Chimera .....	78
Figura 27. Gridbox de la Diana EP3A según los Ejes Establecidos .....	85
Figura 28. Estructura de la Molécula Prototipo (Análogo 60).....	87
Figura 29. Interacción del Baicaleín con el Receptor EP3A de Prostaglandina .....	88
Figura 30. Interacción de la Molécula Prototipo con el Receptor EP3A de Prostaglandina.....	89

## CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1. Formas en que las Células se Comunican a través de Mensajeros Químicos.....	38
Tabla 2. Subunidades de las Proteínas G según sus Receptores y Efectores Relacionados .....	42
Tabla 3. Filtros y sus Criterios o Rangos para Seleccionar Compuestos .....	64
Tabla 4. Variables de la Investigación .....	68
Tabla 5. Base de Datos Utilizados para la Búsqueda de Estructuras Químicas .....	71
Tabla 6. Programas Informáticos (Software) que Permite Realizar Análisis Quimioinformática.	72
Tabla 7. Porcentajes de Similitud de los Receptores en Comparación con el Receptor EP3A .....	76
Tabla 8. Primera Ronda: Diseño de Análogos del 1 al 77 .....	80
Tabla 9. Segunda Ronda: Diseño de Análogos del 78 al 100 .....	81
Tabla 10. Propiedades Físicoquímicas de la Molécula Prototipo (Análogo número 60).....	83
Tabla 11. Ejes de Referencias Utilizados para Alinear la Cuadrícula en el Receptor EP3A.....	85
Tabla 12. Residuos Involucrados en la Interacción con Baicaleína y la Molécula Prototipo.....	90

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

### Planteamiento del problema

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) ejercen una acción sistémica y tóxica sobre la mucosa gastroduodenal por la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX), reduciendo la producción de prostaglandinas y del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica y, además, aumenta el estrés oxidativo y la secreción ácida. Como las prostaglandinas (PG) son las encargadas de inhibir la acción de la enzima adenilciclasa que controla el funcionamiento de la bomba de protones, es de esperarse que la deficiencia de PG desencadene grandes daños gastroduodenales que involucran la reducción de defensas de la mucosa, afectando también el flujo sanguíneo de la mucosa y la secreción de bicarbonato (Fernández, 2018, p. 12-15).

La úlcera gástrica constituye unas de los problemas gastrointestinales más comunes y representa un problema de salud mundial tanto en términos de morbilidad como de mortalidad (Babu *et al.*, 2010, p.117). Además, la evidencia ha demostrado que el uso crónico de AINE en pacientes de alto riesgo se ha relacionado con complicaciones graves y que la aplicación de medidas profilácticas reduce de forma considerable estos eventos, causantes de más de 100,000 hospitalizaciones al año en los Estados Unidos y de 7,000 a 10,000 muertes anuales en pacientes clasificados como de riesgo alto (Valesco *et al.*, 2016, p.123). Por todo lo mencionado, los agonistas de prostaglandinas pueden prevenir el daño gastroduodenal causado por los AINEs (Fernández, 2018, p. 15).

Los inhibidores de bomba de protones (IBP) son muy utilizados como tratamiento a largo plazo para enfermedades crónicas y como tratamiento profiláctico en diversos trastornos de ácido-pépticos (como el reflujo gastroesofágico, las úlceras pépticas, los estados hipersecretorios, el síndrome de Zollinger-Ellison), por su eficacia y seguridad (Lúquez *et al.*, 2017, p.198). En general, la sobreutilización de IBP es preocupante por sus posibles efectos adversos y complicaciones alarmantes descubiertas recientemente; entre ellas se incluyen las infecciones entéricas, la gran incidencia de infección por *Clostridium difficile*, el déficit de absorción de Ca<sup>++</sup>, de vitamina B12, de hierro y de magnesio, aumento de fracturas óseas y de neumonía adquirida en la comunidad (Cienfuegos, 2010; De la Coba *et al.*, 2016).

Dada esta necesidad, se plantea la posibilidad de recurrir a productos naturales como terapias alternativas efectivas, que presenten menos efectos adversos, menos complicaciones, y con la factibilidad de compararse con medicamentos comercializados, como lo son los inhibidores de bomba de protones. Una estrategia para obtenerlo es el modelado molecular, el cual es una técnica computacional que permite estudiar la interacción que existe entre un fármaco y su diana, mediante la representación de las estructuras y comportamiento de las moléculas, con el fin de predecir si una molécula va a unirse a un receptor, y por lo tanto, puede ser un punto de partida para el diseño y síntesis de fármacos (Font, 2017, p. 5).

A nivel del tracto gastrointestinal, el llantén (*Plantago mayor*, Plantaginaceae) ha mostrado efectividad en hemorragias gastrointestinales altas y bajas, hematemesis, disentería, hemorroides, dolor de estómago, diarrea, úlceras gastrointestinales, dispepsia, estreñimiento y colitis (Najafian *et al.*, 2018, p. 6392). En la actualidad se cree que sus taninos y flavonoides son los responsables de la actividad gastroprotectora, antiulceroso y citoprotector, y como han mostrado diferencias no significativas con el omeprazol en la función gastroprotectora, se ha sugerido realizar más estudios al respecto (San Martín, *et al.*, 2017, p.80). Entre esos flavonoides está baicaleína, que cuenta con propiedades antiinflamatorias, antisecretora, antiulcerogénica, gastroprotectora, citoprotectora, antioxidante y anticancerígena (Ribero *et al.*, 2016, pp. 34 y 36).

Ante el panorama propuesto y mediante el uso de información científica y programas informáticos, la autora de esta investigación se plantea la siguiente pregunta: ¿Es viable el diseño de una molécula a partir del baicaleína como agonista de los receptores EP3A de la prostaglandina acoplada a la proteína G inhibidora para un efecto gastroprotector, antiulceroso y citoprotector?

## **Hipótesis**

Un agonista de la prostaglandina E2 a partir del metabolito baicaleína y su receptor EP3A acoplada a la proteína G inhibidora, tiene gran viabilidad para el uso como gastroprotector, antiulceroso y citoprotector, y podría permitir obtener una nueva alternativa terapéutica para sustituir la administración de los inhibidores de bomba de protones cuando se utilizan antiinflamatorios no esteroideos en un tratamiento farmacológico.

## Objetivo general

Diseñar un agonista para el receptor EP3A de prostaglandina acoplada a la proteína G inhibidora, a partir del metabolito baicaleín y algunos de sus derivados, mediante el uso de técnicas *in silico*.

## Objetivos específicos

Crear una biblioteca virtual de 100 análogos derivados del metabolito baicaleín para el receptor EP3A de prostaglandina acoplado a la proteína G inhibidora utilizando el método *in silico*.

Determinar la molécula de la biblioteca virtual previamente diseñada con mejor acople al receptor EP3A de prostaglandina acoplada a la proteína G inhibidora, considerando las características de un fármaco prototipo.

Optimizar la molécula seleccionada para una mejor interacción con el receptor EP3A de prostaglandina acoplada a la proteína G inhibidora.

## Justificación

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son unos de los medicamentos más comercializados y considerados como excelentes estrategias en el tratamiento de la inflamación aguda y crónica. Estos poseen propiedades antipiréticas, antiinflamatorias y analgésicas, debido a su acción inhibidora de la enzima COX2 y el bloqueo de la síntesis de prostaglandinas (PG) (Perea *et al.*, 2016, p. 76). En relación con el tiempo de administración de los AINEs, se definió como uso crónico la utilización del AINEs por tres o más días a la semana por más de un mes y, su dosis es alta cuando la cantidad del medicamento está por arriba de la cantidad recomendada del mismo (Valesco, *et al.*, 2016, p. 123).

Como los AINEs reducen los factores gastroprotectores, es necesario combinarlos con los inhibidores de la bomba de protones (IBP), con un antagonista H<sub>2</sub> o con un mucoprotector (Fernández, 2014, pp. 12-15). El tratamiento con IBP debe mantenerse entre 7 y 14 días después de finalizado el tratamiento con el AINE. Por otro lado, el misoprostol (un análogo de prostaglandina) es tan efectivo como los IBP a dosis de 600-800 microgramos por 24 horas (Gené

*et al.*, 2009, pp. 298-299). De esta manera, cuando los pacientes toman AINEs no selectivos y selectivos para COX2 rutinariamente, se les debe considerar los efectos gastrointestinales, la toxicidad renal, la hipertensión arterial y la falla cardiaca, para una mejor eficacia, seguridad y adherencia al tratamiento (Peralta *et al.*, 2013, p. 234).

Los IBP son muy utilizados como tratamiento a largo plazo, por su eficacia y seguridad, en diversos trastornos de ácido-pépticos (como el reflujo gastroesofágico, las úlceras pépticas, los estados hipersecretorios, el síndrome de Zollinger-Ellison). Por ser considerados como los supresores más potentes de la secreción ácida gástrica, en dosis habituales pueden disminuir la producción de ácido hasta un 80% y 95% (Lúquez *et al.*, 2017, p.198). No obstante, varios autores han realizado una revisión sobre sus efectos adversos y han reportado complicaciones alarmantes como: infecciones entéricas, gran incidencia de infección por *Clostridium difficile*, déficit de absorción de Ca<sup>+</sup>, de vitamina B12, de hierro y de magnesio, aumento de fracturas óseas y de neumonía adquirida en la comunidad (Cienfuegos, 2010; De la Coba *et al.*, 2016).

Por otro lado, las prostaglandinas (PG) pueden inhibir la secreción ácida estimulada por histamina y la liberación de histamina estimulada por gastrina (Rodríguez y Alfaro, 2010, p.61). Del mismo modo, en la Guía de seguimiento farmacoterapéutico sobre úlcera péptica, publicada por Ferrer y colaboradores (2010, p. 25), indica que las PG son mucoprotectores muy utilizados, las cuales actúan por un mecanismo citoprotector, pueden favorecer la cicatrización, protegen la mucosa aumentando sus defensas y generalmente se usan en la profilaxis de la úlcera por estrés. Sin embargo, en la actualidad no se practican mucho debido a que se consideran menos eficaces que los antagonistas H<sub>2</sub> y a los IBP.

Las prostaglandinas tienen tres principales clases seriales, las cuales son A, E y F, por lo que es de considerar que la función de una PG puede variar según los distintos tejidos (Díaz, L., 2015, p.102). Las PGE<sub>2</sub> actúan por medio de los receptores acoplados a las proteínas G. Estos receptores son conocidos como prostanoides E (EP) 1, EP2, EP3 y EP4, los cuales se encargan de activar o inhibir los segundos mensajeros en el interior de la célula (Díaz, MD. *et al.*, 2012, p. 47). Así mismo, menciona Díaz, L (2015) que las PGE<sub>2</sub> actúan en la defensa y protección de la mucosa gástrica y en la inhibición de la secreción ácida (p. 102).

Cada vez existe una mayor tendencia mundial en el uso de productos naturales, por lo que se espera que para el año 2020, el 75% de la población lo podría usar como un recurso terapéutico

para satisfacer sus necesidades de salud y para la creación de más fármacos. Por este motivo, es necesario aprovecharlos bien en la formulación de fármacos, que como conveniencia otorgaría poder económico en el comercio y aportes a las ciencias farmacológicas. Si bien es cierto, para disminuir los riesgos, se deben realizar pruebas que garanticen su eficacia, seguridad, terapia adecuada y calidad mediante los modernos avances. Además, el uso de gastroprotectores es bastante complicado por sus interacciones, efectos adversos y por sus costos. Para ello, se sugiere recurrir a terapias alternativas naturales, como es el caso del *Plantago mayor* (Pinto y Bustamante, 2008, p.36-37).

*Plantago mayor*, familia Plantaginaceae, es una planta reconocida por sus múltiples propiedades medicinales a nivel popular, entre ellas las capacidades anticancerígenas, antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales, analgésicas, antioxidantes, antiulcerogénicas, hepatoprotectoras e inmunomoduladoras (Lukova *et al.*, 2017, p. 210). Según lo anterior, y haciendo referencia a Berit (2000): “Los estudios etnofarmacológicos más recientes muestran que esta planta se puede usar en enfermedades de piel, enfermedades infecciosas, problemas relacionados con órganos digestivos, órganos respiratorios, reproducción, circulación, contra los tumores, para aliviar el dolor y para reducir la fiebre.” (p. 2)

A nivel del tracto gastrointestinal, *Plantago mayor* ha mostrado efectividad en hemorragias gastrointestinales altas y bajas, hematemesis, disentería, hemorroides, dolor de estómago, diarrea, úlceras gastrointestinales, dispepsia, estreñimiento y colitis. Las semillas del llantén tienen un efecto gastroprotector más significativo que las hojas, pero solo el extracto de las hojas puede disminuir las úlceras gástricas (Najafian *et al.*, 2018, p.6392-6393). Un estudio analizado por Sabag y sus colaboradores (2010), mostraron que los responsables de la actividad gastroprotectora del llantén eran los taninos y flavonoides, logrando también evidenciar que el omeprazol (inhibidor de bomba de protones) y el extracto etanólico del llantén presentaban actividades muy similares.

Baicaleína es un flavonoide bioactivo producido por muchos alimentos y plantas medicinales, entre ellas está *Plantago mayor*. Cabe resaltar que baicaleína podría tener muchos usos como suplemento para la salud debido a sus propiedades farmacológicas, entre ellas se podrían mencionar que es un agente antiinflamatorio, antisecretor, antiulcerogénico, gastroprotector, citoprotector, antioxidante y anticancerígeno. Este flavonoide tiene la capacidad para reducir el volumen de secreción gástrica y la secreción total de ácido, además de aumentar el valor del pH y

aumentar la producción de moco (Ribero *et al.*, 2016, pp. 34 y 39). Por lo tanto, baicaleína pueden proporcionar un buen enfoque terapéutico para los trastornos asociados al nivel digestivo.

El desarrollo y descubrimiento de fármacos es un proceso complejo y costoso, el cual inicia con la identificación de las necesidades y luego de los compuestos que se unen a un blanco terapéutico o que muestran actividad biológica en un ensayo de tamizaje. Aunque el desarrollo de medicamentos se ha hecho siempre por métodos experimentales, se espera que el proceso se acelere mediante el uso de computadoras (método *in silico*), que permiten explorar, descubrir, analizar, generar hipótesis y diseñar nuevas estructuras químicas. Sin embargo, quedan muchos retos por delante, los cuales involucran la innovación y mejoramiento de estos métodos a nivel *in silico* (Saldívar *et al.*, 2017, p. 52).

El cribado virtual es una herramienta *in silico* de moléculas sintéticamente accesibles e ideales para el estudio virtual, son depositadas en bases de datos o una biblioteca virtual, para seleccionar el mejor candidato a partir de ellas y eliminar las que poseen características indeseables, que luego serán optimizadas con el fin de perfeccionar el efecto terapéutico. Se estima que los métodos experimentales tienen éxitos inferiores a 1 por cada 10 000 compuestos, mientras que el cribado virtual es de 100 a 1000 veces mayor. No obstante, para llevarlo a cabo es necesario contar con información ya existente sobre fármacos y receptores biomoleculares (Cuanalo *et al.*, 2011, p. 54-55).

Por todo lo anterior, este trabajo de investigación propone realizar una biblioteca virtual de 100 o más derivados del metabolito baicaleína, para luego analizar los parámetros fisicoquímicos de cada molécula obtenida. Una vez seleccionada la molécula candidata más estable será optimizada, comparando su acople conformacional y direccional al receptor de prostaglandina EP3A acoplado a proteína G inhibidora, con el fin de seleccionar el mejor candidato y crear una nueva alternativa terapéutica que pueda sustituir la administración de los IBP a la hora de tomar un AINEs.

### **Antecedentes**

En este trabajo de investigación se estudia la relación entre el receptor EP3A de prostaglandina acoplado a la proteína G inhibidora con el metabolito baicaleína y algunos derivados

de este, con el fin de obtener un posible diseño molecular que permita un acople configuracional de manera adecuada entre el receptor y el metabolito. Primeramente, se hace una recopilación de información científica en diferentes bases de datos y se utilizaran varios programas informáticos de acceso libre disponibles para realizar este trabajo a nivel *in silico*.

Un estudio realizado por Tamez y sus colaboradores en el año 2001, en Estados Unidos, analizó la activación de macrófagos y linfocitos *in vitro* por extractos metanólicos de hojas del llantén (*Plantago mayor*). Según los resultados obtenidos, ellos sugieren que las actividades gastroprotectora y antiulcerosa de los extractos etanólicos del llantén pueden estar relacionados con el efecto antisecretor de ácidos y con la estimulación de la secreción de mucosa gástrica, revelando un efecto y mecanismo citoprotector.

Pinto y Bustamante (2008), mencionan que el llantén (*Plantago mayor*) es una planta nativa de Eurasia, conocida como una maleza universal. En Bolivia, ellos realizaron un estudio en donde reportaron que, tanto los extractos acuosos como los extractos etanólicos del llantén, poseen una actividad gastroprotectora y antiulcerosa con una dosis de 500 mg/kg en ratas, lo cual resultó ser muy similar al omeprazol, el medicamento patrón. Además, indican que sus posibles metabolitos responsables de tales actividades son los taninos y flavonoides.

Más adelante, Sabag y colaboradores (2010) en Bolivia, confirmaron que los responsables de la actividad gastroprotectora provenía de los taninos y flavonoides, por medio de la marcha fitoquímica preliminar y del "screening" fitoquímico por fraccionamiento, a partir del extracto etanólico del llantén. Lograron formular un fitomedicamento gastroprotector bajo la forma farmacéutica de un gel y valoraron su actividad cicatrizante frente al medicamento patrón omeprazol, el cual no presentó una diferencia significativa.

Los datos obtenidos del estudio de Kobeasy y sus colaboradores en Egipto (2013), revelaron que *Plantago mayor* contenía cinco clases de compuestos biológicamente activos con agentes antiulcerosos, a partir de modelos ulcerosos en ratas, y entre ellos estaban los flavonoides (baicaleína, baicallina, luteolina), compuestos fenólicos (ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico), compuesto benzoico (ácido vanílico), glucósido iridoide (aucubina) y triterpenos (ácido oleanólico, ácido ursólico).

En unos de los estudios más recientes realizado por Ribeiro y sus colaboradores en Brasil (2016), evidenciaron, mediante modelos de úlceras gástricas inducidas por diferentes agentes en

ratas, que el flavonoide baicaleín extraído de la raíz de *Scutellaria baicalensis* (Lamiaceae) podía ser utilizado como agente gastroprotector, citoprotector y antiulceroso debido a la capacidad para reducir el volumen de secreción gástrica y la secreción total de ácido, además de aumentar el valor del pH y aumentar la producción de moco. Tal flavonoide mencionado está presente también en *Plantago mayor*. Los resultados evidencian que baicaleín podría ser usado como un agente citoprotector y antiulceroso en las úlceras gástricas.

El estudio de Li y sus colaboradores en China (2014), ha indicado que baicaleín se absorbe bien en el estómago y en el intestino delgado, pero con una absorción limitada del colon, mientras que baicalina es absorbida moderadamente bien en el estómago, pero mal absorbido desde el intestino delgado y el colon. En cuanto a baicaleín, este fue la especie preferida para la absorción oral debido a que presentaba una rápida absorción y una restauración de baicalina en la circulación sistémica por la hidrólisis de baicaleín. Además, se espera que los niveles circulantes de baicalina vuelvan a entrar en el tracto gastrointestinal a través de la excreción biliar. Li-Weber (2009), indica que la diferencia entre baicaleín y baicalina, radica que en el primero presenta un grupo hidroxilo en la posición C7 de la molécula, mientras que en la segunda presenta una molécula de ácido glucurónico en la posición C7.

Por otro lado, según varios estudios realizados en España (Gené *et al.*, 2009; Loza, 2011), se ha encontrado que los AINEs están en un puesto de ventas de medicamentos muy destacado con más de 40 millones de envases vendidos, y mediante la actualización de las complicaciones gastrointestinales producidos por los AINEs, el estudio indicó que las complicaciones digestivas, generadas por los AINEs, son la causa de 50.000 hospitalizaciones anuales, de 1.000 a 2.500 muertes por año en España y de 16.500 muertes por año en Estados Unidos.

En otro estudio, Sánchez *et al.*, (2013) reportaron las indicaciones inadecuadas en el consumo crónico de inhibidores de bomba de protones en un hospital de Sinaloa, México, se determinó que la frecuencia de indicación de tratamiento crónico con IBP era adecuada en el 64,7 % de los pacientes hospitalizados, e inadecuada en el 35,3 %. Al mismo tiempo encontraron que la indicación inadecuada más frecuente fue la prescripción sin diagnóstico (22,2 %), polifarmacia sin AINE (16,6 %) y gastritis crónica (16,6 %).

En el 2017, Lúquez y colaboradores en Bogotá, Colombia, relacionaron el déficit de vitamina B12 con el consumo de inhibidores de la bomba de protones (IBP) como uno de los

efectos secundarios alarmantes. La determinación de los niveles séricos de vitamina B12 en pacientes, y notaron que el consumo de IBP mayor a 3 años se relaciona con una disminución en los niveles séricos de vitamina B12 y que la edad, el sexo, el tipo de IBP y la dosis utilizada no son factores independientes relacionados con esta disminución.

A nivel nacional, en un estudio realizado por García y colaboradores (2003), sobre la toxicidad subcrónica y prueba de irritabilidad ocular del extracto acuoso de las hojas de *Plantago mayor*, informan que la administración del extracto acuoso de las hojas del llantén sobre el ojo de los conejos, no presenta irritabilidad ocular en ninguna de las 5 administraciones de 200  $\mu$ l (100 mg/ml) que realizaron, obtenido por decocción, y sugiere que este preparado es relativamente seguro para su aplicación como colirio.

Por otro lado, Blanco y colaboradores (2007), analizaron los compuestos medicinales del llantén recolectados en las zonas de Heredia y San José, el cual es considerado como un arvense. Mencionan que la planta presenta actividades astringentes, antiácida, antiinflamatorio, emoliente, antibacteriano y que la actividad cicatrizante y hemostática se debe a los taninos (alantoína), el cual estimula la regeneración de células epidérmicas. Actualmente, existe comercialización de llantén como remedio casero, en donde venden las hojas o toda la planta seca y en pequeñas cantidades, para emplearla como infusión o unguento.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

En este apartado se mencionan las características teóricas de las secreciones gástricas, donde es fundamental su comprensión sobre la síntesis de prostaglandinas y su relación con las patologías gastrointestinales ocasionadas por la administración de los antiinflamatorios no esteroides (AINEs). También abarca temas de tratamiento profiláctico comunes, como lo son los inhibidores de bomba de protones (IBP) y sobre estudios más recientes advierten sobre efectos adversos alarmantes. Además, se comentan las generalidades de la planta llantén (*Plantago mayor*), su metabolito activo principal baicaleína y su importancia como fuente de investigación científica, así como el potencial del receptor EP3A de prostaglandina acoplado a la proteína G inhibidora en el impacto de un mecanismo de acción alternativo para alcanzar un efecto gastroprotector, antiulceroso y citoprotector. Por otro lado, se explica la relevancia del desarrollo de técnicas *in silico* en el descubrimiento de nuevas moléculas y cómo deben ser analizadas.

### **Generalidades de la secreción gástrica y mecanismo de defensas contra ellas**

La secreción gástrica es fundamental en la digestión, en la absorción de nutrientes específicos y en los mecanismos de defensa del cuerpo. El control de la secreción de productos característicos de los tipos de células que revisten el estómago, representa un papel sumamente importante para el control de la función gastrointestinal como un todo, y se sabe que la acción de prostaglandinas funciona como uno de los mecanismos de protección de la mucosa gástrica, por lo tanto, es importante entender la función bioquímica y fisiológica de la secreción de ácido gástrico para poder contraatacar el exceso de ácido que causa tanto malestar en este nivel sistemático.

### **Fisiología de la secreción gástrica**

La secreción del ácido gástrico es una función compleja y continua en la que contribuyen múltiples factores centrales y periféricos para un mismo resultado final; la secreción de iones de hidronio  $\text{-H}^+$  por las células parietales, para la formación, junto con iones de cloruro  $\text{Cl}^-$ , de ácido

clorhídrico (HCl). La acetilcolina, la histamina y la gastrina regulan la secreción del ácido gástrico al unirse con sus receptores específicos  $M_3$ ,  $H_2$  y  $CCK_2$  respectivamente, las cuales se encuentran en la membrana basolateral de las células parietales en el cuerpo y el fondo del estómago (Figura 1), (Brunton *et al.*, 2012, párr. 2 y 4).

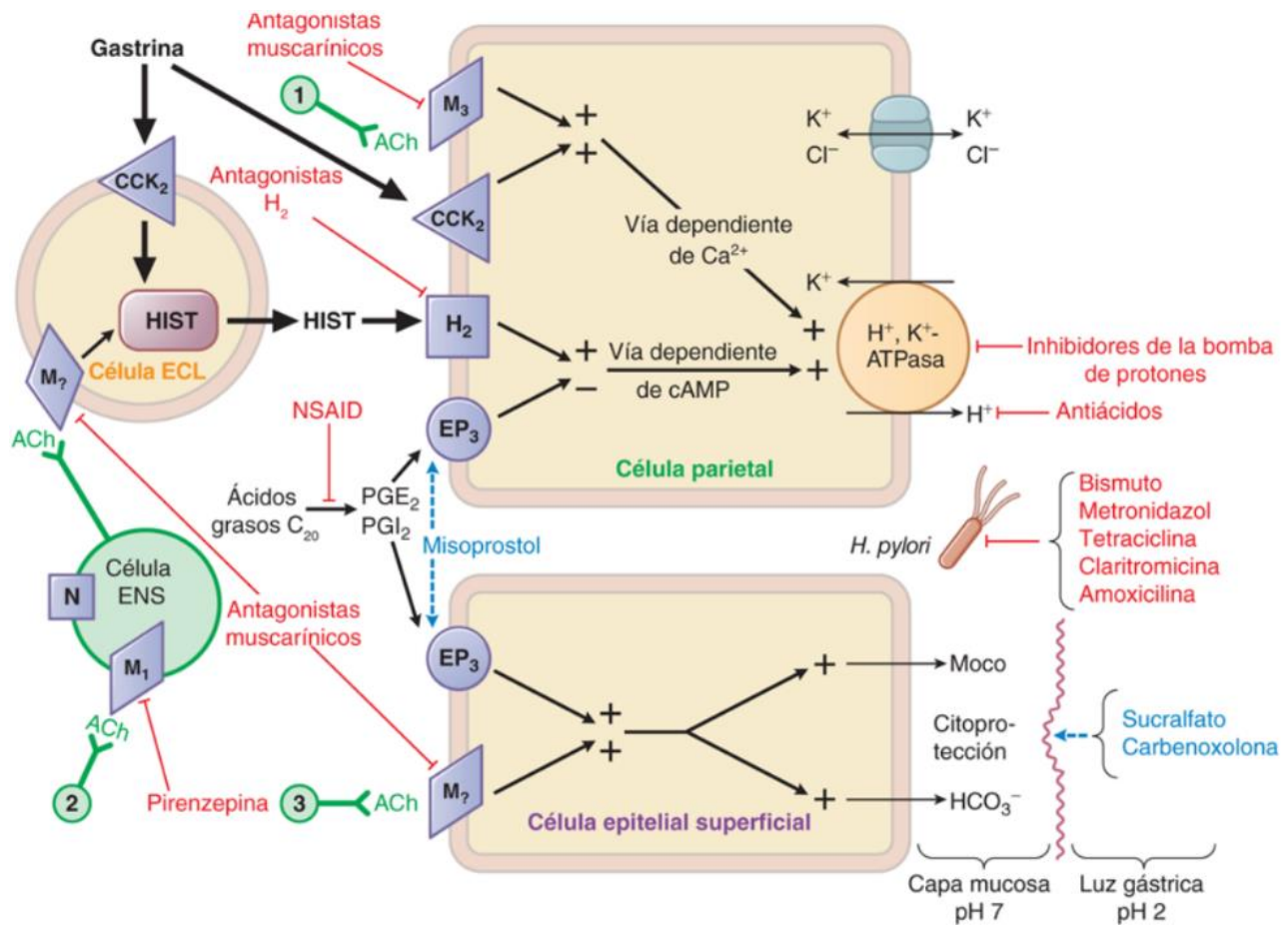
El receptor  $H_2$  puede activar la vía de  $G_5$ -adenililciclase-AMP cíclico-PKA. La acetilcolina y la gastrina señalizan a través de los receptores GPCR que acoplan la vía  $G_q$ -PLC- $IP_3$ - $Ca^{2+}$  en las células parietales. Asimismo, el AMP cíclico y la vía dependiente del  $Ca^{2+}$  activan la  $H^+$ - $K^+$ -ATPasa (la bomba de protones), que intercambia iones de hidrógeno y potasio a través de la membrana de la célula parietal generando un pH intracelular de 7.3 y un pH intracanalicular de 0.8 aproximadamente (Brunton *et al.*, 2012, párr. 4).

### **Defensas gástricas contra el ácido gástrico**

La concentración extremadamente alta de  $H^+$  en la luz gástrica, exige mecanismos de defensa para que protejan al esófago y al estómago. El estómago se protege a sí mismo contra la lesión de ácido por diversos mecanismos que exigen un flujo sanguíneo adecuado en la mucosa, secreción de una capa de moco que ayuda a proteger las células epiteliales al atrapar el bicarbonato secretado en la superficie celular (Figura 1), (Brunton *et al.*, 2012, párr. 7). Existen tres niveles compuestos por elementos preepiteliales, epiteliales y subepiteliales que explican los mecanismos de defensa gástrica (Díaz, L., 2015, p. 100).

El nivel preepitelial está compuesto por una capa de moco y de bicarbonato que actúan como barrera y responden a los estímulos de prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ), mientras que en el nivel epitelial, sus células brindan protección mediante diversos factores y entre ellos se encuentran transportadores iónicos que mantienen el pH intracelular, la producción de moco, bicarbonato, péptidos trefoil y proteínas de choque térmico que impiden la desnaturalización de proteínas por aumento de temperatura, agentes citotóxicos o estrés oxidativo. Por último, los elementos subepiteliales estimulan mecanismo de protección monogástrica manteniendo el flujo sanguíneo que traen consigo nutrientes y productos de desechos y promueve la síntesis de prostaglandinas (Díaz, 2015, pp. 101-102).

**Figura 1. Regulación Fisiológica y Farmacológica de la Secreción Gástrica**

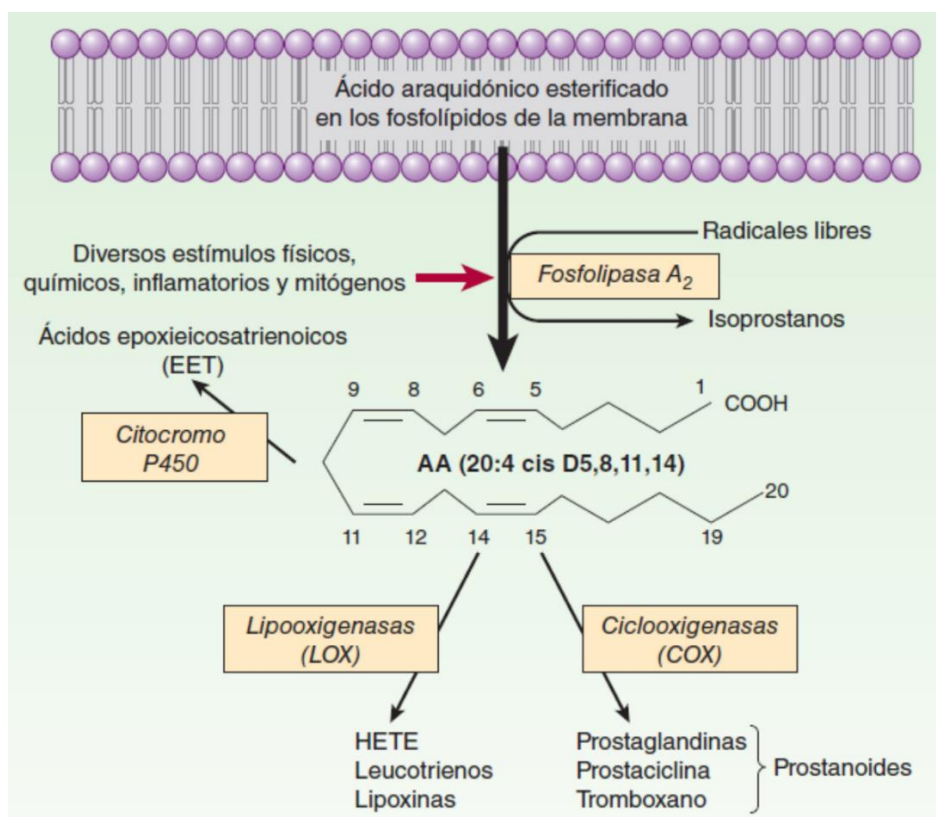


Fuente: Brunton *et al.*, 2012, párr. 3

### Función de prostaglandinas a nivel gástrico

El ácido araquidónico es un ácido graso omega-6 constituido por 20 carbonos y es uno de los precursores eicosanoides más abundantes. Este se libera de la membrana de fosfolípidos por acción de una o más fosfolipasas A<sub>2</sub> (activados por estímulos químicos y físicos). Una vez liberado, el ácido araquidónico sufre oxigenación por tres diferentes vías: Vía ciclooxigenasa (COX), el cual genera los productos tres prostanoides que son prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos; vía lipooxigenasa (LOX), generando ácido hidroxieicosatetraenoico, leucotrienos y lipoxinas; y finalmente la vía del citocromo P450 con ácidos epoxieicosatrienoicos. (Figura 2) (Smyth y FitzGerald, 2016, párr. 2 a 16).

**Figura 2. Biosíntesis de Eicosanoides**



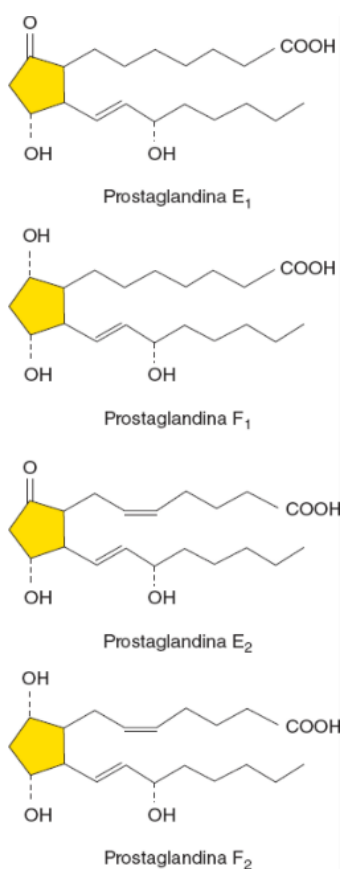
Fuente: Smyth y FitzGerald, 2016, párr. 3.

Las prostaglandinas (PG) están implicadas en la regulación del diámetro de los vasos sanguíneos, la ovulación, la contracción uterina durante el trabajo de parto, reacciones de inflamación y coagulación de la sangre (Fox, 2016, párr. 101). Las PG tienen tres principales clases seriales, las cuales son A, E y F, por lo que es de considerar que la función de una prostaglandina puede variar según los distintos tejidos en que están presentes. (Figura 3) (Díaz, L., 2015, p.102). Las prostaglandinas E y F estimulan la contracción del músculo longitudinal del estómago y del colon y también pueden estimular el desplazamiento de agua y electrolitos hacia la luz intestinal. El músculo circular por lo general se relaja en respuesta a la administración de PGE<sub>2</sub> y se contrae en respuesta a PGF<sub>2α</sub> (Dandan y Brunton, 2015, párr. 37).

En el estómago, las PGE<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub> contribuyen con el incremento de la secreción del moco (citoprotección) y también pueden inhibir la secreción ácida estimulada por histamina y la liberación de histamina estimulada por gastrina (Rodríguez y Alfaro, 2010, p. 61). De hecho, uno

de los mucoprotectores más utilizados incluye las PG, las cuales actúan por un mecanismo citoprotector, pueden favorecer la cicatrización, protegen la mucosa aumentando sus defensas (moco, bicarbonato y fosfolípidos de la membrana) y generalmente se usan en la profilaxis de la úlcera por estrés (Ferrer *et al.*, 2010, p. 25). Por consiguiente, los fármacos que inhiben la formación de prostaglandinas disminuyen las defensas y aumentan la aparición de la enfermedad ácido-péptica (Brunton *et al.*, 2012, párr. 7).

**Figura 3. Diferentes Estructuras de Prostaglandinas**



Fuente: Fox, 2016, párr. 102.

Los prostanoides ejercen su función biológica al unirse con sus receptores y las acciones de las PGE<sub>2</sub>, así como otros prostanoides, están mediadas a través de la unión a receptores específicos de alta afinidad que pertenecen a la gran familia de receptores asociados a la proteína G (GPCR). Sin embargo, las PGE<sub>2</sub> se unen con afinidad similar a cuatro tipos de receptores GPCR llamados

prostanoides E que son EP1, EP2, EP3 y EP4, modulando actividades de las enzimas adenilato ciclasa y fosfolipasas (Diaz, MD. *et al.*, 2012, p. 47). Estos receptores de prostanoides parecen derivar de un receptor EP ancestral y comparten una gran homología. La comparación filogenética de esta familia de receptores lleva a su división en tres subgrupos (Dandan y Brunton, 2015, párr. 22):

- Receptores relajantes EP<sub>2</sub>, EP<sub>4</sub>, IP y DP1 activan la adenilil-ciclasa por medio de G<sub>s</sub>. Esta acción causa un incremento en la producción de cAMP celular, lo que a su vez activan proteínas cinasas específicas (Dandan y Brunton, 2015, párr. 23).

- Receptores contráctiles EP<sub>1</sub>, FP y TP activan el metabolismo del fosfatidilinositol, el cual incrementa las concentraciones citosólicas de Ca<sup>2+</sup> (Dandan y Brunton, 2015, párr. 23). TP se acopla a múltiples proteínas G para estimular las vías de transmisión de señales de proteína G pequeña, y pueden activar o inhibir la adenilil-ciclasa por medio de G<sub>s</sub> (TP $\alpha$ ) o G<sub>i</sub> (TP $\beta$ ), respectivamente (Smyth y FitzGerald, 2016, párr. 22).

- Las isoformas del receptor EP3 pueden acoplarse con la elevación de las concentraciones citosólicas de Ca<sup>2+</sup> y con la estimulación o la inhibición del cAMP (Dandan y Brunton, 2015, párr. 23).

Se han identificado múltiples isoformas del receptor EP3 y todos estos receptores prostanoides identificados están altamente conservados en todas las especies, la homología de secuencia entre los receptores humanos y de ratón está en el rango de 80 a 90%. En el ratón, se han identificado tres isoformas del receptor EP3, las cuales difieren en la secuencia primaria del dominio citoplásmico, por lo tanto, difieren en su eficacia de acoplamiento con varias proteínas G. Se ha demostrado que los receptores EP3 se acoplan a las proteínas G<sub>i</sub>, G<sub>s</sub> y G<sub>q</sub>, por lo que es muy probable que las consecuencias fisiológicas de la activación del receptor EP3 puedan variar sustancialmente dependiendo del tipo de célula examinada (Fabre *et al.*, 2001, p. 603-604).

Las isoformas EP3A, EP3B y EP3C, y EP3D, EP3A, y EP3F comparten la misma respuesta a PGE<sub>2</sub>, es decir, la inhibición de adenilil-ciclasa. Sin embargo, se pueden esperar diferencias en la desensibilización inducida por el ligando o la internalización de los receptores. Los estudios con el receptor  $\beta$ -adrenérgico revelaron que existen mecanismos distintos que contribuyen a la regulación de la transducción de señales como la desensibilización, es decir, la rápida pérdida de respuesta al

antagonista y la regulación negativa que conduce a una lenta reducción de sitios de unión (Schmid *et al.*, 1995, p. 29). Los receptores EP3 tienen cuatro variantes; los receptores EP3A están asociados con la activación de la proteína Gi para disminuir la actividad de adenilil-ciclasa, mientras que los receptores EP3B y EP3C se acoplan con la proteína Gs para aumentar la actividad de adenilil-ciclasa (Aihara *et al.*, 2007, p. 2446; Takeuchi, 2010, p. 131).

### **Generalidades de los Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs)**

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son compuestos con estructuras diversas, pero con efectos terapéuticos comunes, actúan como antipiréticos, suprimen signos y síntomas de inflamación y dolor (Katzung y Trevor, 2015, párr. 9). También actúan sobre la agregación plaquetaria y sobre los mecanismos de defensa renales y de la mucosa gástrica, los cuales ocasionan muchas complicaciones y efectos adversos (Gené *et al.*, 2008, p. 295). Con excepción del ácido acetilsalicílico, los AINEs inhiben reversiblemente las enzimas ciclooxigenasas (COX), encargadas de la producción de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico (Figura 4) (Tintinalli *et al.*, 2013, párr. 3).

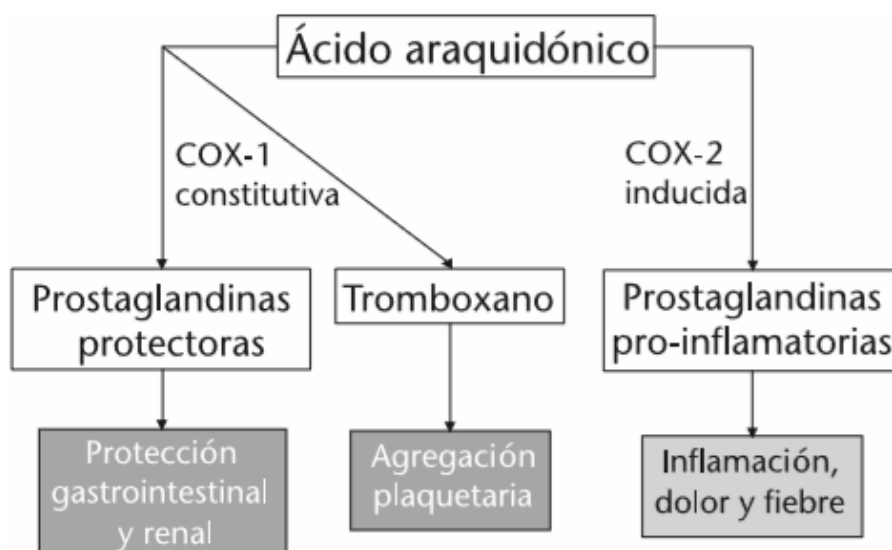
### **Mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos**

La eficacia de los AINEs para ejercer acción antipirética, analgésica, antiinflamatoria y antiplaquetaria se debe a dos mecanismos: A través de la supresión de la síntesis de prostaglandinas proinflamatorias por inhibición de las enzimas ciclooxigenasas 1 y 2 (COX1 y COX2); y por disminución en la migración de neutrófilos al lugar de la inflamación (Vladislavovna *et al.*, 2006, párr. 11).

La ciclooxigenasa 1 (COX1) actúa en varios tejidos y estimula la síntesis de prostaglandinas para proteger la mucosa gástrica y regular la función renal y la actividad plaquetaria, por lo que la inhibición de la COX1 sería la responsable de los efectos adversos de los AINEs clásicos sobre la mucosa gastrointestinal. Por otro lado, la ciclooxigenasa 2 (COX2) actúa en menos tejidos

normalmente y es inducida en respuesta a estímulos inflamatorios en macrófagos, monocitos y células endoteliales, donde se generan prostaglandinas que median en el dolor y en la inflamación (Figura 4), (Gené *et al.*, 2008, p. 295).

**Figura 4. Mecanismo de Acción de los Antiinflamatorios No Esteroides sobre la Vía Ciclooxygenasa**



Fuente: Gené *et al.*, 2008, p. 296

### **Farmacocinética de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)**

Los AINEs se absorben rápidamente en el tubo digestivo y casi todos alcanzan en unas 2 horas sus concentraciones máximas en suero. Cuando se ingieren cantidades grandes, algunos fármacos, como el ibuprofeno y el naproxeno, tienen una absorción más lenta y se necesita el transcurso de 3 a 4 horas para alcanzar las concentraciones plasmáticas máximas. Conforme se absorben cantidades mayores en la ingestión de grandes sobredosis, fracciones mayores del fármaco libre quedan disponibles para ejercer efectos tóxicos por un mecanismo no lineal, porque es limitada la unión con las proteínas plasmáticas, sin embargo, se unen muy bien a ellas (Tintinalli *et al.*, 2013, párr. 7 y 8).

La distribución de los AINEs en tejidos lesionados, sangre y otras áreas del cuerpo asegura la actividad en el sitio de la inflamación, así como reducir el riesgo de efectos secundarios no relacionados con la actividad terapéutica sobre las enzimas COX a través del organismo. Los AINEs se clasifican como ácido o no ácido con base en su estructura química, y la acidez del fármaco puede tener efecto en su distribución. Los AINEs con grupos funcionales ácidos (diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno) y con un alto grado de unión a proteínas, se ha demostrado que se acumulan selectivamente y persisten en sitios de inflamación, mientras que los AINEs no ácidos (acetaminofeno, celecoxib, rofecoxib) tienden a distribuirse homogéneamente en todo el cuerpo (Perea *et al.*, 2016, p.78).

El metabolismo de los antiinflamatorios no esteroideos ocurre, en la mayoría, a través de las enzimas citocromo P450 CYP3A o CYP2C en el hígado. Cabe resaltar que la generación de metabolitos activos puede prolongar el efecto terapéutico más allá de la acción del compuesto original (Tintinalli *et al.*, 2013, párr. 7). Por último, la excreción renal es la vía más importante de eliminación final, casi todos presentan grados variables de excreción y resorción biliares o circulación enterohepática (Katzung y Trevor, 2015, párr. 4).

### **Selección de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) según necesidad**

Antes de prescribir un AINE es necesario plantearse las siguientes tres preguntas: 1) ¿Qué tipo de AINE? Si se asume que ellos presentan una eficacia similar, se elige el de menos efectos adversos. 2) ¿A qué dosis? Se debe utilizar la dosis mínima eficaz y en el menor tiempo posible. 3) ¿Hay que indicar gastroprotección? Pues, existe un grupo de AINEs que tienen un riesgo menor de presentar complicaciones digestivas (el aceclofenaco, el diclofenaco y el ibuprofeno), y otro grupo de fármacos con un perfil de mayor gastrolesividad (el ketorolaco, la piroxicam, el meloxicam y la indometacina) (Gené *et al.*, 2008, pp. 296 y 297).

En procesos agudos se usa el AINE durante el menor tiempo posible y a la dosis mínima eficaz, antes de considerar fallo terapéutico, hay que prescribir dicho medicamento a dosis plenas, si no hay contraindicación o intolerancia. Asimismo, en los procesos crónicos, se debe utilizar también la dosis mínima necesaria para mantener respuesta clínica favorable, evaluando siempre los factores de riesgo de acontecimientos adversos y monitorizando su posible aparición, de manera periódica siempre (Loza, 2011, p. 89).

### **Factores de riesgo de gastroscopía inducidas por AINEs**

El consumo de AINEs incrementa el riesgo de complicaciones digestivas a cualquier dosis o duración del tratamiento. Sin embargo, el riesgo de complicaciones aumenta con el incremento de las dosis de AINEs y con la duración del tratamiento. Este riesgo, aumenta también con la edad, y alcanza valores suficientes para justificar la instauración de un tratamiento gastroprotector a partir de los 60 años. La asociación de más de un AINE no aumenta la eficacia analgésica, pero sí el riesgo de complicaciones y las personas con antecedentes de úlcera presentan factores de riesgo relevantes (Gené *et al.*, 2008, p. 297).

### **Reacciones adversas de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)**

El consumo de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) genera altos riesgos de complicaciones digestivas conforme aumenta con las dosis y con la duración del tratamiento, puede también aumentar con personas con antecedentes de una gastropatía, con la edad y alcanza valores suficientes para justificar la instauración de un tratamiento gastroprotector a partir de los 60 años. Cabe resaltar, que la combinación de dos AINEs no aumenta la eficacia ni el efecto terapéutico, sino que empeora más los efectos adversos (Gené *et al.*, 2008, p. 297). Katzung y Trevor (2015, párr. 13) indican que los efectos adversos de los antiinflamatorios no esteroideos son en general muy similares entre ellos:

- Sistema nervioso central: cefalea, mareo y, rara vez, meningitis aséptica.
- Cardiovascular: retención de líquidos, hipertensión, edema y rara vez infarto miocárdico e insuficiencia cardiaca congestiva.
- Gastrointestinales: dolor abdominal, displasia, náusea, vómito, úlceras y hemorragias.
- Hematológicas: trombocitopenia ocasional, neutropenia o incluso anemia aplásica.
- Hepáticas: resultados de pruebas de función hepática anormales e insuficiencia hepática.
- Pulmonares: asma.
- Dérmicas: exantemas de todos los tipos, prurito.
- Renales: insuficiencia renal, hiperpotasemia y proteinuria.

## **Gastropatías ocasionadas por la administración de antiinflamatorios no esteroides**

La administración de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) puede resultar muy hepatotóxica, nefrotóxica e irritante gástricos; y puede ocasionar principalmente úlceras y hemorragias gastrointestinales (Katzung y Trevor, 2015, párr. 20), como se había mencionado anteriormente. Es por eso que en este apartado se explicarán al detalle de cómo es que los antiinflamatorios no esteroides ocasionan tales complicaciones para poder encontrar una solución a ellas y evitarlas.

### **Gastritis inducidas por AINEs.**

Las personas con síntomas o signos de alarma, como dolor intenso, pérdida de peso, vómito, hemorragia de tubo digestivo o anemia, deben someterse a endoscopia diagnóstica de la porción superior del tubo digestivo. En estudios clínicos se han diagnosticado con endoscopia que el 25% al 50% de los pacientes que administran AINEs tiene gastritis, 10 a 20% tienen úlceras y cerca de 5% surgen síntomas de dispepsia graves. Los AINEs más selectivos para la enzima ciclooxigenasa 2 como celecoxib, etodolac y meloxicam, disminuyen en cerca de 75% la incidencia de úlceras visibles en la endoscopia y hasta en 50% las complicaciones importantes de la úlcera, en comparación con los AINEs no selectivos. Además, es probable que los síntomas mejoren con la interrupción del fármaco, disminución a la dosis eficaz más baja o la administración con las comidas (Papadakis *et al.*, 2017, párr. 12).

### **Úlceras inducidas por AINEs.**

En personas que usan AINEs por tiempo prolongado, hay una prevalencia de 10 a 20% de úlceras gástricas, 2 a 5% de úlceras duodenales que genera dispepsia de importancia clínica o alguna complicación grave. El riesgo de complicaciones por la administración de AINEs es mayor en los primeros tres meses del tratamiento y en pacientes mayores de 60 años de edad, así como en las personas con antecedente de enfermedad ulcerosa o que toman AINEs en combinación con ácido acetilsalicílico, corticoesteroides o anticoagulantes. Incluso el empleo de dosis bajas de ácido acetilsalicílico (81 a 325 mg/día) puede duplicar el riesgo de complicaciones hemorrágicas del tubo digestivo (Papadakis *et al.*, 2017, párr. 40).

## Tratamientos que mejoran las defensas de la mucosa

En pacientes con problemas gástricos inducidos por AINEs, es necesario interrumpir su tratamiento, siempre que sea posible. En algunos individuos con enfermedades inflamatorias graves, quizá no sea factible interrumpirlos. Estos pacientes deben ser tratados con inhibidores de la bomba de protones en forma concomitante, una vez al día, lo que conduce a tasas de curación de úlcera cercanas al 80% a las ocho semanas en personas que no interrumpen su consumo de antiinflamatorios no esteroideos (Papadakis *et al.*, 2017, párr. 61).

El tratamiento con inhibidores de la bomba de protones administrados por vía oral cada 24 horas (rabeprazol, 20 mg; omeprazol, 20 a 40 mg; lansoprazol, 30 mg; dexlansoprazol, 30 a 60 mg; pantoprazol o esomeprazol, 40 mg) es eficaz en la prevención de úlceras gástricas y duodenales inducidas por AINEs y la FDA (Food and Drug Administration, EEUU) aprobó esta indicación. Además, los inhibidores de la bomba de protones son muy eficaces para prevenir las complicaciones relacionadas con la administración de ácido acetilsalicílico en dosis bajas, incluso en pacientes con riesgo alto (Papadakis *et al.*, 2017, párr. 68).

Los inhibidores de la bomba de protones son superiores a los antagonistas de los receptores H<sub>2</sub> para la curación de úlceras relacionadas con AINEs, incluso cuando se continúa el uso de estos fármacos. Por tanto, se recomienda un ciclo empírico durante dos a cuatro semanas de un inhibidor de la bomba de protones en pacientes con dispepsia relacionada con AINEs y cuando los síntomas no mejoran, debe llevarse a cabo una endoscopia diagnóstica del tubo digestivo alto (Gené *et al.*, 2008, p. 298). Los antiácidos se utilizan con frecuencia, según sean necesarios, como complemento de los fármacos antisecretorios en los primeros días de tratamiento (Papadakis, 2017, párr. 42).

El misoprostol es un análogo prostaglandínico que estimula la secreción de moco y bicarbonato a nivel gastroduodenal, reduce 50 a 75% la incidencia de úlceras gástricas y duodenales inducidas por AINEs y 40% la de complicaciones ulcerosas cuando se administra en dosis de 100 a 200 µg cuatro veces al día. Sin embargo, el misoprostol se usa con menos frecuencia como profiláctico contra las complicaciones inducidas por AINEs que cualquiera de los tratamientos concomitantes con un inhibidor de la bomba de protones o un agente selectivo que actúa en COX-2, debido a su alto perfil de efectos secundarios; y la necesidad de administrar el fármaco cuatro veces al día (Papadakis *et al.*, 2017, párr. 42).

Los antagonistas del receptor H<sub>2</sub> son inhibidores competitivos en las células parietales del estómago, bloqueando la acción de la histamina y reduciendo la secreción ácida, con lo cual se reduce el volumen total de secreción y las concentraciones de hidrogeniones H<sup>+</sup>, acelerando la cicatrización de las úlceras. Este grupo de medicamentos se considera seguro y bien tolerado, si bien produce efectos adversos como dolor de cabeza, cansancio, mareos, ginecomastia, aumentos de transaminasas y efectos gastrointestinales como la diarrea, la constipación y las náuseas (Fernández, 2014, p. 15).

### **Generalidades de los Inhibidores de bomba de protones (IBP)**

Los inhibidores de bomba de protones (IBP) son uno de los medicamentos más prescritos y comercializados en el mundo. Estos fármacos tienen como propósito inhibir irreversiblemente la enzima H<sup>+</sup>/K<sup>-</sup>ATPasa de las células parietales de la mucosa gástrica para disminuir la secreción ácida. Aunque su semivida en plasma es de 1 a 2 horas, su efecto es más prolongado por la necesidad de sintetizar nuevas bombas de protones para reanudar la secreción ácida (De la Coba *et al.*, 2016, p. 207). Son considerados como los más potentes inhibidores de la producción de ácido y son más efectivos cuando la célula parietal es estimulada para producir ácido postprandial y las diferencias en su eficacia clínica entre ellos son pequeñas (Sánchez *et al.*, 2013, p. 132). En dosis normales pueden disminuir la producción de ácido entre un 80 y 95 % (Lúquez *et al.*, 2017, p. 198).

Los IBP son indicados principalmente contra la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), esófago de Barrett, en la enfermedad ulcerosa péptica, dispepsia no ulcerosa, síndrome de Zollinger Ellison, estenosis esofágica péptica por esclerodermia, para la erradicación del *Helicobacter pylori* y como tratamiento profiláctico en el consumo de un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) (Sánchez *et al.*, 2013, p.132). Actualmente, se encuentran estos cinco tipos de IBP: omeprazol 10 y 20mg de vía oral y 40 mg de vía oral e intravenosa; lansoprazol 15 y 30mg de vía oral; pantoprazol 20 y 40mg de vía oral y 40 mg de vía intravenosa; rabeprazol 10 y 20 mg de vía oral; y esomeprazol 10, 20 y 40 mg de vía oral y 40 mg de vía intravenosa (De la Coba *et al.*, 2016, p. 208).

## **Efectos adversos y complicaciones de los inhibidores de bomba de protones (IBP)**

Los efectos secundarios que más se han reportado de los IBP son: cefalea, hipergastrinemia, estreñimiento, diarrea, erupciones cutáneas, aparición de gastritis predominantemente en el cuerpo gástrico en pacientes con *Helicobacter pylori* positivos (Sánchez *et al.*, 2013, p. 132). Sin embargo, numerosos estudios publicados en los últimos años han relacionado el uso de los IBP con alarmantes efectos adversos, generando inquietudes entre los prescriptores y los pacientes. Desde la Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD) se han detectado grandes demandas para elaborar más estudios y revisiones sobre el uso y efectos secundarios de los IBP (De la Coba *et al.*, 2016, p. 208).

Entre los efectos adversos del consumo crónico de los IBP, los más discutibles y alarmantes son: el síndrome de rebote de hipersecreción ácida, fracturas por fragilidad ósea, nefritis intersticial, neumonía, deficiencia de vitamina B12, alteraciones neurológicas, poliposis gástrica, hipocalcemia, hipomagnesemia, poliposis fúndica gástrica, enteritis infecciosa, interacciones medicamentosas, sobrecrecimiento bacteriano intestinal de *Clostridium difficile*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* y *Shigella spp.* Aunque son poco frecuentes estos efectos adversos, se deben de tener en cuenta, sobre todo en aquellas indicaciones inapropiadas, que se dan en todo el mundo y que oscilan entre el 20 y el 75 % (Sánchez *et al.*, 2013, p. 132).

### **Aumento del riesgo de demencia o alteraciones neurológicas.**

Los inhibidores de la bomba de protones se usan a menudo en el tratamiento del reflujo y de otros trastornos gastrointestinales. Sin embargo, estos fármacos pueden afectar a los niveles cerebrales de amiloide y, posiblemente, producir patología de Alzheimer. Es difícil saber cómo deben reaccionar médicos y pacientes ante estos datos y hasta que se realicen nuevos estudios, no está justificado el abandono generalizado de estos fármacos en ancianos. Mientras tanto, los ancianos que toman estos medicamentos deben hacerlo con una indicación adecuada (Kasper *et al.*, 2016, párr. 5).

En un interesante estudio realizado por Gomm y sus colaboradores (2016) se determinó la relación entre el uso de inhibidores de la bomba de protones y la aparición de demencia. Se observó que 2950 de los 73,679 pacientes usaban inhibidores de la bomba de protones de forma regular, y su uso se asoció a un aumento significativo del riesgo de demencia incidente, con un intervalo de

confianza de 95% y con mayor frecuencia en mujeres, en los afectados por diabetes y en polimedicados. Los fármacos más prescritos eran omeprazol, pantoprazol y esomeprazol (p. 3).

### **Déficit de vitamina B12 o cobalamina.**

La vitamina B12 o cobalamina es esencial para el correcto funcionamiento del cuerpo humano, tanto en su desarrollo como en el funcionamiento biológico en la edad adulta. No es producida endógenamente, por lo tanto, debe ser absorbida en la dieta, fundamentalmente a partir de las proteínas animales (Restrepo *et al.*, 2017, p. 173). La cobalamina es un cofactor para la metionina sintetasa y la L-metilmalonil-coenzima-A-mutasa. La deficiencia de esta vitamina puede ser asintomática, pero puede generar enfermedades como el síndrome de mala absorción, la pancitopenia o los síntomas neurológicos acompañados de parestesias y signos de mielopatía o neuropatía (Lúquez *et al.*, 2017, p. 198).

La razón por la cual el consumo de inhibidores de bomba de protones ocasiona una mala absorción de la vitamina B12, se debe a que al ingerir alimentos de origen animal (fuente de cobalamina) se necesita que el pH del estómago sea inferior a 4 para la activación de la pepsina, enzima encargada del proceso de la separación de la cobalamina de las proteínas de los alimentos en la cavidad gástrica, para liberarla y que se pueda unir al factor intrínseco (De la Coba *et al.*, 2016, p. 209). Además, la elevación del pH gástrico promueve el sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado e incrementa el consumo bacteriano de la cobalamina (Lúquez *et al.*, 2017, p. 198). La malabsorción de la vitamina puede también darse en la gastrectomía o bypass gástrico, enfermedad ileal, insuficiencia pancreática o en vegetarianismo estricto (Restrepo *et al.*, 2017, pp. 177 y 178).

En un estudio se evidenció que las personas que consumían IBP por más de 3 años presentaban niveles de vitamina B12 (con un déficit de 7,4%) más bajos que los que lo hicieron en 3 años o menos (con un déficit de 1,8%). Por otro lado, los niveles de la vitamina B12, no se encontraron diferencias significativas entre la edad, el sexo, el tipo de IBP ni la dosis utilizada (Lúquez *et al.*, 2017, p. 200). En personas de edad avanzada, con algún factor de riesgo para el déficit de la vitamina B12 (enfermedad de Crohn, antecedentes de cirugía gástrica y/o intestinal, anemia perniciosa, dietas vegetarianas estrictas o desnutrición) es necesario monitorear los niveles de la cobalamina a los 2 ó 3 años de tratamiento con IBP (De la Coba *et al.*, 2016, p. 209).

### **Déficit de magnesio o hipomagnesemia.**

La hipomagnesemia aparece por disminución de consumo o absorción de magnesio, por exceso de pérdidas en vías urinarias y gastrointestinales, o por alteración en el transporte de este. También se ha asociado la hipomagnesemia con el uso de los IBP a largo plazo, el cual ha provocado gran controversia entre los prescriptores y pacientes (Pérez *et al.*, 2018, p.70). Se cree que el aumento de pH producido por estos fármacos puede afectar al receptor transitorio del canal potencial de melastatina 6 y 7 (TRPM-6 y TRPM-7) reduciendo así la absorción y el transporte activo del magnesio y calcio (Shabaka *et al.*, 2016, p.91).

En 2006, se reportó la asociación de hipomagnesemia e IBP, desde ese entonces se han realizado varios estudios de alteraciones hidroelectrolíticas asociadas (Cardona *et al.*, 2016, p. 406). Luego en el estudio del caso clínico reveló que la hipomagnesemia no se revirtió a pesar de que administraban suplementos hasta que se dio la suspensión de IBP (Shabaka *et al.*, 2016, p.91). Más adelante, tanto la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios como la Food and Drug Administration (FDA, EEUU), han recomendado la monitorización periódica del magnesio y valorar dicha posibilidad diagnóstica, ante la aparición de este efecto adverso, en pacientes que hagan uso simultáneo de IBP (Pérez *et al.*, 2018, p.70).

La hipomagnesemia suele pasar inadvertida, ya que puede ser asintomática o producir náuseas, vómitos, diarrea, e incluso tetania, confusión, calambres y convulsiones (Linares *et al.*, 2017, p. 1). También se le asocia a arritmias cardíacas y posiblemente al aumento de enfermedad renal crónica (ERC). Es probable que la duración del tratamiento sea un factor de riesgo, pues los consumidores crónicos de los inhibidores de bomba de protones tienen un 40% de riesgo aumentado, y en caso de hipomagnesemia o cualquier efecto secundario no deseado grave, se les recomienda su retirada preferiblemente (Pérez *et al.*, 2018, p.70).

### **Riesgo de fracturas óseas.**

La absorción de calcio se da en el intestino delgado mediante la ionización de sales insolubles a pH ácido. Se cree que el uso de IBP está asociado a un mayor riesgo de fracturas óseas por fragilidad, relacionadas con la osteoporosis, especialmente vertebrales y de cadera por el aumento del pH gástrico (medio alcalino), el cual puede estimular una respuesta fisiológica compensatoria y el incremento de la resorción ósea por el aumento de la secreción de la hormona

paratiroidea, aumentando el riesgo de osteoporosis y fracturas (Cardona *et al.*, 2016, p. 406). Y en un estudio se determinó que el 26% son fracturas de cadera y 58% son de fracturas vertebrales, lo cual ocurre principalmente en mujeres posmenopáusicas y en adultos mayores de edad (Pérez *et al.*, 2018, p.70).

Sin embargo, la fuerza de esta asociación del IBP con las fracturas óseas es muy baja y viene siendo mayor la idea de la adherencia elevada al tratamiento o con dosis diarias de IBP más altas (De la Coba *et al.*, 2016, p. 211). Aunque las fracturas óseas por fragilidad están relacionadas directamente con la osteoporosis, esto direcciona a un elevado impacto socioeconómico y de morbimortalidad, por eso la FDA (EEUU) señala que no existe evidencia suficiente para recomendar suplementos de calcio o realizar densitometrías periódicas, pero aunque no es posible concluir que esta asociación sea causal, con la evidencia disponible no se puede recomendar suspender el tratamiento con IBP para evitar fracturas óseas y se debe insistir en evitar la prescripción inadecuada, buscar la dosis mínima eficaz y realizar más estudios (De la Coba *et al.*, 2016, p. 214).

### **Riesgo de infecciones entéricas y de neumonía.**

Los IBP son inmunomoduladores y antiinflamatorios, por lo que se ha sugerido que favorecen la traslocación bacteriana. Algunos microorganismos tienen diferentes tolerancias a distintos niveles de pH gástrico y pueden incrementar el riesgo de infección por determinados patógenos, especialmente de: *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Vibrio cholerae* y *Listeria spp.* Con respecto al riesgo de la neumonía, los estudios parecen sustentar la asociación especialmente con el uso de por lo menos 30 días y a dosis altas de los IBP, pero el mecanismo fisiopatológico por el cual esto ocurre aún no ha sido aclarado (Cardona *et al.*, 2016, p. 405).

El riesgo de infecciones durante el consumo del inhibidor de bomba de protones es consecuencia de la inhibición de la secreción gástrica (barrera antimicrobiana fisiológica) y por ende del efecto de estos medicamentos (De la Coba *et al.*, 2016, p. 214). Múltiples estudios han demostrado que el consumo de IBP ocasiona un mayor crecimiento bacteriano, pero generalmente carece de importancia clínica. Sin embargo, debido a eventuales episodios de microaspiración secundarios a la enfermedad del reflujo gastroesofágico (ERGE), alteración del pH de las

secreciones pulmonares y alteración de la función fagocítica, se ha generado una gran preocupación por el riesgo de neumonías (Cardona *et al.*, 2016, p. 405).

### **Inhibición de la absorción de hierro.**

El hierro de la dieta está presente como ferroso y férrico, este último debe ser transformado a la forma ferrosa en una reacción dependiente del pH ácido. La relación del IBP con el déficit de hierro es sustentada por casos de pacientes con anemia ferropénica, quienes no respondieron a los suplementos sino hasta que se suspendieron los IBP, y por reportes de cambios hematológicos en pacientes que consumen IBP por más de 1 año y presentan déficit de hierro. Los resultados actuales sugieren que la relación es teóricamente posible, pero no han sido demostrados clínicamente y es improbable que sea de importancia en pacientes con reservas normales de hierro, por lo que requieren de más estudios (Cardona *et al.*, 2016, p. 406).

### **Generalidades de *Plantago mayor***

*Plantago mayor* o conocida como llantén, es una planta que pertenece a la división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, orden *Plantaginales* y familia *Plantaginaceae* (Blanco *et al.*, 2007, p. 18). Es una hierba anual de hojas escasas en roseta basal, con peciolo largo, lampiñas, anchas y ovaladas de 5 a 20 cm de largo. Presenta flores blanco verdoso y pequeñas en espigas de 10 a 20 cm de largo, las brácteas son más cortas que el cáliz y los sépalos son anchos de 1 a 2 mm de largo. El fruto es una cápsula con semillas ovaladas de 3 a 4 mm, de 1 a 2 mm de ancho, con 2 celdas con 6 a 30 semillas ovoides, anguladas, café o negro y cubiertas de mucílago (Figura 5), (Pinto y Bustamante, 2008, p. 37).

*Plantago mayor* es originaria de Europa, Asia y norte de África, y ahora está ampliamente distribuida en todo el mundo como una hierba común o arvense. Se encuentra fácilmente en áreas con suelos compactados, es polinizada por el viento y se propaga principalmente por semillas, que se mantienen en las espigas situadas por encima de las hojas (Adom *et al.*, 2017, p. 349). En Costa

Rica, el llantén crece principalmente en el Valle Central, como Alajuela, San José y Cartago, aunque se han observado cultivadas en la región del Atlántica, principalmente en zonas de pastos, laderas, cerca de cultivos y en los bordes de caminos (Blanco *et al.*, 2007, p. 19; García, 2003, p. 635).

**Figura 5. La Planta *Plantago mayor* o Llantén**



Fuente: Elaboración propia, 2018.

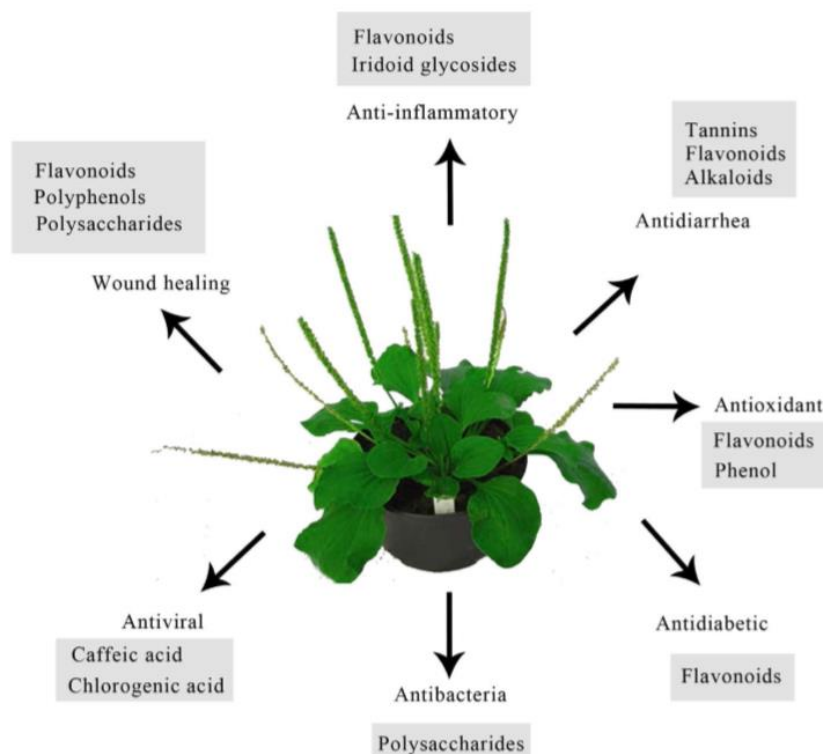
Las hojas de esta planta se utilizan en forma tradicional como medicina astringente, antiinflamatoria, diurética y antiulcerosa (Pinto y Bustamante, 2008, p. 36). Trae consigo también otras actividades como anticancerígenas, antibacterianas, antivirales, analgésicas, antioxidantes, hepatoprotectoras e inmunomoduladoras (Figura 5), (Lukova *et al.*, 2017, p. 210). Según lo anterior, y haciendo referencia a Berit (2000): “Los estudios etnofarmacológicos más recientes muestran que esta planta se puede usar en enfermedades de piel, enfermedades infecciosas, problemas relacionados con órganos digestivos, órganos respiratorios, reproducción, circulación, contra los tumores, para aliviar el dolor y para reducir la fiebre.” (p. 2)

A nivel del tracto gastrointestinal, el llantén (*Plantago mayor*) es efectivo contra hemorragias gastrointestinales altas y bajas, hematemesis, disentería, hemorroides, dolor de

estómago, diarrea, úlceras gastrointestinales, dispepsia, estreñimiento y colitis (Najafian *et al.*, 2018, p. 6392). En la actualidad, se cree que sus taninos y flavonoides son los responsables de la actividad gastroprotectora, antiulceroso y citoprotector, y como presentan diferencias insignificativas con el omeprazol se sugiere realizar más estudios al respecto (San Martín *et al.*, 2017, p.80). Entre esos flavonoides está baicaleína, que cuentan con propiedades antiinflamatorio, antisecretor, antiulcerogénico, gastroprotector, citoprotector, antioxidante y anticancerígeno (Figura 6), (Riberio *et al.*, 2016, pp. 34 y 36).

Cuenta también con distintas aplicaciones para el sistema respiratorio, pues es eficaz para tratar enfermedades como la tos, faringitis, laringitis, bronquitis, tuberculosis, también síntomas como el dolor de garganta y la irritación en la boca por su alto contenido de mucílagos, que ejerce propiedades emolientes suavizando las mucosas. Puede incrementar la coagulación de la sangre en las heridas para evitar las hemorragias, desinfecta las heridas y favorecer su cicatrización. (Figura 6), (Blanco *et al.*, 2007, p. 20)

**Figura 6. Propiedades Medicinales del *Plantago mayor* y sus Compuestos Químicos**



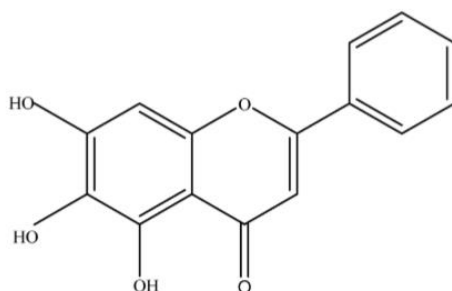
Fuente: Adom *et al.*, 2017, p. 358

### Baicaleín: Componente bioactivo de *Plantago mayor*

Los más recientes estudios demuestran que *Plantago mayor* se emplea alrededor del mundo para el tratamiento de diversas enfermedades o malestares. Las actividades del *Plantago mayor* no se deben a un solo compuesto, sino a la interacción de varios de ellos (Blanco *et al.*, 2007, p. 19). Los compuestos bioactivos que contiene *Plantago mayor* incluyen flavonoides, alcaloides, terpenoides, compuestos fenólicos, glucósidos iridoides, ácidos grasos, polisacáridos y vitaminas. Estos compuestos se pueden encontrar en casi todas las partes de la planta, como las semillas, hojas, flores y raíces (Adom *et al.*, 2017, p. 349). En el caso de los flavonoides, su presencia ha sido ampliamente reportada y entre ellas se pueden mencionar los siguientes: luteolina, apigenina, baicaleín, hispidulin, plantaginín, scutallareín, homoplantaginina, teucina y baicalina (Adom *et al.*, 2017, p. 349).

Baicaleín (5,6,7-trihidroxiflavona;  $C_{15}H_{10}O_5$ ) es un flavonoide bioactivo producido por muchos alimentos y plantas medicinales, entre ellas está *Plantago mayor* (Figura 7). Cabe resaltar que baicaleín tiene muchos usos como suplemento para la salud debido a sus propiedades farmacológicas, entre ellas que es un agente antiinflamatorio, antisecretor, antiulcerogénico, gastroprotector, citoprotector, antioxidante y anticancerígeno. Estudios previos han demostrado que este flavonoide tiene la capacidad para reducir el volumen de secreción gástrica y la secreción total de ácido, puede aumentar el valor del pH al igual que la producción de moco, inhibe el efecto de la histamina en la secreción gástrica e inhibe la bomba de protones (Ribero *et al.*, 2016, pp. 34 y 39). Por lo tanto, baicaleín puede proporcionar un buen enfoque terapéutico para los trastornos asociados al nivel digestivo (Blanco *et al.*, 2007, p. 20).

**Figura 7. Estructura Molecular del Baicaleín**



Fuente: Sowndhararajan *et al.*, 2017, p. 1022.

Como las plantas naturales se han convertido en una fuente importante para el desarrollo y descubrimiento de nuevos medicamentos, surgen iniciativas científicas de establecer un tratamiento fitoterapéutico y, actualmente, existen varios medicamentos a base de compuestos propios de *Plantago mayor* que se comercializan. Sin embargo, se utiliza mayormente como remedio casero y las personas lo recolectan desde su jardín, en terrenos baldíos o en potreros. Las hojas, semillas y espigas secas se venden en mercados y ferias del agricultor en pequeñas cantidades y se emplean principalmente como infusión o ungüento (Rodríguez *et al.*, 2014, p. 107).

### **Emisión de señales celulares**

Las señales químicas son moléculas reguladoras liberadas por neuronas, por glándulas endocrinas o por diferentes células dentro de un órgano, con el fin de que las células del cuerpo se puedan comunicar entre sí. Un tipo de señal puede ser los impulsos nerviosos que se conducen a lo largo del axón de una neurona, cuando los impulsos alcanzan el final del axón, la señal se transmite hacia la siguiente célula. También hay señales que pueden viajar directamente de una célula a la siguiente, porque sus membranas plasmáticas están muy cercanas entre sí y su citoplasma es continuo a través de pequeñas uniones intercelulares comunicantes que acoplan las células, por lo que los iones y las moléculas reguladoras pueden viajar mediante difusión a través del citoplasma de células cercanas (Fox, 2017, párr. 164 a 167).

Estas señales o mensajeros químicos tienen distintas maneras de actuar y alcanzar a sus células blanco, entre las cuales se pueden mencionar las siguientes:

- En la emisión de señales paracrina, es considerada una regulación local debido a que la señal no tiene que viajar muy lejos para ejercer una respuesta (Tabla 1). Además, las células pueden pertenecer al mismo órgano, pero entre ellas son de diferente tipo. Las células, dentro de un órgano, secretan moléculas reguladoras (ligando) que se difunden a través de la matriz extracelular hacia las células blanco, es decir, las células que muestran respuesta por sus receptores a las moléculas reguladoras cercanas (Fox, 2017, párr. 168).

- En la emisión de señales sináptica, es donde las neuronas regulan a las células blanco, mediante la liberación de un neurotransmisor químico en la terminación del axón, gracias a una pequeña brecha sináptica creada entre las dos células (Tabla 1), (Fox, 2017, párr. 170).
- En la emisión de señales endocrina, se da entre células distantes que secretan reguladores químicos (hormonas) hacia el líquido extracelular para llegar a todas las células del cuerpo (Tabla 1). Los receptores tienen sitios de unión específicos para ciertos ligandos, por lo que las hormonas no se unen a todo tipo de receptores mientras viajan por la sangre, sólo las células blanco para una hormona particular pueden mostrar respuesta (Fox, 2017, párr. 171).
- En la emisión de señales autocrinas, los mensajeros químicos viajan al exterior de la célula y llevan a cabo su acción en los receptores específicos de la misma célula que lo produjo, es decir, la misma célula libera y responde a los mensajeros químicos. (Tabla 1), (Barret *et al.*, 2016, párr. 109).

**Tabla 1. Formas en que las Células se Comunican a través de Mensajeros Químicos**

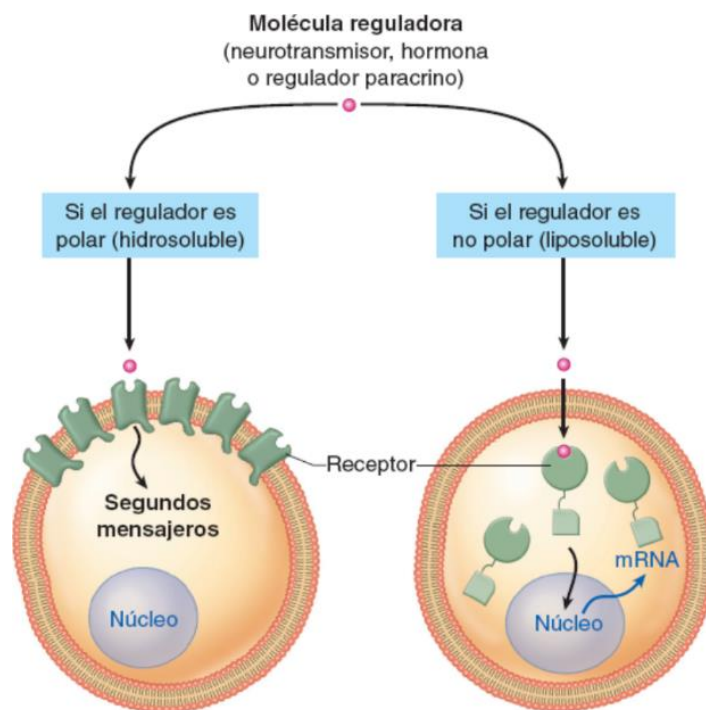
	UNIONES ESTRECHAS	SINAPSIS	PARACRINA Y AUTOCRINA	ENDOCRINA
Transmisión del mensaje	Directamente de célula a otra	A través de la hendidura sináptica	Por difusión en el líquido intersticial	Por circulación en los líquidos corporales
Local o general	Local	Local	Difusión local	General
La especificidad depende de	Ubicación anatómica	Ubicación anatómica y receptores	Receptores	Receptores

Fuente: Barret *et al.*, 2016, párr. 110.

Para que una célula blanco muestre respuesta al mensajero químico, debe tener receptores específicos (Figura 8). Si la molécula reguladora es no polar, puede penetrar en la membrana plasmática y sus proteínas receptoras estarían ubicadas dentro de la célula, en el citoplasma o el núcleo, e influiría sobre la expresión genética. Pero si la molécula reguladora es polar, no penetra la membrana plasmática de la célula y sus receptores estarían ubicados en la

superficie externa de la membrana plasmática, expuestos al líquido extracelular y produciría la acción reguladora dentro de la célula (Fox, 2017, párr. 173 a 175).

**Figura 8. Ubicación de la Molécula Reguladora según su Solubilidad**

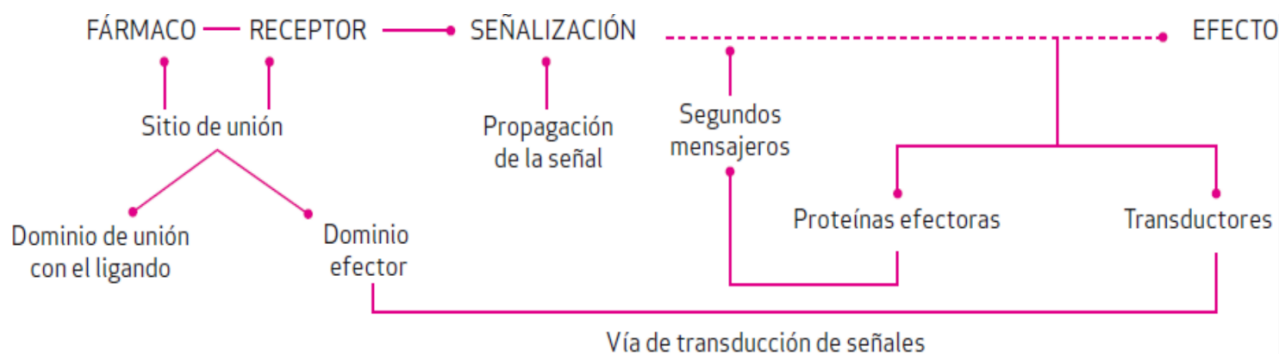


Fuente: Fox, 2017, párr. 174.

### Generalidades sobre los receptores fisiológicos en seres vivos.

Los receptores fisiológicos son proteínas que tienen al menos dos funciones importantes: la unión a ligandos y la propagación de señalización, lo que implica la existencia de al menos un dominio al cual se une el ligando y otro el efector (Figura 9), donde este último contiene enzimas que pueden inducir una transducción de señales bioquímicos y fisiológicos. Tal capacidad mencionada convierte a los receptores en excelentes candidatos para la unión de ligandos endógenos y exógenos (principalmente en el dominio extracelular) (Brunton *et al.*, 2012, párr. 48 y 51).

**Figura 9. Propagación de la Señal para llevar a cabo el Efecto Farmacológico**



Fuente: Andrade y Mora, 2014, párr. 27.

Los agentes que se unen a receptores con afinidad alta se clasifican como agonistas o antagonistas. Los agonistas son ligandos que simulan un compuesto de señalización endógena, desencadenan mecanismos efectoros y producen efectos biológicos (Gardner *et al.*, 2012, párr.28). Los ligandos que se unen al receptor, pero no activan los mecanismos efectoros, si no que bloquean o reducen la acción de un agonista, se denominan antagonistas (Blumenthal y Garrison, 2012, párr. 4). Sin embargo, los ligandos que se unen al receptor, pero poseen capacidad deficiente para activar los mecanismos efectoros, sin importar la concentración utilizada, se denominan agonistas parciales (Gardner *et al.*, 2012, párr.28).

### Proteínas G heterotriméricas

Las proteínas G heterotriméricas se acoplan a los receptores a sistemas efectoros intracelulares específicos. Son llamadas de esta manera debido a su capacidad de unirse a nucleótidos de guanina, guanosina trifosfato (GTP) y guanosina difosfato (GDP), (Nestler *et al.*, 2017, párr. 9). Como la proteína receptora y la proteína enzima se encuentran ubicadas en diferentes zonas de la membrana plasmática, necesitan de un intermediario que media entre ellas (los mensajeros químicos), y así activar a la enzima. Tales medios son las tres subunidades proteínicas designadas como alfa, beta y gamma ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) de la proteína G, que se trasladan entre receptores y diferentes proteínas efectoras de membrana, entre ellas enzimas y canales de iones (Fox, 2017, párr. 181).

Las proteínas G heterotriméricas (normalmente denominadas como proteína G por ser las primeras en descubrirse) que se acoplan a los receptores de la superficie celular con unidades que catalizan la formación intracelular de segundos mensajeros o que acoplan los receptores directamente a los conductos iónicos. Dichas proteínas, transmiten señales de más de mil receptores acoplados a proteína G y sus efectores en las células incluyen conductos iónicos y enzimas. (Barrett *et al.*, 2016, párr. 121 y 123)

En la transducción de señales existen cuatro diferentes identidades de proteínas G heterotriméricas importantes. Tal clasificación se basa en la naturaleza de su subunidad  $\alpha$  para reconocer a su receptor y activar sus efectores blancos. La respuesta particular inducida por un GPCR activado depende del tipo de proteína G con la que interactúe, aunque algunos GPCR pueden interactuar con distintas proteínas G y desencadenar más de una respuesta fisiológica, entre ellas están (Karp, 2014, párr. 42):

- $G_s$ : Estimulación de adenilil ciclasa. La adenilciclasa se activa con las subunidades  $G\alpha_s$  unidas con GTP (Gardner *et al.*, 2012, párr. 36).
- $G_{i/o}$ : Inhibición de adenilil ciclasa; regulación de canales del calcio y potasio (Gardner *et al.*, 2012, párr. 36).
- $G_q$ : Contienen subunidades  $G\alpha_q$  y se encarga de la estimulación de fosfolipasa C (PLC)  $\beta$  (Gardner *et al.*, 2012, párr. 36). Esta última hidroliza al difosfato de fosfatidilinositol, con lo que se obtiene trifosfato de inositol y diacilglicerol (Karp, 2014, párr. 42).
- $G_{12/13}$ : Se acoplan a cofactores de intercambio del nucleótido guanina (GEF), activa proteínas G monoméricas tipo Rho y también transportadores de sodio/hidrogeniones (NHE), (Blumenthal y Garrison, 2012, párr. 65). Sin embargo, su activación inapropiada se ha vinculado con proliferación celular excesiva y transformación maligna (Karp, 2014, párr. 42).

Las subunidades  $\alpha_s$ ,  $\alpha_i$ ,  $\alpha_q$  y entre otras más son responsables de las funciones principales de las proteínas G que las contienen y la subunidad  $\beta$ - $\gamma$  puede regular muchos efectores que se asocian de manera diferente con subtipos de subunidades  $\alpha$  para otorgar mayor grado de especificidad a las proteínas de señalización intracelular (Tabla 2), (Nestler *et al.*, 2017, párr. 9). En el ciclo de las proteínas G heterotriméricas muestran los procesos que ocurren cuando un ligando se une a un receptor (Figura 10).

**Tabla 2. Subunidades de las Proteínas G según sus Receptores y Efectores Relacionados**

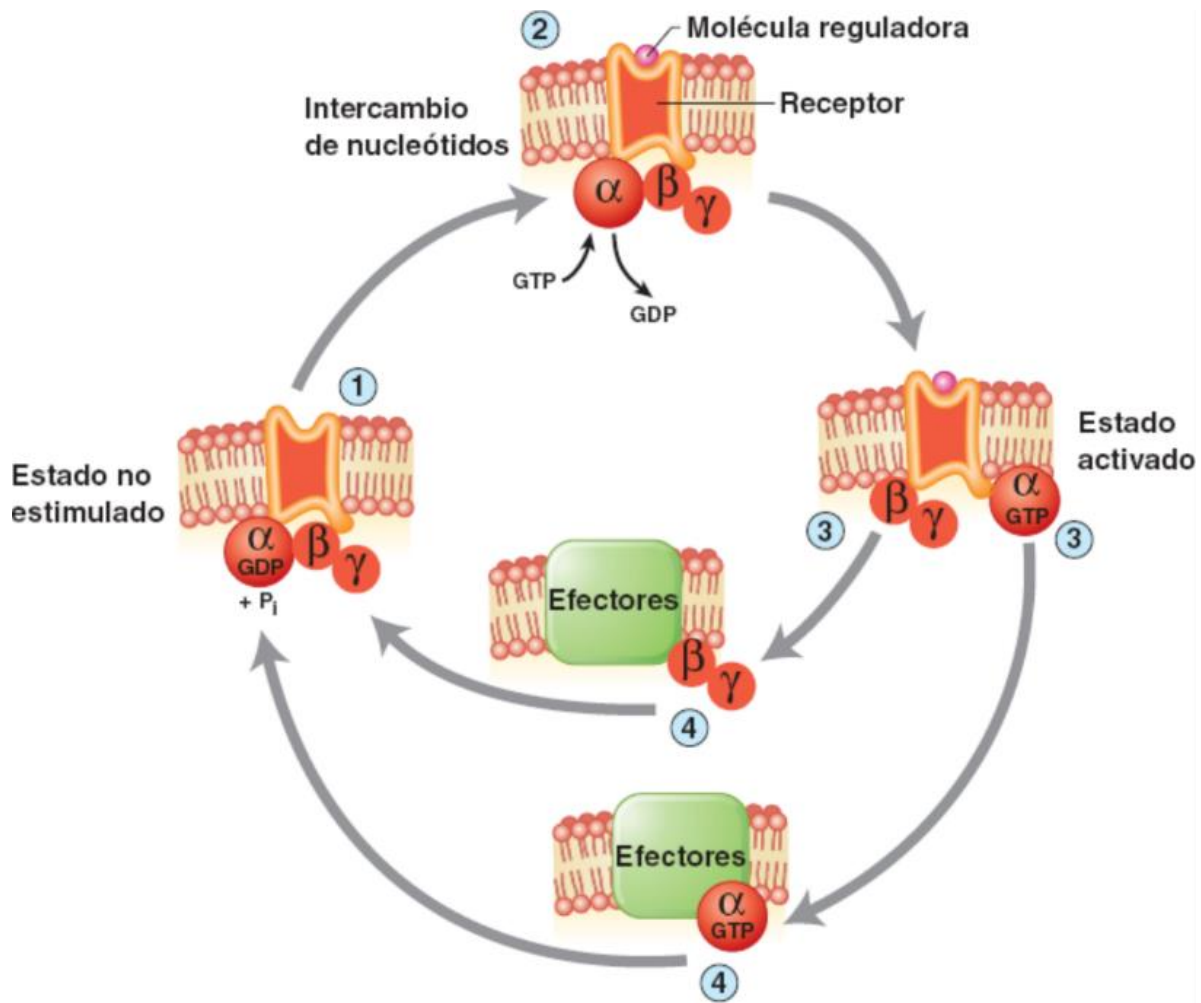
Subunidad de proteína G	Receptores relacionados	Efector
$\alpha_s$	$\beta$ -adrenérgico	Adenilil ciclase
	TSH	Canales del $\text{Ca}^{2+}$
	Glucagon	Canales del $\text{K}^+$
$\alpha_i$	$\alpha_2$ -adrenérgico	Adenilil ciclase
	Muscarínico (tipo II)	Canales del $\text{Ca}^{2+}$
		Canales del $\text{K}^+$
$\alpha_q$	$\alpha_1$ -adrenérgico	PLC $\beta$
$\beta/\alpha$		Adenilil ciclase (+ o -)
		El PLC apoya la fosforilación y desensibilización del receptor mediada por $\beta$ ARK

Fuente: Gardner *et al.*, 2012, párr. 37.

### Ciclo de las proteínas G heterotriméricas

Como su nombre lo dice, este es un ciclo que se repetirá constantemente siempre y cuando el ligando se encuentre unido al receptor, por ende, la señal se puede amplificar. Este proceso se explica en el siguiente orden (Figura 10):

**Figura 10. Procesos que Ocurren en el Ciclo de la Proteína G Heterotrimérica**

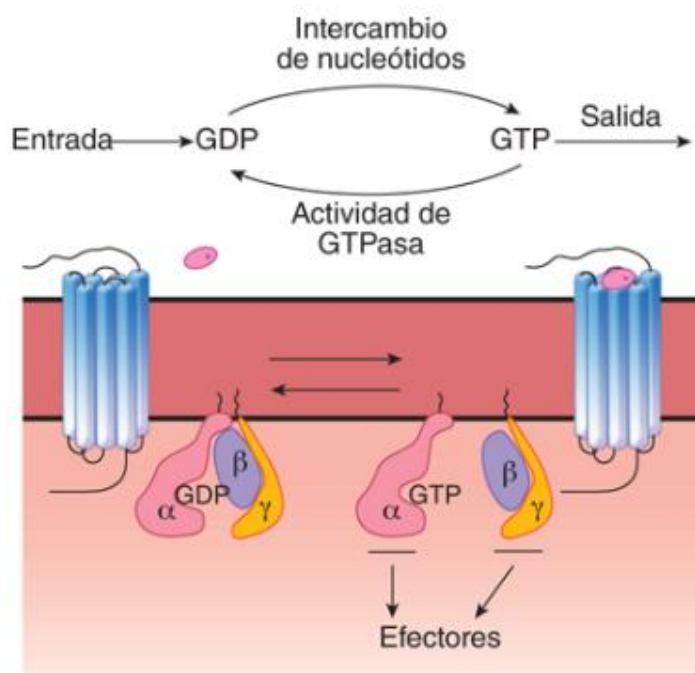


Fuente: Fox, 2017, párr. 182.

- Las proteínas G están formados por las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  en las membranas celulares, (Paniagua *et al.*, 2017, párr. 41). Cuando la molécula reguladora no está unida al receptor, las subunidades de la proteína permanecen agregadas al receptor, la subunidad  $\alpha$  se une al GDP (guanosina difosfato) y la proteína G permanece junto a la membrana plasmática por un grupo isoprenil unido a residuos de cisteína del extremo terminal C de la subunidad  $\gamma$  (Figura 10), (Nestler *et al.*, 2017, párr. 11).
- Cuando el receptor es activado por la molécula reguladora, la proteína G va a soltar al GDP de la última vez que actuó y se va a cargar con GTP (guanosina trifosfato), (Nestler *et al.*,

2017, párr. 11). La subunidad  $\alpha$  intercambia GDP por GTP permitiendo que la subunidad  $\alpha$  se separe de las subunidades  $\beta$ - $\gamma$  (Figura 10 y 11), (Barrett *et al.*, 2016, párr. 121).

**Figura 11. Reacciones que Ocurren al Receptor Acoplado a la Proteína G al Unirse un Ligando**



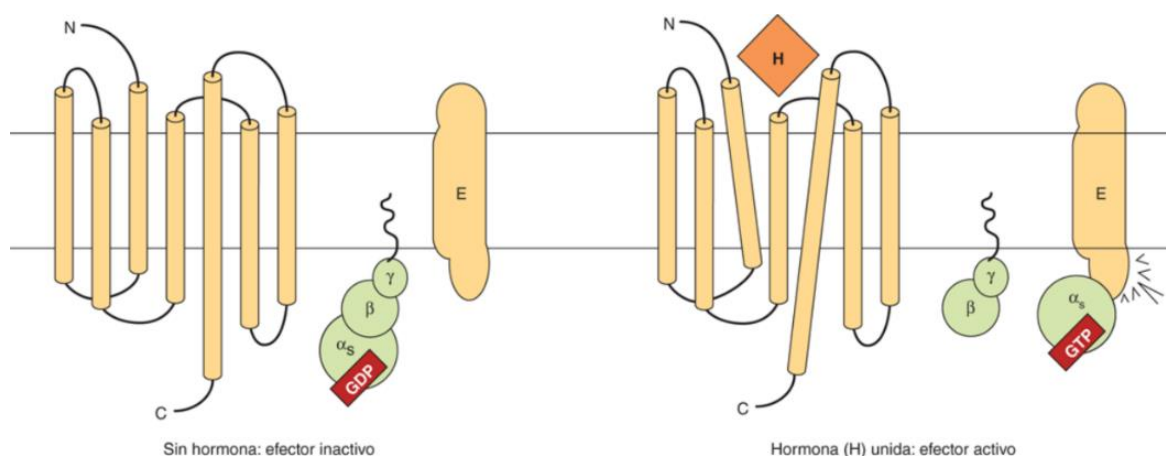
Fuente: Barrett *et al.*, 2016, párr. 122

- Tanto la subunidad  $\alpha$  como el complejo  $\beta$ - $\gamma$  se activan, ellos actuarán directamente sobre distintos efectores (enzimas o canales) para regularlos (Figura 10), (Nestler *et al.*, 2017, párr. 11). En este caso, la activación de efectores conduce a la producción de segundos mensajeros que procederán a activar una o más proteínas celulares de señalización (Figura 12), (Karp, 2014, párr. 40).

**Figura 12. Componentes del Sistema Efector de Ligando-Proteína G**

Al unirse el ligando (H) con el receptor, se da el intercambio de GDP con GTP sobre la subunidad  $\alpha$ , permitiendo la disociación de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ - $\gamma$ . La subunidad  $\alpha$  se une y activa al efector (E), el

cual puede ser un adenilciclasa, canales de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$  o  $\text{Cl}^{-}$  ( $\alpha_s$ ), un canal de  $\text{K}^{+}$  ( $\alpha_i$ ), fosfolipasa  $\text{C}\beta$  ( $\alpha_q$ ) o cGMP fosfodiesterasa ( $\alpha_t$ ). Asimismo, la subunidad  $\beta\gamma$  puede tener acciones directas sobre E.



Fuente: Weil, 2016, párr. 17.

- La actividad intrínseca GTPasa de la subunidad  $\alpha$  degrada el GTP en GDP y  $\text{P}_i$ , lo cual permite que la subunidad  $\alpha$  se disocie del efector y se una nuevamente con las subunidades  $\beta$ - $\gamma$  para volver a formar la proteína G heterotrimérica inactiva, es decir, restaurar el estado basal (Figura 10), (Fox, 2017, párr. 182). Mientras se da este proceso, el ligando que estaba unido al receptor se va disminuyendo y, cuando ya no haya suficiente concentración de ligando, todo el ciclo se detiene (Nestler *et al.*, 2017, párr. 11).

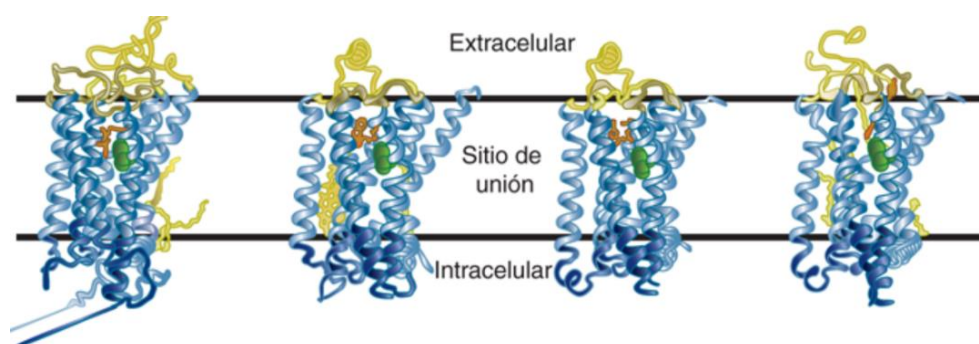
Los ligandos presentes para los GPCR pueden ser neurotransmisores, aminas biógenas, eicosanoides y otras moléculas lipídicas de señalización, hormonas peptídicas, opioides, aminoácidos y péptidos. Sin embargo, la estimulación prolongada del receptor puede ocasionar irregularidades, por ende, se inicia el proceso con quinasas de receptor de proteína G (GRK) que fosforilan en el extremo carboxilo terminal del receptor, dando origen a las arrestinas, las cuales se unen al receptor en su superficie interna, desplazan a las proteínas G e inhiben la señalización (Brunton *et al.*, 2012, párr. 54).

## Receptores acoplados a proteína G (GPCR)

Las proteínas de unión con GTP o proteínas G, por su estructura, se conocen también como receptores heptahelicoidales o receptores serpiente (Barrett *et al.*, 2016, párr. 124). Se les asignan estos nombres debido a que presentan siete regiones o dominios que atraviesan siete veces la membrana de la célula. El extremo amino terminal se dirige hacia el líquido extracelular (LEC), mientras que el extremo carboxilo terminal hacia el líquido intracelular (LIC) o hacia el citoplasma (Figura 13), (Gardner *et al.*, 2012, párr. 33). Estos receptores acoplados a proteína G heterotriméricos constituyen una enorme familia de moléculas que regulan la actividad de moléculas efectoras (como enzimas o canales iónicos) a ligandos de gran diversidad estructural (Karp, 2014, párr. 27). De hecho, se han identificado cientos de genes que codifican para los receptores acoplados a proteína G y hay una amplia variedad de respuestas que está mediada por estos (Weil, 2016, párr. 16).

### Figura 13. Estructuras Cristalizadas Representativas de los Receptores Acoplados a la Proteína G

El extremo amino es de color pardo y aparece fuera de la célula (extracelular), el extremo carboxilo es de color azul y aparece en el interior de la célula (intracelular) y las hélices transmembranales son de color celeste. Cada ligando tiene color naranja y en la figura se destacan las pequeñas diferencias detectadas en las orientaciones de unión de ligandos en los cuatro ligandos ilustrados.

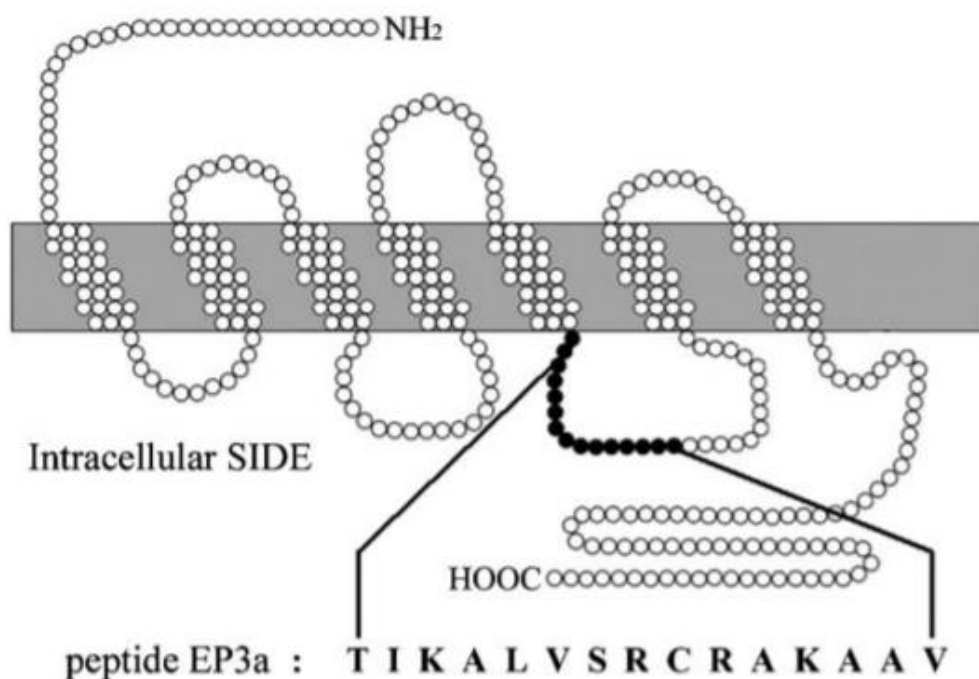


Fuente: Barrett *et al.*, 2016, párr. 126.

En un ensayo de unión de GTPyS se mostró que la activación de la proteína  $G_i$  se indujo directamente por el péptido del tercer bucle intercelular del receptor de prostaglandina EP3A

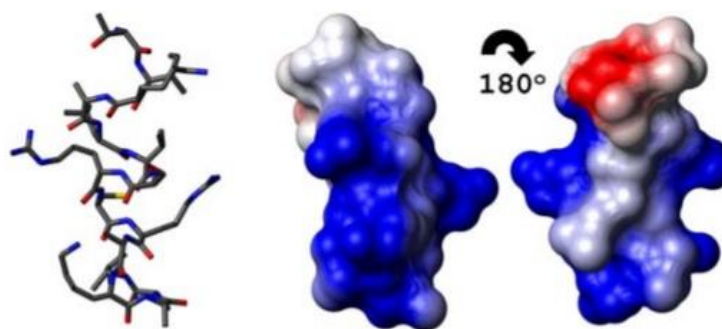
humana (Figura 14), por lo tanto, la región del péptido del tercer bucle intercelular de varios receptores acoplados a la proteína G desempeñaría un papel importante en la activación de la proteína G. Además, indicaban que el receptor EP3A, presenta 4 residuos de aminoácidos básicos contenidos en 15 residuos de aminoácidos. Estas cadenas laterales básicas forman un grupo de carga positiva en un lado de la superficie del péptido helicoidal (Figura 15), mientras que en el análisis de rayos X, indica que la superficie de la proteína G se cubre con carga negativa, en otras palabras, el péptido del receptor podría interactuar electrostáticamente con la proteína diana (Kikkou *et al.*, 2006, p. 935).

**Figura 14. Esquema Representativo de los Bucles del Receptor EP3A Acoplada a las Proteína G**



Fuente: Kikkou *et al.*, 2006, p. 934.

**Figura 15. Carga Positiva (Representado en Color Azul) del Receptor EP3A de Prostaglandina**



Fuente: Kikkou *et al.*, 2006, p. 935.

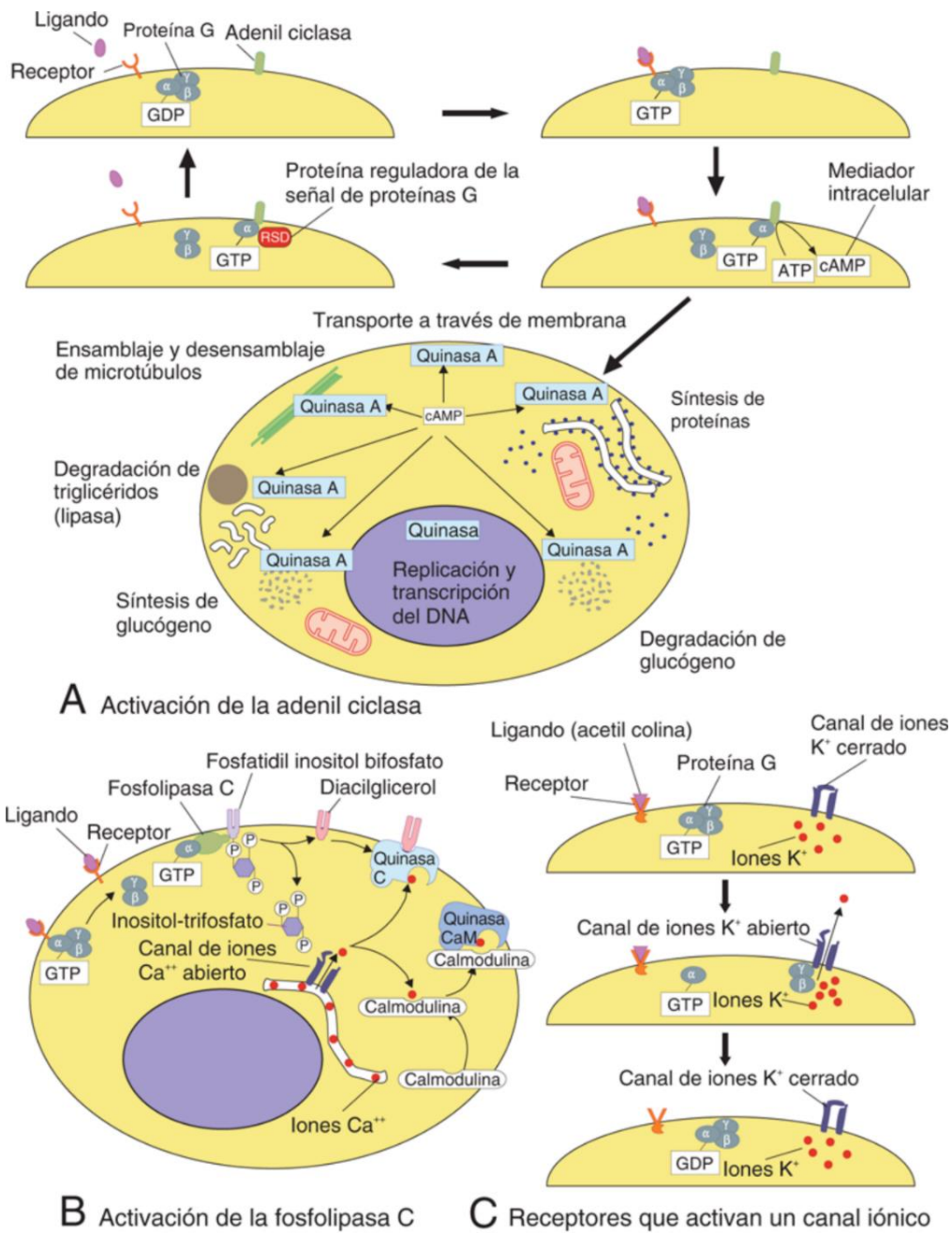
Los receptores acoplados a proteína G pueden presentar dos diferentes conformaciones con orientaciones de los segmentos que abarcan la membrana. Una orientación se da por la ausencia de un ligando agonista, por lo que el receptor no activa a la proteína G y permanece como una conformación inactiva, mientras que la otra orientación se da por la unión de un ligando agonista apropiado al receptor, permitiendo que el receptor active a la proteína G y permanece como una conformación activa (Gardner *et al.*, 2012, párr. 33). La activación de un solo receptor puede activar una o más proteínas G heterotriméricas, lo cual permite la amplificación y la transducción del primer mensajero. (Barrett *et al.*, 2016, párr. 124).

Los receptores no sólo transmiten especificidad de la respuesta, sino también aportan el medio para activar el mecanismo efector y así generar respuesta fisiológica. Los ligandos que se unen a los receptores con alta afinidad se clasifican como agonistas, que estimulan y desencadenan mecanismos efectores, mientras que los antagonistas se unen al receptor, pero no activan los mecanismos efectores (Gardner *et al.*, 2012, párr. 17 y 28). El efector puede ser una enzima ligada a la membrana plasmática o a un canal iónico (Figura 16), (Paniagua *et al.*, 2017, párr. 42).

En la activación de la enzima adenilil-ciclase, el ligando se une al receptor para activar a la proteína G, luego la subunidad  $\alpha$  activa adenilil-ciclase unida a la membrana provocando la síntesis de cAMP a partir de ATP, y estimula la fosforilación de diversas proteínas diana por la enzima quinasas dependientes de cAMP (PKA). Para la activación de la enzima fosfolipasa C, la subunidad  $\alpha$  altera la fosfolipasa C, que libera IP3 a partir de fosfatidil-inositol-BP, el cual difunde en el

citoplasma y activa los canales del  $\text{Ca}^{2+}$  del retículo endoplasmático liso. Entonces, los iones  $\text{Ca}^{2+}$  se liberan al citosol, se unen a la proteína-quinasa-C e inicia fosforilaciones de proteínas diana (Paniagua *et al.*, 2017, párr. 42).

**Figura 8. Diferentes Tipos de Receptores Acoplados a las Proteínas G**



Fuente: Paniagua *et al.*, 2017, párr. 42.

## **Segundos mensajeros involucrados en la activación de las proteínas G heterotriméricas.**

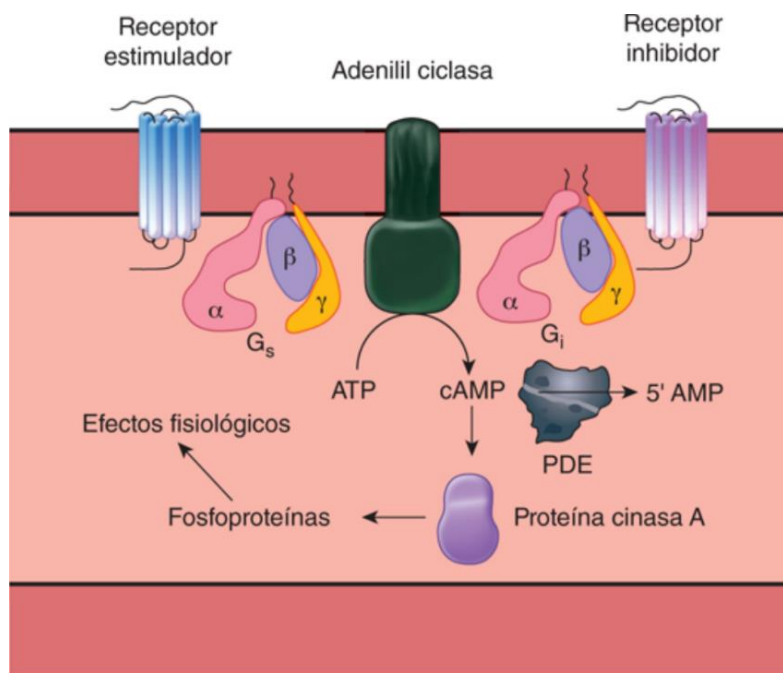
Aun cuando el segundo mensajero o la molécula reguladora no entra a la célula, pero se une a una proteína receptora presente en la membrana plasmática, puede influir sobre procesos que ocurren en la profundidad de las células, gracias a los segundos mensajeros químicos que tienen la capacidad de viajar hacia el citoplasma desde las proteínas receptoras (Fox, 2017, párr. 176 a 180). Como resultado, los segundos mensajeros permiten a las células establecer una acción coordinada a mayor escala después de la estimulación con una sola molécula reguladora (Karp, 2014, párr.60).

Como segundos mensajeros se destacan el adenosín monofosfato cíclico (cAMP), el guanósín monofosfato cíclico (cGMP), el óxido nítrico (NO), los principales metabolitos del fosfatidilinositol (inositol trifosfato conocido como IP<sub>3</sub> y diacilglicerol DAG), iones como el Ca<sup>2+</sup> y derivados del ácido araquidónico (como las prostaglandinas). Los niveles de los segundos mensajeros median los efectos de la activación de receptores en muchos tipos de canales iónicos y en numerosas respuestas fisiológicas (Nestler *et al.*, 2017, párr. 22).

### **Adenilil-ciclasa.**

Las adenilil-ciclasas son un tipo de glucoproteínas que presenta un pequeño dominio citoplásmico, dos dominios hidrófobos transmembrana y dos dominios citoplásmicos grandes (Brunton *et al.*, 2012, párr. 61). Se han reportado diez isoformas de enzimas adenilil-ciclasas unidas a la membrana celular y cada una de ellas posee propiedades reguladoras distintas, lo cual hace posible que la vía de adenosín monofosfato cíclico (cAMP) responda según a las necesidades específicas de los tejidos (Barrett *et al.*, 2016, párr. 137). Adenilil-ciclasa sintetiza cAMP bajo la regulación de muchos receptores acoplados a la proteína G y cuando un ligando apropiado se une al receptor estimulador, su activación es mediada por la subunidad G $\alpha_s$ , pero si un ligando apropiado se une al receptor inhibitor, su inhibición es mediada por la subunidad G $\alpha_i$  (Figura 17), (Nestler *et al.*, 2017, párr. 23).

**Figura 9. Sistema de Activación e Inhibición de una Adenilil-Ciclasa según el Receptor en que se Une el Ligando**



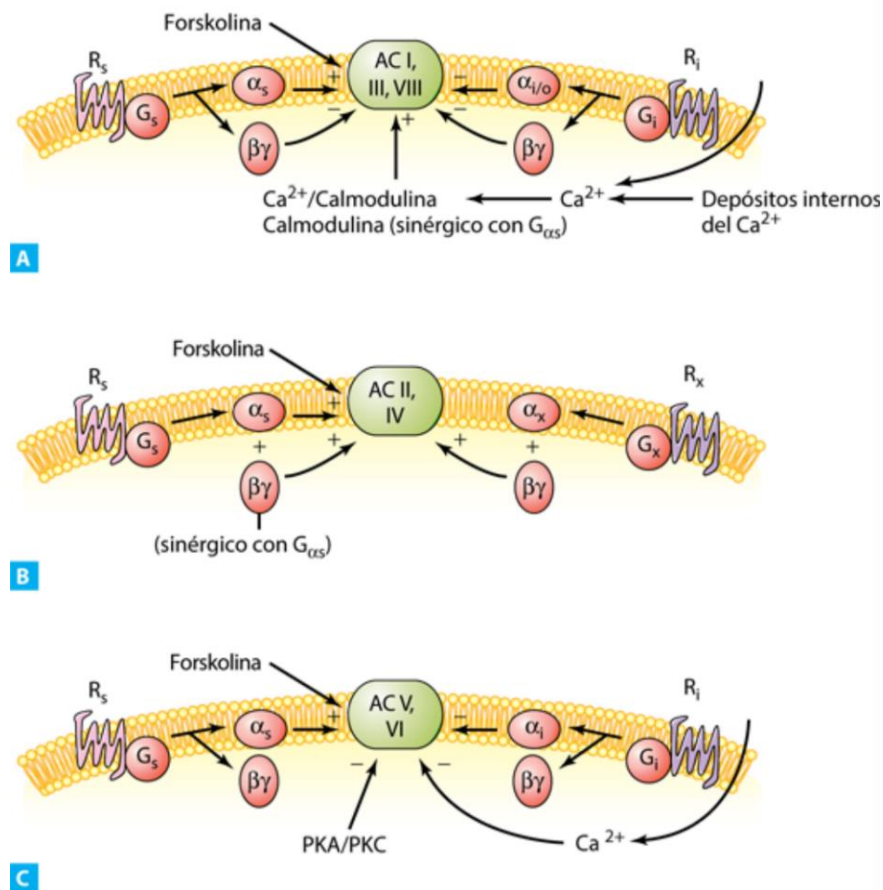
Fuente: Barrett *et al.*, 2016, párr. 138.

El aumento en la producción de cAMP estimula una proteína-quinasa dependiente de cAMP (PKA), la cual fosforila determinadas proteínas diana específicamente en residuos de serina o treonina, desencadenando una serie de señales intracelulares reversibles. Entre estas respuestas están la activación de proteínas transportadoras de membrana y la de enzimas implicadas en el desensamblaje o ensamblaje de microtúbulos, la degradación de lípidos, la síntesis o hidrólisis del glucógeno, la replicación y la transcripción nuclear, y la síntesis proteica en el retículo endoplasmático rugoso. La alta concentración de cAMP sólo persiste mientras el ligando está presente (Paniagua *et al.*, 2017, párr. 44 y 45). Además, el cAMP es rápida y continuamente degradado a adenosina-5'-monofosfato (5'-AMP) por la enzima fosfodiesterasa de cAMP y si la fosfodiesterasa es inhibida, podrían aumentar los efectos hormonales y de transmisión mediados por el cAMP (Barrett *et al.*, 2016, párr. 127).

Debido a que las isoformas I, III y VIII de adenilil-ciclasa son estimuladas por Ca<sup>2+</sup>/calmodulina, estas enzimas pueden ser activadas por un aumento de Ca<sup>2+</sup>, en donde la

subunidad  $G\alpha_s$  interactúa de forma sinérgica con  $Ca^{2+}$ /calmodulina y, en presencia de  $G\alpha_s$  activada, la adenilil ciclasa tipo I es inhibida por las subunidades  $\beta$ - $\gamma$ . Por otro lado, las isoformas II y IV no son sensibles a  $Ca^{2+}$ /calmodulina y, en presencia de  $G\alpha_s$  activada, son estimuladas sinérgicamente por complejos  $\beta$ - $\gamma$ . Y las isoformas V y VI son inhibidos en respuesta a la fosforilación por la PKA o la proteína quinasa C (PKC), aunque también son inhibidas por  $Ca^{2+}$  libre y por  $G\alpha_i$ , pero no son influidas por las subunidades  $\beta$ - $\gamma$  (Figura 18), (Nestler *et al.*, 2017, párr. 26). Como ocurre un efecto cruzado ante todos estos acontecimientos, se puede decir que el cAMP proporciona buenas bases para la comprensión de la estructura y regulación de varios sistemas de señalización de segundos mensajeros (Barrett *et al.*, 2016, párr. 137).

**Figura 10. Sistema de Regularización de la Actividad del Adenilil.Ciclasa**

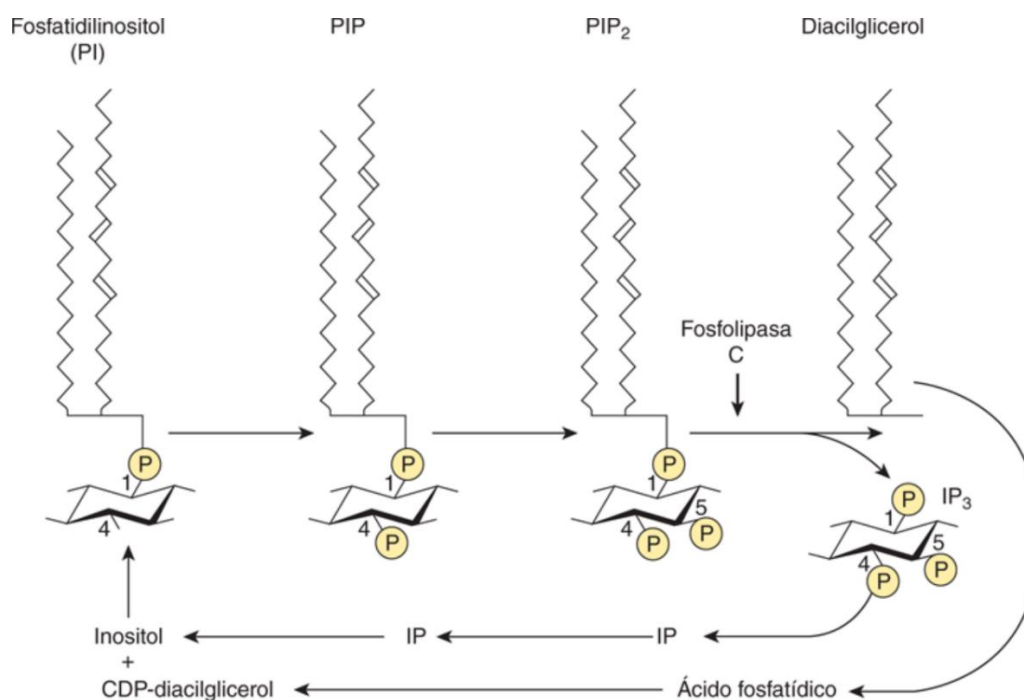


Fuente: Barrett *et al.*, 2016, párr. 138

### Activación de fosfolipasa C por la subunidad $G\alpha$ .

El fosfatidilinositol (PI) sufre fosforilaciones sucesivas para dar origen a fosfatidilinositol 4-fosfato (PIP) y más tarde a fosfatidilinositol 4,5 difosfato (PIP<sub>2</sub>). Al unir un ligando apropiado al receptor acoplado a la proteína G, se activa la fosfolipasa (PLC)  $\beta$  gracias a la subunidad  $G\alpha$ , el cual se puede lograr a través de la proteína  $G_q$  (Paniagua *et al.*, 2017, párr. 47). La fosfolipasa C cataliza la hidrólisis de PIP<sub>2</sub> en inositol 1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol (DAG), los cuales se desfosforila en inositol el primero, y se metabolizan a CDP-diacilglicerol, el segundo. Estos últimos dos productos se combinan entre ellos para formar fosfatidilinositol, completando un ciclo (Figura 19), (Nestler *et al.*, 2017, párr. 37).

**Figura 11. El Ciclo de Fosfatidilinositol**

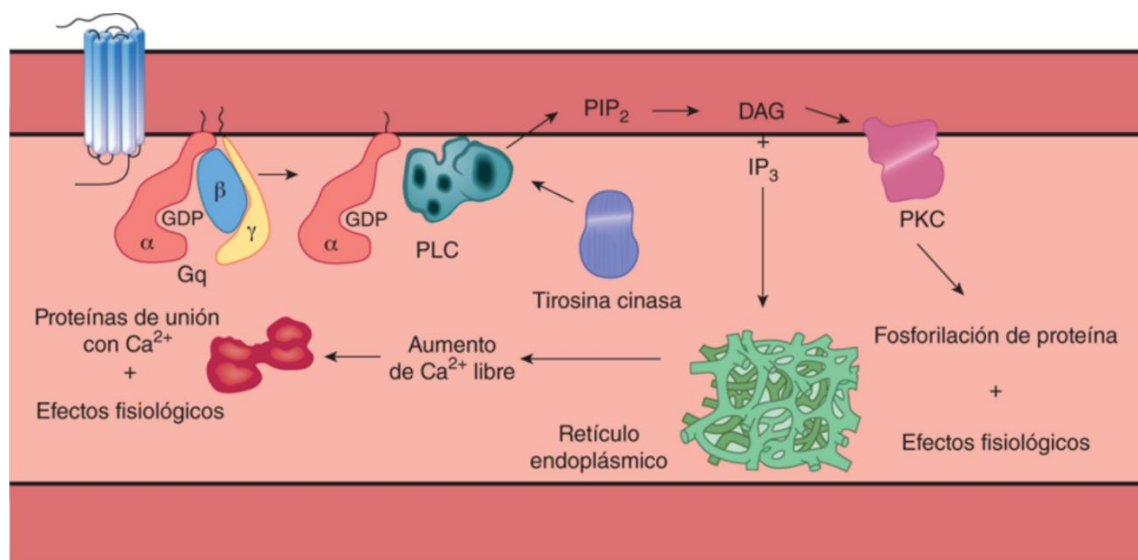


Fuente: Barrett *et al.*, 2016, párr. 129.

El diacilglicerol DAG es una molécula lipídica que permanece en la membrana celular después de su formación por PLC $\beta$ . Ahí el DAG activa una de varias isoformas de la proteína

quinasa C (PKC), que fosforila diversas proteínas intracelulares. La enzima PKC tiene varias funciones importantes en el crecimiento y diferenciación celulares, metabolismo celular, muerte celular y respuestas inmunitarias (Figura 19), (Karp, 2014, párr.71 y 72). Por otro lado, el inositol-trifosfato IP<sub>3</sub> es una pequeña molécula hidrosoluble capaz de difundirse con rapidez por el interior de la célula y se une con un receptor específico para IP<sub>3</sub> ubicado en la superficie del retículo endoplásmico y activa los canales de Ca<sup>2+</sup> para que se difundan hacia el citoplasma (Figura 20), (Barrett *et al.*, 2016, párr. 128).

**Figura 12. Liberación de Inositol-Trifosfato y Diacilglicerol como Segundos Mensajeros**



Fuente: Barrett *et al.*, 2016, párr. 130

### Calcio (Ca<sup>2+</sup>).

El calcio es un mensajero importante en todas las células y puede regular diversas respuestas como la expresión génica, contracción, secreción, metabolismo y actividad eléctrica. El calcio puede entrar a la célula a través de los conductos de Ca<sup>2+</sup> en la membrana plasmática o puede ser liberado por hormonas o factores de crecimiento de su almacenamiento intracelular, de sus sitios de almacenamiento intracelular como el retículo endoplásmico. Como se había mencionado, el calcio liberado hacia el citoplasma desde el retículo endoplásmico por estimulación de IP<sub>3</sub> es retirado con rapidez por bombas de Ca<sup>2+</sup> en la membrana plasmática y también es

recapturado para llenar las reservas del retículo endoplasmático (Blumenthal y Garrison, 2012, párr. 78 a 81). Las bombas SERCA son las encargadas de bombear  $\text{Ca}^{+2}$  del citoplasma al lumen del retículo sarcoplásmico con el fin de recuperar los niveles de calcio (Romero y Rueda, 2015, p. 29).

### **Metabolitos del ácido araquidónico.**

El ácido araquidónico da lugar a muchas moléculas de señalización importantes, que son producto de dos vías principales. Una involucra la 5'-lipooxigenasa y da lugar a los leucotrienos, mientras que la otra implica la acción de la ciclooxigenasa y da lugar a tres familias de señales: prostaciclina, prostaglandinas, y tromboxanos. Las ciclooxigenasas son inhibidas por agentes antiinflamatorios no esteroideos. El ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico es un inhibidor de la lipooxigenasa que también inhibe las ciclooxigenasas (Nestler *et al.*, 2017, párr. 39).

Las diversas actividades biológicas de estos eicosanoides sirven para regular la adenilil ciclasa, la guanilil ciclasa, canales iónicos, proteína quinasa y otras proteínas celulares, ya sea directamente o como ligandos endógenos de receptores acoplados a proteínas G. Los receptores para los leucotrienos se llaman receptores BLT o LT, y los receptores para prostaglandinas y tromboxanos son llamados receptores prostanoides, el cual se denomina según el metabolito del ácido araquidónico que tiene mayor afinidad por ese receptor. Cabe mencionar que los receptores EP, se activan preferentemente por prostaglandina  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ), mientras que los receptores LT están acoplados a  $\text{G}_q$  y supuestamente actúan estimulando la vía PLC (Nestler *et al.*, 2017, párr. 40 a 41).

### **Etapas del descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos a nivel *in silico***

El descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos es un proceso complejo y multidisciplinario, que incluye la quimioinformática, la bioinformática, el modelado molecular, la química teórica y la visualización de datos. Esto viene siendo un motor en la evolución de las industrias farmacéuticas, la mayoría de los diseños de fármacos son sintetizados a partir de los productos naturales y, actualmente, el panorama farmacéutico se ha ampliado más gracias a las nuevas metodologías y simulaciones obtenidas por el método computacional (conocido también como *in silico*), que permiten codificar con precisión modelos teóricos y procesar cantidades de

información que permiten mejorar y entender los mecanismos de acción de los principios activos de los medicamentos (Saldívar *et al.*, 2017, p. 51).

Esto ha beneficiado el uso de las bibliotecas virtuales de compuestos que permiten hacer un barrido casi instantáneo de enormes cantidades de moléculas diferentes que comparten características estructurales comunes o que tienen similitudes terapéuticas (Prieto y Medina, 2018, pp. 124 y 125). También se ha logrado ahorrar más los recursos, riesgos, costos y tiempos de simulaciones de procesos biológicos, de cálculo de propiedades y de comparar estructuras químicas de manera sistemática durante el proceso de innovación de medicamentos, en comparación con los métodos experimentales (Prieto y Medina, 2018, pp. 124 y 125). No obstante, se estima que el desarrollo de un fármaco podría durar unos 10 a 15 años y se invierte un aproximado de 800 millones de dólares, principalmente por las cantidades de moléculas que fallan durante las etapas del desarrollo (Saldívar *et al.*, 2017, p. 51).

El proceso inicia con la identificación de una patología en específico que podría conllevar a la determinación de una o varias dianas moleculares de interés y sus compuestos activos (hits) (Saldívar *et al.*, 2017, p.52). A partir de este punto, se les empieza a hacer amplias modificaciones a los compuestos hits hasta obtener un compuesto lead optimizado (compuesto líder), es decir, una molécula que cumpla con las propiedades específicas deseadas y otros aspectos como la originalidad, patentabilidad y accesibilidad por extracción o síntesis (Figura 21 y 22). Para dar continuidad, se procede a una serie de pruebas pre-clínicas, en las que debe demostrar no ser tóxico, tanto en células o tejidos como en modelos animales. Si se aprueba con éxito, se pasaría a la etapa de pruebas clínicas que abarcan diferentes fases (Figura 22) (Gil, 2010, p. 2):

Fase I. Probar que el compuesto es seguro y tolerable en individuos sanos. También evaluar su farmacocinética y farmacodinamia (Figura 22) (Cuevas *et al.*, 2016, p. 16).

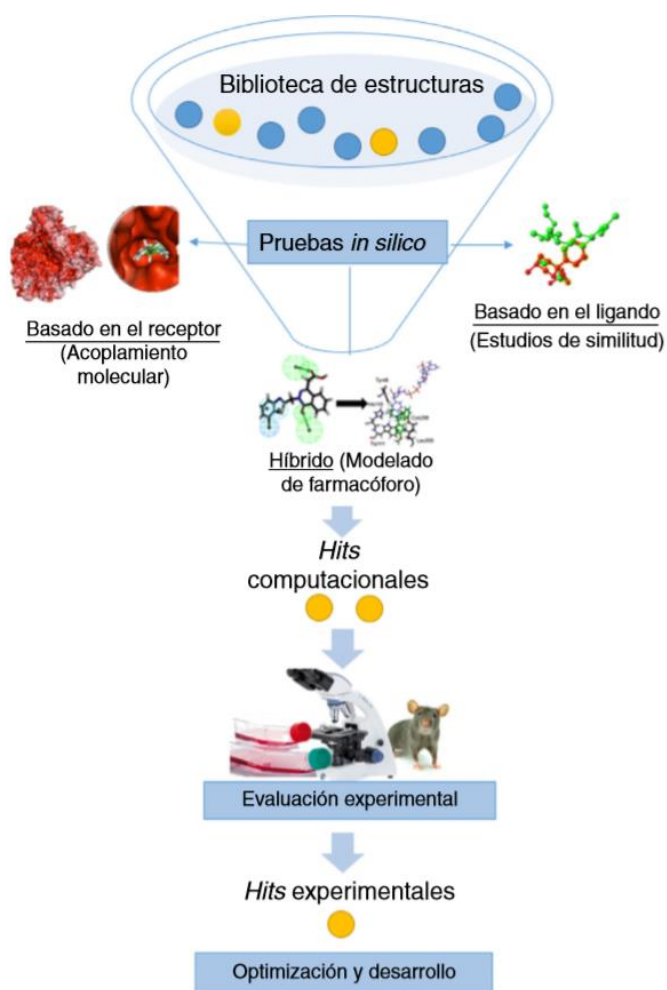
Fase II. Probar la eficacia del compuesto en un número limitado de individuos que padecen la enfermedad o entidad clínica de interés, para estudiar una actividad biológica específica, el control o la profilaxis de una enfermedad. Estos estudios sirven también para determinar el rango de dosificación apropiado (Figura 22) (Cuevas *et al.*, 2016, p. 16).

Fase III. Estudio que se realiza en un gran número de individuos enfermos para probar la eficacia del compuesto y su carácter inofensivo. Esta fase debe establecer la incidencia de los efectos secundarios comunes e indicar qué tipo de pacientes tienen un riesgo especial para

desarrollar efectos secundarios menos frecuentes. Una vez aprobada, se lanza al mercado como un nuevo fármaco (Figura 22) (Cuevas *et al.*, 2016, p. 16).

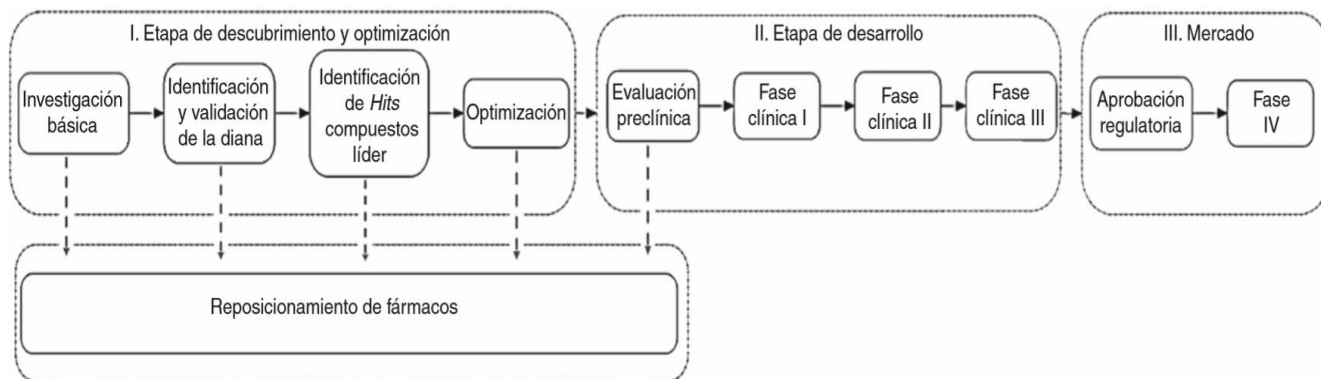
Fase IV. Fase donde se realiza la farmacovigilancia, que consiste en el seguimiento del fármaco una vez ha sido comercializado, detección de efectos secundarios a largo plazo, posibles efectos del fármaco sobre la patología o nuevas indicaciones o formulaciones, estudios de morbilidad y mortalidad (Figura 22) (Cuevas *et al.*, 2016, p. 17).

**Figura 13. Proceso de Optimización de Compuestos Activos (Hits)**



Fuente: Saldívar *et al.*, 2017, p. 56.

**Figura 14. Esquema General del Proceso de Descubrimiento y Desarrollo de un Fármaco**



Fuente: Saldívar *et al.*, 2017, p. 53.

### Modelado molecular de compuestos con actividades biológicas

Al conocer la estructura tridimensional de una proteína, es posible utilizar programas de dinámica molecular para simular la dinámica conformacional de una proteína y observar cómo los factores como la temperatura, el pH, la fuerza iónica o las sustituciones de aminoácidos influyen sobre estos movimientos. Los programas de acoplamiento (“docking”) molecular permiten visualizar las interacciones que tienen cuando una proteína se encuentra con un sustrato, inhibidor u otro ligando. La investigación virtual para moléculas que tienen probabilidades de interactuar con sitios clave sobre una proteína de interés biomédico, se usa de manera extensa con el fin de facilitar el descubrimiento de nuevos fármacos (Rodwell *et al.*, 2016, párr. 36).

El modelado molecular de compuestos orgánicos y los métodos para el descubrimiento de receptores para fármacos han logrado beneficiar satisfactoriamente la relación de estructura-actividad cuantitativamente (Brunton *et al.*, 2012, párr.15). Además, se emplea para inferir la estructura de proteínas para las cuales aún no se dispone de estructuras cristalográficas con rayos X o resonancia magnética nuclear (NMR) (Rodwell *et al.*, 2016, párr. 37).

La cristalografía de rayos X ofrece información estructural más detallada si la proteína a la cual se unirá el fármaco puede cristalizarse con el fármaco unido a ella. La espectroscopia por resonancia magnética nuclear (NMR) es otra técnica útil para conocer la estructura del complejo fármaco-receptor, en donde los estudios de NMR se realizan en solución, lo que tiene la ventaja de que el complejo no debe ser cristalizado. Sin embargo, las estructuras obtenidas por espectroscopia

por NMR por lo general no son tan precisas como las obtenidas por cristalografía de rayos X y la proteína estudiada no debe tener un tamaño mayor de 35 a 40 kDa (Brunton *et al.*, 2012, párr.9).

Una de las aplicaciones del modelado molecular es proponer cambios específicos a las estructuras químicas para ayudar a incrementar su afinidad y especificidad con la diana terapéutica, con el fin de aumentar su actividad biológica efectivamente. Entender el modo de acción de moléculas activas a nivel molecular, tiene gran interés científico y práctico para el desarrollo de nuevos fármacos y mejoramiento de la calidad de vida de las personas. Además, dependiendo de la información disponible, se emplea con gran frecuencia el acoplamiento molecular (“docking”), el cribado o filtrado computacional de colecciones de compuestos (“virtual screening”) y modelado del farmacóforo (Medina *et al.*, 2015, p. 181).

Para modular, imitar y predecir el comportamiento de las moléculas se utilizan dos estrategias, el diseño basado en ligandos y el diseño basado en la diana. El primero se aplica cuando se dispone de una serie de ligandos que poseen afinidad por la misma diana terapéutica y se unen en el mismo sitio, mientras que el segundo se utiliza cuando se dispone de la estructura tridimensional de la diana (López, 2017, p. 141). Sin embargo, cuando no se dispone la proteína cristalizada, se requiere hacer modelos de homología, un método para diseñar una estructura cristalizada lo más parecido posible a la proteína de interés para poder proceder con la investigación, lo cual se explicará más adelante (Leffler *et al.*, 2017, p. 2).

### **Relaciones de estructura-actividad y diseño de fármacos**

La potencia de una interacción reversible entre un ligando y su receptor, está medida por la constante de disociación que inicia la afinidad de uno por otro y la estructura química de un ligando también contribuye a la especificidad de este mismo (Zastrow, 2016, párr. 93). Un ligando que interactúa con un solo tipo de receptor que se expresa en cantidades limitadas de células diferenciadas, mostrará gran especificidad. Sin embargo, si un receptor tiene varias expresiones en diversas células, el ligando mostrará amplios efectos, con la posibilidad de producir efectos secundarios o tóxicos graves si el receptor tiene una función importante en varios tejidos. De hecho, muchos fármacos de importancia clínica muestran especificidad amplia porque tienen la capacidad de interactuar con múltiples receptores en diferentes tejidos (Brunton *et al.*, 2012, párr. 6 y 9).

La explotación de las relaciones de estructura y actividad entre un ligando y un receptor, en muchas ocasiones, ha ocasionado la síntesis de agentes terapéuticos útiles. El antagonismo terapéutico útil de hormonas o neurotransmisores se ha desarrollado por modificaciones químicas de la estructura del agonista fisiológico. Las modificaciones menores de la estructura también tienen efectos notables en las propiedades farmacocinéticas de los fármacos, como una distribución más fiable en el cuerpo y un fármaco que debe ser desdoblado por una esterasa para que adquiera su actividad. Por ende, la unión específica de un fármaco a su receptor se ilustra por la capacidad de los receptores para interactuar de manera selectiva con isómeros ópticos (Brunton *et al.*, 2012, párr.13 y 14).

Ante esa información, se da la posibilidad de utilizar análisis por ordenadores para identificar las propiedades químicas, el farmacóforo necesario para la interacción óptima con el receptor: tamaño, forma, posición y orientación de los grupos con carga o de los enlaces donadores de hidrógeno, entre otras características. La importancia de las interacciones específicas entre fármaco y receptor puede valorarse al analizar la respuesta de los receptores que han sufrido mutación selectiva en residuos de aminoácidos individuales, el cual puede permitir la optimización o diseño de compuestos químicos que pueden unirse al receptor sin mejorar la afinidad, selectividad o efectos reguladores (Brunton *et al.*, 2012, párr. 15). El hecho de conocer las interacciones básicas que tienen lugar entre un ligando y su receptor permite la estimación de su afinidad y la utilización de técnicas de optimización

La afinidad de un fármaco por su receptor y su actividad intrínseca depende de su estructura química, pues las relaciones con frecuencia son bastante específicas y las modificaciones menores que se realizan en la molécula del fármaco pueden ocasionar cambios importantes en sus propiedades farmacológicas, basados en la alteración de la afinidad por uno o más receptores. Sin embargo, los cambios en la configuración molecular no alteran todas las acciones y efectos de un fármaco en la misma intensidad y en ocasiones es posible desarrollar un congénere con una razón más favorable de efectos-terapéuticos y efectos-adversos, incrementando la selectividad entre diferentes células o tejidos o bien, proporcionándole características secundarias más aceptables que las que mostraba el fármaco original (Brunton *et al.*, 2012, párr.13 y 14).

Por otro lado, la capacidad de un fármaco para activar receptores y generar una respuesta celular es reflejo de su eficacia. Asimismo, un fármaco con alta eficacia puede ser un agonista

pleno y desencadenar, a cierta concentración, una respuesta plena, mientras que un fármaco con una eficacia menor en el mismo receptor, podría no desencadenar una respuesta plena aun a dosis muy elevadas. Cuando es posible describir la eficacia relativa de fármacos en un receptor en particular, un fármaco con baja eficacia intrínseca será un agonista parcial. Un fármaco que se une al receptor y muestra eficacia cero es un antagonista. Cuando la respuesta de un agonista se mide en un sistema biológico simple, la constante de disociación aparente ( $K_{app}$ ), es una constante de equilibrio macroscópico que refleja tanto el equilibrio de unión a ligando, como el equilibrio subsiguiente que da origen a la formación de un receptor activo (Brunton *et al.*, 2012, párr. 24).

### **Modelado por homología**

Los avances en biología molecular y en la secuenciación del genoma, hicieron posible identificar receptores proteicos al predecir su homología estructural con otros receptores previamente conocidos y cristalizados, ya que la mayoría de los receptores de los fármacos de relevancia clínica son proteínas. Este esfuerzo reveló que muchos de los fármacos conocidos, se unían a más receptores de los que se esperaba al inicio, especialmente a receptores huérfanos o desconocidos. Tal suceso motivó el esfuerzo y determinación para desarrollar nuevos y futuros fármacos cada vez más selectivos y con menos efectos indeseados para el cuerpo (Zastrow, 2016, párr. 9).

En ocasiones, no hay acceso a receptores o proteínas de interés para hacer pruebas de investigaciones, ya sea porque son bastante difíciles de cristalizar, como las proteínas de membrana, o porque el porcentaje de la única estructura y su resolución razonable es demasiado pequeña. No obstante, cristalizar una proteína es un proceso muy tedioso y delicado, y esto se debe principalmente a las limitaciones de los métodos existentes y a la dificultad del cristalógrafo para asignar correctamente los aminoácidos y su densidad electrónica (Prieto y Medina, 2018, p. 133). Ante esta complejidad, se presenta una alternativa que involucra crear un modelado por homología de la proteína de interés.

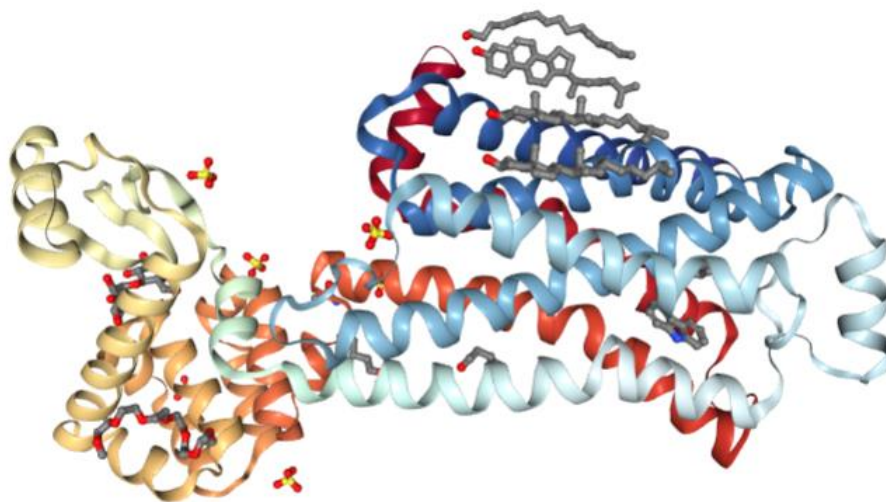
El proceso consiste en crear la estructura de una proteína virtual usando como base las estructuras o secuencias de las proteínas ya cristalizadas, que son parecidas entre sí por su origen (homóloga), con el fin de predecir la estructura terciaria de la proteína desconocida (Ballesteros y Parra, 2018, p. 63). Para determinar el grado de semejanza entre dos proteínas, se necesita del alineamiento de

secuencias de aminoácidos para conocer su relación evolutiva y contar el número de posiciones equivalentes conservadas para reducir al mínimo los vacíos y los desfases, y maximizar las coincidencias entre las secuencias que se comparan (Díaz et al., 2012, p. 107).

Es probable que el resultado sea una quimera proteica que requiere un análisis para determinar que fue construida válidamente y que sea útil para el acoplamiento molecular. Además, es cierto que la utilidad real de un modelo por homología puede ser limitado, pero es una herramienta útil para apoyar el diseño de fármacos a dianas, cuyas estructuras tridimensionales no son bien conocidas y los resultados pueden ser consideraciones apropiados (Duan *et al.*, 2015, p.7).

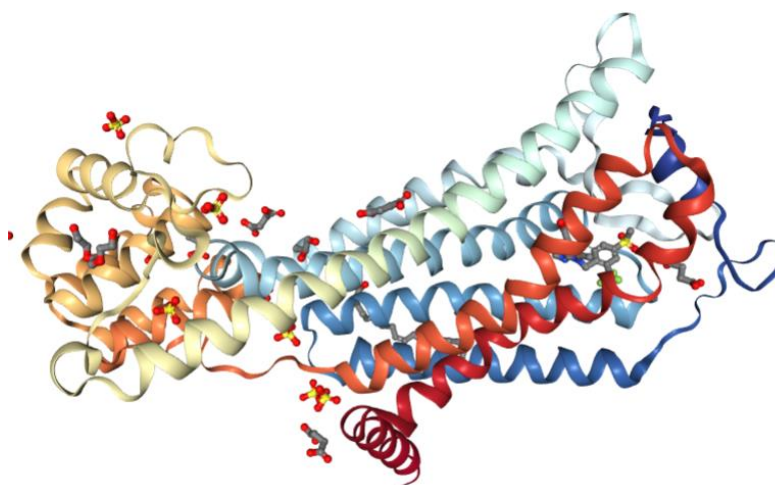
De acuerdo con la evidencia científica, se han identificado que los péptidos del tercer bucle intracelular del receptor  $\beta$ 2-adrenérgico pueden activar la proteína G inhibidora (Gi), por lo tanto, se considera como un buen modelo para la investigación del mecanismo molecular (Figura 23) (Kikkou *et al.*, 2006, p. 933). Por otro lado, el receptor de prostaglandina D2 también presenta una estructura muy similar a la prostaglandina E2 y presenta una buena unión a los receptores acoplados a la proteína G. Por eso, Wang y sus colaboradores (2018, p.1), diseñaron una estructura cristalizada de este receptor (Figura 24), con el fin de revelar nuevos mecanismos sobre el reconocimiento de ligandos diferenciales entre los GPCR (Baidya *et al.*, 2018, p. 5).

**Figura 15. Estructura Cristalizada del Receptor  $\beta$ 2-Adrenérgico (PDB-ID 2RH1)**



Fuente: Protein Data Bank, 2018.

**Figura 16. Estructura Cristalizada del Receptor de Prostaglandina D2 (PDB-ID 6D26)**



Fuente: Protein Data bank, 2018.

### **Cribado virtual o filtrado computacional de colecciones de compuestos**

El cribado virtual involucra el proceso de identificar, de diseñar o analizar el potencial farmacológico de una sustancia por métodos computacionales. Este incluye tres pasos: la preparación de las estructuras, el filtrado y pruebas *in silico*. Una vez terminados estos pasos, se pueden añadir pruebas, como un modelo descriptivo con los resultados obtenidos, o iniciar el procedimiento nuevamente para refinar los resultados. Además, cabe aclarar que los resultados del cribado virtual no aseguran que se ha descubierto o diseñado un nuevo fármaco hasta comprobarlo con pruebas biológicas, pero sí son herramientas invaluable para optimizar tiempo y recursos, como se había mencionado anteriormente (Prieto y Medina, 2018, p. 126).

La preparación de estructuras es el paso más lento, pero determinante, que consiste en precisar correctamente las estructuras químicas a emplear, asignar la geometría, cargas y quiralidad adecuadas de los compuestos de interés, los cuales pueden proceder de bases de datos públicas con compuestos identificados por un grupo de investigadores o hacer la propuesta teórica de nuevas estructuras. El filtrado consiste en la selección de compuestos que mejor cumplan con los criterios de interés (Tabla 3) (Prieto y Medina, 2018, p. 126):

**Tabla 3. Filtros y sus Criterios o Rangos para Seleccionar Compuestos**

Filtro	Descripción
Ghose	Indica que el LogP debe estar entre -0,4 y 5,6 (preferiblemente entre 1,3 y 4,1), el peso molecular entre 160 y 480 Da, la refractividad molar entre 40 y 130 y el número total de átomos entre 20 y 70. (Ghose <i>et al.</i> , 1999, p. 67)
Lipinski	Indica que no debe tener más de 5 donadores de puentes de hidrógeno y no más de 10 aceptores de puentes de hidrógeno. El peso molecular debe ser inferior a 500 Da y el coeficiente de reparto octanol-agua (LogP) inferior a 5. Con solo que no cumpla una de las reglas, se considera una alerta de pobre absorción y pobre permeabilidad. (Lipinski <i>et al.</i> , 2001, p. 9)
Muegge	Indica que el LogP debe estar entre -2 a 5, el peso molecular entre 200 y 500 Da, los aceptores y donares de puentes de hidrógeno inferior a 10 y 5, respectivamente. También indican que la Refractividad molar debe estar entre 40 y 130, enlaces rotables debe ser inferior a 8, átomos pesados entre 20 y 70, área polar superficial inferior a 120 Å <sup>2</sup> y anillos menores de 4. (Muegge, 2003, p. 304)
Veber	Resalta la importancia de la biodisponibilidad oral de un medicamento independientemente a la masa molecular, por lo que incluye los enlaces rotables inferior a 10, el área polar superficial inferior a 140 Å <sup>2</sup> y los donares o aceptores de hidrógeno menor a 12 y enlaces rotables menor a 10. (Veber <i>et al.</i> , 2002, p. 2620)
Biodisponibilidad	Indica que la masa molecular debe ser inferior a 500 Da, LogP menor a 5, APS menor a 200 Å, los enlaces rotables deben ser menos de 10 y los anillos menos de 5. También indica que los aceptores y donadores de hidrógeno debe ser menor de 10 y 5, respectivamente.,

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Por último, después de cumplir con los filtros, se prosiguen a las pruebas *in silico*, las cuales son simulaciones que pueden incluir: similitud química, acoplamiento molecular y dinámica molecular (Prieto y Medina, 2018, p. 126). El acoplamiento molecular propone modelos de unión y muchas veces, el acoplamiento depende de las características fisicoquímicas del receptor más que del ligado, y de eventos bioquímicos desencadenados por la unión de ellos (Zastrow, 2016, párr. 20). Tiene dos etapas, el “docking” que busca la conformación y orientación o posición óptima de un ligando dentro de una diana molecular, mientras que el otro consiste en la precisión de puntuación o “scoring”, el cual busca asignar un valor o puntaje que mida la interacción entre las estructuras. Esta última etapa es la más difícil de calcular con precisión y de forma rápida (Saldívar *et al.*, 2017, p. 54).

Un indicador del acople molecular en unión del ligando con el receptor es la energía de Gibbs (Meneses y Cuesta, 2015, p.18). Cuando este tiene un valor más bajo o negativo en comparación con otro, este presenta una mejor unión y estabilidad, pero si presenta un valor alto o positivo indica menor unión y estabilidad (Castillo *et al.*, 2018, p. 101). En tal sentido, el cribado virtual reduce significativamente el número de ensayos biológicos que se harían si no hubiera una selección de compuestos. Sin embargo, es un proceso predictivo que debe complementarse y apoyarse con ensayos experimentales que validen las predicciones de los ensayos *in silico* (Saldívar *et al.*, 2017, p.55).

Las funciones de puntuación basadas en el físico se centran en campos de fuerza, y la afinidad de enlace que se estima como la suma de las energías de electrostática y de interacciones van der Waals. Las funciones de puntuación basadas en empíricos se centran en propiedades fisicoquímicas, (como los enlaces de hidrógeno, el contacto hidrofóbico y los términos de cambio en el centro). Por último, las funciones de puntuación basadas en el conocimiento, las cuales se caracterizan por el análisis estadístico de estructuras complejas determinadas experimentalmente. La difusión de estas clases de funciones de puntuación se debe al gran aumento de estructuras complejas determinadas experimentalmente que han enriquecido la evaluación estadística (Tuccinardi, 2009, p. 304).

## **Biblioteca virtual de las moléculas sintetizadas**

Los químicos farmacólogos expertos sintetizan derivados de estos productos iniciales, realizando sustituciones de posiciones accesibles e iniciando de esta forma la definición de las relaciones entre la estructura química y la actividad biológica. Muchos parámetros podrían requerir optimización, lo que incluye la afinidad por el sitio de unión, actividad agonista o antagonista, permeabilidad a través de las membranas celulares, absorción y distribución en el cuerpo, metabolismo del fármaco y efectos indeseables. Este método dependía en el pasado en gran medida de procedimientos de ensayo y error, pero los métodos modernos para el desarrollo de fármacos con frecuencia toman ventaja del análisis de la estructura de alta resolución de un posible fármaco unido a su sitio de acción (Brunton *et al.*, 2012, párr. 9).

El método habitual para la invención de fármacos de moléculas pequeñas consiste en la revisión de un grupo de compuestos químicos, mediante la creación de una biblioteca virtual, para compuestos con las características deseadas. Una alternativa consiste en sintetizar y centrarse en compuestos químicos muy relacionados, de una sustancia que se sabe participa en reacciones biológicas de interés, el cual es una estrategia de particular importancia en el descubrimiento de fármacos antineoplásicos (Brunton *et al.*, 2012, párr.5).

La biblioteca virtual contiene cientos o miles, incluso millones de compuestos por su capacidad para interactuar con objetivos moleculares específicos o para desencadenar una respuesta biológica específica. Se sintetizan utilizando métodos modernos de síntesis de compuestos orgánicos usando química de combinación para crear grandes colecciones de compuestos químicos relacionados, que pueden analizarse para conocer su actividad con el uso de sistemas de alto rendimiento. Los métodos de síntesis de orientación diversa también son de utilidad, mientras los productos naturales son fuentes de estructuras químicas novedosas y en ocasiones extremadamente complejas (Brunton *et al.*, 2012, párr.6).

### CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

En el presente apartado se presentará la metodología utilizada para la elaboración de esta investigación a nivel *in silico*. Además, se presenta el enfoque y diseño de la investigación, los instrumentos requeridos para la recopilación y análisis de datos, las distintas variables por evaluar en la creación de la biblioteca y el acople molecular.

#### **Enfoque**

Este trabajo de investigación tiene un enfoque cuantitativo por tener un carácter secuencial y probatorio para el análisis y tratamiento de datos e información de las distintas propiedades fisicoquímicas del metabolito baicaleín y los derivados moleculares de este, para evaluar su unión con el receptor EP3A de prostaglandina acoplada a proteína G (Hernández, 2014, p. 4). Asimismo, busca estudiar los resultados del anclaje o acople molecular entre el receptor EP3A de prostaglandina y los derivados moleculares, con el fin de crear una alternativa terapéutica profiláctica para sustituir los inhibidores de bomba de protones al tomar un AINE.

#### **Método**

El cribado virtual puede mejorar significativamente el descubrimiento y desarrollo de fármacos, principalmente ahorrando costo y tiempo. Con esto se pretende realizar una optimización de la molécula líder más estable con propiedades deseables gastroprotectores, antiulcerosos y citoprotectores, desde la biblioteca virtual de los derivados de baicaleín (Brunton *et al.*, 2012, párr.6). Además, este trabajo se realizará desde la computadora con programas informáticos libres disponibles en la web, guiándose con información científica encontrada previamente

## Variables

En la siguiente tabla se muestran las variables o parámetros que se utilizarán durante el procesamiento de la molécula baicaleína y sus derivados para unirse al receptor EP3A de prostaglandina acoplado a la proteína G inhibidora.

**Tabla 4. Variables de la Investigación**

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Definición instrumental</b>
Coeficiente de partición (LogP)	Relación de concentraciones de un compuesto no ionizado en dos fases de disolventes inmiscibles (agua y n-octanol) en equilibrio. Medida logarítmica en base 10 del coeficiente (Chemaxon, 2018).	Lipinski (<5), Ghose (-0,4 a 5,6, preferiblemente entre 1,3 a 4,1), Muegge (-2 a 5) y Biodisponibilidad (<5).	Biblioteca virtual de compuestos
Área polar superficial (PSA)	Formado por los átomos polares de una molécula. Muestra una buena correlación con el transporte molecular pasivo a través de membranas, y permite la estimación de las propiedades de transporte de drogas. Se puede calcular tanto para la forma neutra de la molécula como para las microespecies principales a un pH dado. (Chemaxon, 2018).	Lipinski (<120 Å <sup>2</sup> ), Muegge (<120 Å <sup>2</sup> ), Veber (<140 Å <sup>2</sup> ) y Biodisponibilidad (<200 Å <sup>2</sup> )	Biblioteca virtual de compuestos

Masa molecular	Suma de las masas atómicas en una molécula (Chemaxon, 2018).	Lipinski (<500 g/mol), Ghose (160 a 480 g/mol), Muegge (200 a 500 Da) y Biodisponibilidad (<500 Da)	Biblioteca virtual de compuestos
Número de donadores de puentes de hidrógeno	Calcula la inclinación de los donares atómicos de hidrógeno. Los datos atómicos y la multiplicidad global donante de enlaces de hidrógeno se muestran para la molécula de entrada o sus microespecies a un pH dado (Chemaxon, 2018).	Lipinski (<5), Muegge (<5), Veber (<12) y Biodisponibilidad (<5)	Biblioteca virtual de compuestos
Número de aceptores de puentes de hidrógeno	Calcula la inclinación de los aceptores atómicos de hidrógeno. Los datos atómicos y la multiplicidad global aceptor de enlaces de hidrógeno se muestran para la molécula de entrada o sus microespecies a un pH dado (Chemaxon, 2018).	Lipinski (<10), Muegge (<10), Veber (<12) y Biodisponibilidad (<10)	Biblioteca virtual de compuestos
Refractividad molar	Está fuertemente relacionada con el volumen de las moléculas y las fuerzas de dispersión de London que tienen papel importante en la interacción del fármaco-receptor y los resultados del cálculo con el valor de	Ghose (40 a 130) y Muegge (40 a 130)	Biblioteca virtual de compuestos

	refractividad se pueden visualizar en 2D o 3D. (Chemaxon, 2018)		
Número de átomos	Un átomo se define como la unidad básica de un elemento que puede intervenir en la combinación química (Chang, 2013)	Ghose (20 a 70)	Biblioteca virtual de compuestos
Número de anillos	Un anillo es un compuesto cuyos átomos están conectados para formar un ciclo (Smith y March, 2007).	Muegge (<4) y Biodisponibilidad (<5)	Biblioteca virtual de compuestos
Número de enlaces rotables	Son enlaces simples unidos por dos carbonos y pueden rotar. (Gil, 2010)	Muegge (<8), Veber (<10) y Biodisponibilidad (<10)	Biblioteca virtual de compuestos
Solubilidad	Parámetro importante para alcanzar la concentración deseada del fármaco en la circulación sistémica de la respuesta farmacológica. (Alvarado, 2015, p. 207)	Solubilidad a pH 7,4. Categorías: Baja: <0.01 mg/mL Moderada: 0,01 a 0.06 mg/mL Alta: >0,06 mg/mL	Biblioteca virtual de compuestos
“Docking”	Determina la conformación y posición óptima que los ligandos ocupan en el receptor. (Saldívar <i>et al.</i> , 2017).	Unión del ligando con el receptor	Modelaje por acople molecular

“Scoring”	Consiste en asignar un valor o puntaje que mida la interacción entre el ligando y receptor. (Saldívar <i>et al.</i> , 2017).	Energía de Gibbs: Energía de unión del ligando con el receptor. (Meneses y Cuesta, 2015, p. 18)	Modelaje por acople molecular
-----------	--	---	-------------------------------

Fuente: Estas variables se han utilizado en investigaciones anteriores como de los autores Cruz (2015), Blanco (2017) y Zúñiga (2017) en su metodología de investigación.

### Instrumentos y técnicas

Para la búsqueda de un nuevo fármaco candidato, se utilizarán computadoras, programas informáticos disponibles en web para desarrollar la biblioteca y el cribado molecular. El uso correcto de los programas requiere conocimiento, aunque no extenso ni totalmente especializado. La información teórica científica y conceptual se obtiene por medio de artículos científicos, revistas científicas, libros, bases de datos y revisiones bibliográficas.

**Tabla 5. Base de Datos Utilizados para la Búsqueda de Estructuras Químicas**

Base de datos	URL	Descripción
Protein Data Bank	<a href="https://www.rcsb.org/">https://www.rcsb.org/</a>	Repositorio de estructuras cristalográficas de proteínas.
PubChem	<a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a>	Repositorio de moléculas pequeñas.
Drugbank	<a href="https://www.drugbank.ca/">https://www.drugbank.ca/</a>	Repositorio de fármacos.
BLASTp-NIH	<a href="https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins">https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins</a>	Alineamiento de secuencias de ADN, ARN o de proteínas.

Uniprot	<a href="https://www.uniprot.org/">https://www.uniprot.org/</a>	Repositorio central de datos sobre proteínas creado por la combinación de Swiss-Prot.
Swiss-model	<a href="https://swissmodel.expasy.org/">https://swissmodel.expasy.org/</a>	Modelado de homología de estructuras de proteínas cristalizadas.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

**Tabla 6. Programas Informáticos (Software) que Permite Realizar Análisis Quimioinformática**

Programa informático	URL	Capacidades
Chimera	<a href="https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/">https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/</a>	Visualizador, modelado o preparación de proteínas y moléculas.
Open Babel	<a href="http://openbabel.org/wiki/Main_Page">http://openbabel.org/wiki/Main_Page</a>	Conversión de formatos, cálculos de cargas, torsiones y fragmentos moleculares.
PyRx Virtual Screening Tool	<a href="https://pyrx.sourceforge.io/">https://pyrx.sourceforge.io/</a>	Acoplamiento molecular.
Chemicalize	<a href="https://chemicalize.com/">https://chemicalize.com/</a>	Dibujos o diseños de moléculas, cálculos químicos, búsqueda y procesamiento de texto. Propiedad de ChemAxon.
Marvin JS	<a href="https://chemicalize.com/#/drawing">https://chemicalize.com/#/drawing</a>	Dibujos o diseños de moléculas. Propiedad de ChemAxon
Excel	Microsoft Office 2016	Hoja de cálculo de software disponible en la mayoría de las computadoras. Traen

		consigo herramientas como fórmulas, gráficos y un lenguaje de programación.
--	--	---

Fuente: Elaboración propia, 2018.

### **Procedimiento de recolección y análisis de los datos**

Para obtener la biblioteca virtual por medio de un cribado molecular, se requiere una serie de procedimientos para obtener cien análogos del baicaleín y de ahí seleccionar a la mejor molécula candidata derivada de baicaleín.

#### **Paso 1. Diseño del ligando**

Se desarrolla la biblioteca virtual mediante el uso del programa Marvin JS para crear y dibujar los cien análogos (hits) del baicaleín, cada una de las moléculas será sometida a dos o más modificaciones estructurales para agregar nuevas características fisicoquímicas. A cada molécula se les asignará un número para identificarla.

En Marvin JS se pueden visualizar las estructuras de los análogos de baicaleín, las cuales serán guardadas en una hoja del cálculo del programa Excel (Tabla 6), según el número de análogo realizado. Cada vez que se diseña un análogo en Marvin JS, este le otorga a cada análogo una identificación llamada SMILES, este funciona para obtener información química de cada molécula, a la hora de calcular su estructura.

La primera ronda de diseño de análogos servirá de referencia para diseñar los análogos de la segunda ronda hasta obtener la molécula deseada.

#### **Paso 2. Análisis de las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los derivados**

Cada uno de los análogos se somete a los filtros o criterios de aceptación establecidos (Tabla 4). Estos rangos determinan una selección por descarte, ya que, con solo un parámetro que no cumplan, la molécula no tiene el valor farmacológico deseado, y, a partir de este análisis, se selecciona la molécula candidata que cumple mejor con las características deseadas para seguir

modificándole la estructura, hasta obtener la mejor candidata (lead) de entre los cien análogos, con la mejor energía de unión durante el “docking”.

### **Paso 3. Obtención del modelo tridimensional del receptor EP3A de prostaglandina acoplado a la proteína G inhibidora.**

Protein Data Bank (PDB) no cuenta con una estructura 3D del receptor EP3A obtenida mediante cristalografía de rayos X. Entonces, se procede a determinar un modelo de este receptor basado en homología.

En la base de datos UniprotKB (ID: P43115-1), se descarga el archivo en formato FASTA con la estructura primaria del receptor EP3.

La estructura primaria de EP3A se utiliza para un alineamiento de secuencias en BLASTp-NIH (Tabla 5), para así obtener resultados de proteínas con un alto porcentaje de homología con el receptor EP3A. Luego, se busca en Protein Data Bank estas proteínas homólogas al receptor de interés, encontrándose como resultado el receptor de prostaglandina D2 (PDB-ID 6D26) y el receptor  $\beta$ 2-adrenérgico (PDB-ID 2RH1). Para estos dos receptores también se obtuvo el archivo con la estructura primaria de cada una en formato FASTA.

El receptor homólogo con mayor identidad o similitud al receptor EP3A, con estructura 3D conocida, se utilizará para construir un modelo de EP3A basado en homología. En la plataforma Swiss-model (Tabla 5) se construyó el modelo receptor EP3A utilizando el receptor prostaglandina D2 como proteína homóloga.

## **4. Anclaje o acople molecular**

Como el extremo amino terminal está hacia el líquido extracelular (LEC), mientras que la cola de carboxilo terminal hacia el líquido intracelular (LIC) o hacia el citoplasma. Se estableció que el sitio de unión sería a lo largo de la cola amino terminal y sus tres bucles extracelulares, debido a que en la cola de carboxilo terminal interaccionará con la proteína G inhibidora para regular la actividad de moléculas efectoras.

Una vez identificado el sitio de unión, se prepara el receptor y los ligandos utilizando el software UCSF-Chimera, por lo que se eliminan todas las moléculas de agua, ligandos, iones y ácidos nucleicos que rodean la estructura con el fin de que no interrumpen las interacciones entre el ligando y la diana.

Una vez preparado se procede a utilizar el programa PyRx Virtual Screening Tool para realizar el acople molecular de todos los ligandos con el modelo del receptor EP3A, y así definir la energía de unión de la molécula y el receptor. Esto se lleva a cabo por medio de las interacciones de los aminoácidos del receptor y los átomos del ligando. El Gridbox definido en los acoples moleculares se efectúa con las siguientes especificaciones: Centro X: 0.5357, Y: 83.0971 y Z: 271.3577, Dimensiones X: 56.5685, Y: 55.5075 y Z: 38.0235. De esta forma se establece por medio de fuerzas termodinámicas la unión y la estabilidad de cada molécula, para encontrar la energía de unión. Con el programa Chimera se visualizan los anclajes moleculares y los enlaces formados entre ligando-receptor.

### **Paso 5. Proceso de optimización de la molécula hit**

Se inicia el proceso de optimización desde el inicio del diseño de ligandos, con la utilización de la base de datos Chemicalize (Tabla 6). Durante el cálculo de propiedades, se muestra exclusivamente el filtro Lipinski (un poco más estricto que los otros filtros propuestos), por lo que, si cumple con los parámetros definidos, estos pueden formar parte de la biblioteca virtual cumpliendo con todos los parámetros, con el fin de asegurarse de que todos los ligandos sean capaces de ser elegidos para interactuar con la diana. Tomando en cuenta los mismos parámetros, se comparan los resultados para determinar si alcanza una mejor energía de unión.

## CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

### Modelado por homología

La mayoría de los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) toman una conformación común que abarca la membrana múltiple en los siete dominios transmembranales (Kikkou *et al.*, 2006, p. 933). El mecanismo de unión de PGE2 en el receptor prostanoide EP3A es poco conocido debido a la falta de estructuras de rayos X para este tipo de receptor, es por eso que se prosiguió a construir un modelo EP3A a través del modelado por homología, al igual como lo hicieron Akasaka y colaboradores (2016), ya que el conocer la estructura tridimensional de la proteína objetivo es esencial para llevar a cabo los estudios experimentales y computacionales (p. 9).

De acuerdo con la evidencia científica, el receptor de prostaglandina D2 presenta una estructura muy similar a la prostaglandina E2 y presenta una buena unión a los receptores acoplados a la proteína G. Utilizando la estructura cristalizada del receptor de prostaglandina D2 diseñada por Wang y asociados (2018, p.5), se construyó el modelo EP3A a través del modelado por homología. Por medio del BLASTp-NIH se mostró que el que tenía mejor homología por similitud era el receptor de prostaglandina D2 en comparación con el receptor  $\beta$ 2-adrenérgico (tabla 7).

**Tabla 7. Porcentajes de Similitud de los Receptores en Comparación con el Receptor EP3A**

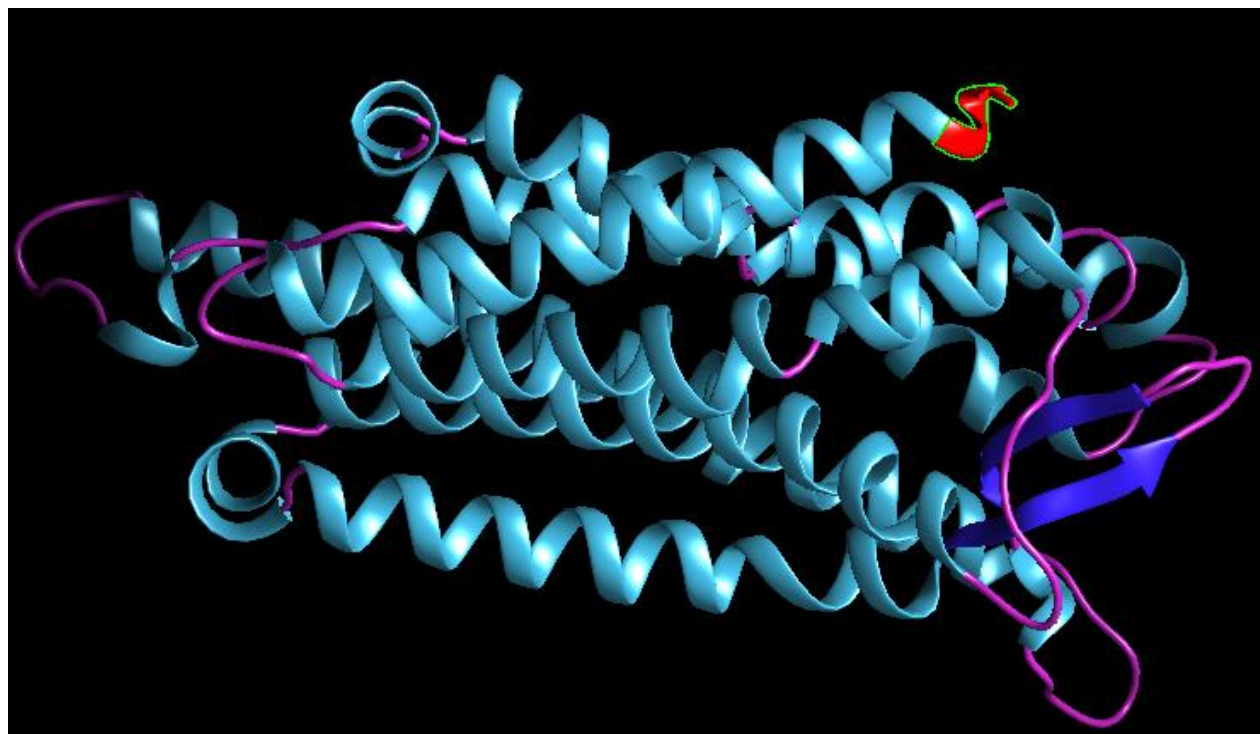
Receptor	Porcentaje de similitud vs EP3A
Receptor $\beta$ 2-adrenérgico	33%
Receptor de prostaglandina D2	37%

Fuente: BLASTp-NIH, 2018.

Sobre la base de las consideraciones anteriores, se prosiguió con la construcción del modelo o estructura de la proteína virtual, basándose en las secuencias del receptor de prostaglandina D2 (ya cristalizada) y del receptor EP3A en Swiss-model con el fin de predecir una estructura terciaria

de la proteína de interés (Figura 25) (Ballesteros y Parra, 2018, p. 63). Es cierto que la utilidad real de un modelo por homología puede ser limitada, pero es una herramienta útil para apoyar el diseño de ligandos a dianas, cuyas estructuras tridimensionales no son bien conocidas, y los resultados pueden ser consideraciones muy importantes para tomarlas en cuenta (Duan *et al.*, 2015, p.7).

**Figura 17. Modelado por Homología del Receptor EP3A Proyectada en Chimera**



Fuente: Swiss-model, 2018

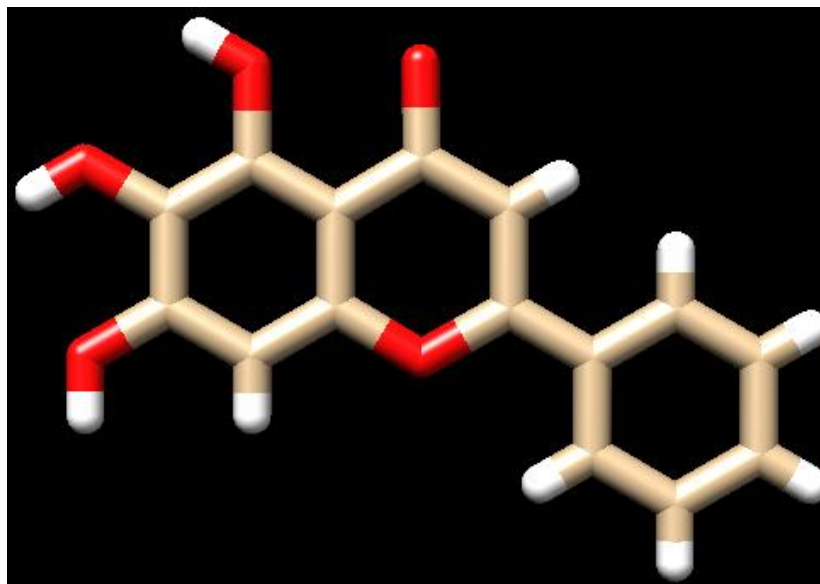
### **Diseño de la biblioteca virtual de compuestos**

La invención de fármacos a partir de moléculas pequeñas, consiste en la revisión de un grupo de compuestos químicos con características deseadas presentes en una biblioteca virtual y en a bases de datos. Debido a la evidencia científica del baicaleín (Figura 26) como derivado de un producto natural, que presenta gran potencial para ser utilizado como fármaco con propiedades

gastroprotectora, antiulcerosa y citoprotector, se decidió realizar una biblioteca de compuestos orgánicos donde se toma la estructura original del baicaleín como base para elaborar un total de 100 diseños moleculares o análogos, esto se logró mediante sustituciones de posiciones accesibles e iniciando de esta forma la definición de las relaciones entre la estructura química y la actividad biológica (Brunton *et al.*, 2012, párr. 5).

Es evidente que el número involucrado en la biblioteca virtual de compuestos desarrollado, es limitado, pero es adecuado en el sentido de que proveen variedad de información estructural permitiendo realizar una selección de acuerdo con los diferentes criterios, basados en sus propiedades fisicoquímicas, topológicas y estructurales, así como modelos y energías de unión entre el ligando y la diana (Cruz, 2015, p. 79). Además, las bibliotecas virtuales tienen como objetivo establecer o predecir una molécula prototipo con las características farmacológicas esperadas. Para esto se requiere que cada una de las moléculas hits muestren propiedades fisicoquímicas necesarias para ser consideradas como óptimas en el desarrollo del medicamento y deben ser también fáciles de analizar para realizar más mejoras y descartes (Tuccinardi, 2009, p. 304).

**Figura 26. Estructura Tridimensional del Baicaleín Proyectada en Chimera**



Fuente: PubChem, 2018.

Baicaleín tiene tres grupos hidroxilo en el anillo principal y su C-6 y C-8 son los sitios activos de las reacciones de sustitución nucleofílica. Los aminoácidos son compuestos nitrogenados solubles en agua, y se usaron como los sustituyentes para la modificación de la estructura, como lo hicieron en el estudio de Li y sus colaboradores (2013, p. 287). Por otro lado, Kuzmanović y sus colaboradores (2015), proponen un mecanismo de oxidación del baicaleín e indican que probablemente el primer paso es la oxidación de dos grupos hidroxilo, y el segundo paso es la oxidación del tercer grupo hidroxilo (p. 36).

Aunque es difícil discutir la relación de actividad-estructura responsables, de las propiedades propuestas del baicaleín, en un informe científico realizado por Babu y colaboradores (2010), explica por primera vez las propiedades gastroprotectoras del baicaleín e indican que la presencia del anillo de fenilo libre parece impartir actividad gastroprotectora y que, la presencia del grupo hidroxilo en la séptima posición, no se puede descartar debido a que, durante las pruebas, se demostró que la actividad gastroprotectora disminuía drásticamente (p. 117), es por eso que se conservaron esas características en los análogos diseñados.

Cabe aclarar que, cada uno de los análogos o ligando debe tener una estructura flexible que permita cualquier alteración en la proteína por efecto de la unión y que no altere las predicciones realizadas sobre la actividad (Albadejo, s.f, p. 11). Si el diseño de ligando basado en la estructura de la proteína es rígido puede no servir, debido a que conformacionalmente no se producen los cambios que la proteína realiza para ejercer su actividad enzimática. También hay que tener en cuenta, si la molécula que se obtuvo es sintetizable, puesto que solo se considera el centro activo a la hora de diseñar un ligando.

### **Propiedades fisicoquímicas de las moléculas incluidas en la biblioteca virtual y su cumplimiento con los parámetros definidos**

Como propiedades fisicoquímicas, se mencionan la masa molecular, el número de átomos pesados, el número de enlaces rotativos, el número de anillos aromáticos, el número de centros quirales, la lipofilicidad (LogP), área de superficie polar (APS) y área de superficie polar topológica (ASPT), y el número de donantes de enlaces de hidrógeno y aceptores de enlaces de hidrógeno

como los principales parámetros de análisis durante el proceso de candidato clínico (Tabla 4) (Mignani *et al.*, 2018, p. 609). Estas propiedades fisicoquímicas pueden justificar la conversión de compuestos biológicamente activos en fármacos terapéuticamente activos, pues un compuesto biológicamente activo, tiene propiedades farmacológicas si tiene propiedades aceptables de absorción, distribución, metabolismo y excreción (Beaumont *et al.*, 2014, p. 1192). Estas son propiedades que puedan calcularse de forma confiable, rápida y sin costo mediante programas de las computadoras.

Cabe resaltar, que todas las propiedades mencionadas, tienden a aumentar con el peso molecular, el cual está ligado con los números de átomos compuestos (Ghose *et al.*, 1999, p. 56; Oprea *et al.*, 2001, p. 1314). No obstante, se debe considerar que, a menor masa molecular puede presentar una mayor biodisponibilidad oral, brevemente, se puede usar el parámetro del peso molecular para predecir la biodisponibilidad oral (Veber *et al.*, 2002, p. 2615). Con respecto a los átomos pesados, en el estudio de Cruz (2015), resalta que, a mayor cantidad de átomos pesados, mayor posibilidad de interacción con la diana y podría presentar también alta afinidad con poca cantidad de átomos, representando una fuerza de interacción mayor entre esos átomos (p. 96). Aún cuando los resultados muestran valores crecientes de la masa molecular; de los análogos diseñados, conforme se les iban agregando más átomos de interés, estos seguían dentro de los parámetros mencionados (Tabla 4), y presentan un valor aceptable y favorable para la biodisponibilidad oral (Tabla 8 y 9).

**Tabla 8. Primera Ronda: Diseño de Análogos del 1 al 77**

Parámetro fisicoquímico	Promedio	Desviación estándar
Masa molecular (g/mol)	297.6482	29
LogP	3.2997	0.83514
Área polar superficial topológica (Å)	82.2343	15.4899
Refractividad molar (RM)	79.6927	4.6566
Aceptores de hidrógeno (ADH)	4.5454	0.9396
Donadores de hidrógeno (DDH)	2.8701	0.6757

Total de átomos	34.22	3.83914
Cantidad de anillos	3	0
Enlaces rotables	1.3247	0.5242

Fuente: Elaboración propia, 2018.

**Tabla 9. Segunda Ronda: Diseño de Análogos del 78 al 100**

Parámetro fisicoquímico	Promedio	Desviación estándar
Masa molecular (g/mol)	313.212	9.6093
LogP	3.8996	0.5580
Área polar superficial topológica (Å)	82.5336	15.2661
Refractividad molar (RM)	91.76	2.24
Aceptores de hidrógeno (ADH)	3.3913	0.8913
Donadores de hidrógeno (DDH)	2.2609	0.6192
Total de átomos	39.3181	1.1705
Cantidad de anillos	2.9565	0.2085
Enlaces rotables	2.91304	0.2881

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Los resultados asociados al LogP y refractividad molar (RM), mostró que, conforme se iban modificando los análogos diseñados, sus valores iban aumentando. Sin embargo, siguen mostrando una buena interacción hidrofóbica y una buena dispersión entre el ligando y la diana. La lipofilicidad molecular (LogP) y la refractividad molar de las moléculas, representan las interacciones hidrófobas y dispersivas (van der Waals), respectivamente. Estas son características importantes que influyen fuertemente en la unión del receptor-ligando, en la captación celular y en la biodisponibilidad (Ghose *et al.*, 1999, p. 57).

Ahora bien, según los valores representados del área de superficie polar topológica (Tabla 8 y 9), muestran un promedio casi que constante, pero la mayoría aumentaba un poco por la presencia del oxígeno y nitrógeno permitiendo el enlace de hidrógenos con la diana. Un área de superficie polar topológica (ASPT) reducida se correlaciona mejor con el aumento de la tasa de permeación que la lipofilicidad y el aumento del recuento de enlaces giratorios (Veber *et al.*, 2002, p. 2620), en otras palabras, todas las moléculas hits de la biblioteca pueden adaptarse a diferentes estructuras y, aun así, presentan buena capacidad de permeabilidad en las membranas celulares para interactuar con su objetivo intracelular. En análisis recientes, se demuestra que los valores comparables de lipofilicidad entre medicamentos, antiguos y nuevos, presentan fundamentos en los medicamentos exitosos, pues un aumento de lipofilicidad de los compuestos que ingresaron en el desarrollo clínico en los últimos años, dieron la correlación más fuerte con la incidencia de efectos adversos *in vivo* (Edwards y Price, 2010, p. 382).

Por otro lado, los donadores y aceptores de puentes de hidrógeno se correlacionan con el ASPT, en cuanto al análisis de la biodisponibilidad oral (Veber *et al.*, 2002, p. 2619). Un exceso de donadores y aceptores de hidrógeno pueden afectar la permeabilidad de la molécula a través de las membranas biológicas, por eso se estableció que, a menor cantidad de donadores y aceptores, mayor permeabilidad (Lipinski *et al.*, 2001, p. 8). Sin embargo, la presencia de donadores y aceptores de puentes de hidrógeno puede favorecer la interacción con la diana, lo cual también va a depender del sitio de unión y del equilibrio farmacocinético y farmacodinámico (Cruz, 2015, p. 90). Los resultados muestran que los donadores y aceptores de hidrógeno de todos los análogos diseñados cumplen con los parámetros propuestos (Tabla 4), por lo que otorgan a las moléculas hits buena permeabilidad (Tabla 8 y 9).

De igual manera, los enlaces rotatorios pueden tener un efecto negativo en la tasa de permeación y contribuye en la examinación de la rigidez molecular a la biodisponibilidad oral (Veber *et al.*, 2002, p. 2615). Los enlaces rotables pueden otorgar a la molécula flexibilidad de torsión y diferentes conformaciones, mientras que los anillos aportan rigidez estructural (Oprea *et al.*, 2001, p. 1312). Según los valores mostrados (Tabla 8 y 9), todos los análogos diseñados presentan cantidades de enlaces entre 1 y 3, mientras que la cantidad de anillos entre 1 y 2, tal resultado deduce que las moléculas poseen grados de libertad convenientes tanto para la unión con la diana, así como en la permeabilidad y esto probablemente sucede debido a que las estructuras poseen anillos que les confieren rigidez. Sin embargo, cuando un ligando se une a la diana, pierde

esa libertad de mover por la afinidad y estabilidad que adquiere y la energía de unión disminuye (Gil, 2010, p. 39). Según los datos presentados en la biblioteca virtual de compuestos, el análogo 100 es el que tiene una menor energía de unión (-14.2), por lo que se supone, que tendría la mejor interacción con la diana EP3A.

La baja solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos es la limitación principal para lograr una buena biodisponibilidad oral, debido a que se necesita que estén disueltos en los fluidos gastrointestinales para poder ser absorbidos y generar su efecto terapéutico (Morales *et al.*, 2018, p. 27). Alvarado (2015), resalta que más del 92% de los fármacos inscritos en la Farmacopea de los Estados Unidos, presentan mala solubilidad y se reconoce que, en la industria farmacéutica, más del 40% de las drogas recién descubiertas muestran el mismo resultado, por lo que es necesario aumentar la solubilidad y velocidad de disolución del fármaco mientras mantiene una estructura química estable (p. 207). Si una molécula es suficientemente lipofílica atraviesa membranas biológicas, debe ser lo suficientemente soluble en medios acuosos para disolverse y permitir su absorción. Por lo tanto, aunque el análogo número 100 tiene la mejor energía de unión, este presenta una solubilidad anulada, por lo tanto, no es el mejor candidato a escoger.

Hecha la observación anterior y después de todo lo que se ha venido mencionando, la molécula hit que se considera como el mejor candidato es el análogo número 60, debido a que presenta una solubilidad alta, según las categorías propuestas por ChemAxon Documentation (2018), por ende, presenta una buena solubilidad y absorción. Su energía de unión no es la mejor energía de interacción porque hay mejores, pero es el que presenta las propiedades fisicoquímicas más favorables y convenientes. Cumplen con todos los filtros propuestos, presentan buena permeabilidad, buena interacción hidrofóbica y de dispersión con la diana, y una buena biodisponibilidad oral. (Tabla 10) Estas propiedades fisicoquímicas pueden justificar la conversión de compuestos biológicamente activos en un fármaco terapéuticamente activo, pero por supuesto, necesita sustentarse con pruebas experimentales *in vitro* e *in vivo*.

**Tabla 10. Propiedades Fisicoquímicas de la Molécula Prototipo (Análogo número 60)**

Parámetro fisicoquímico	Valores
Masa molecular (g/mol)	310.305 g/mol

LogP	3.4
Área polar superficial topológica	97.99 Å <sup>2</sup>
Refractividad molar (RM)	86.56 cm <sup>3</sup> /mol
Aceptores de hidrógeno (ADH)	5
Donadores de hidrógeno (DDH)	4
Total de átomos	37
Cantidad de anillos	3
Enlaces rotables	2
Solubilidad	154.69
Energía de unión	-13.1

Fuente: Elaboración propia, 2018.

### Sitio de unión de los ligandos en el receptor de prostaglandina EP3A

Como se puede observar en la biblioteca virtual de compuestos (Apéndice B), los filtros aplicados ayudan y permiten hacer un barrido casi instantáneo de enormes cantidades de análogos diferentes que comparten características estructurales y fisicoquímicas comunes. Al mismo tiempo, los parámetros establecidos sirven perfectamente para la optimización y selección de resultados y candidatos clínicos (Tabla 4) (Mignani *et al.*, 2018, p. 607).

Para realizar una búsqueda completa del espacio conformacional, orientativo y posicional del ligando acoplado para obtener una puntuación o “scoring” más rápido y preciso. La búsqueda comienza con la selección del sitio de unión de la proteína en una cuadrícula de 2Å igualmente espaciada, desde el punto del sitio hasta la superficie del receptor, evaluadas en una serie de direcciones definidas y agrupadas en intervalos de 1 Å. El ligando se puede colocar dentro del cuadro (Gridbox) que contiene los puntos del sitio (Figura 27). Si hay demasiados choques estéricos con el receptor, la orientación se omite, pero si la puntuación es buena, todas las

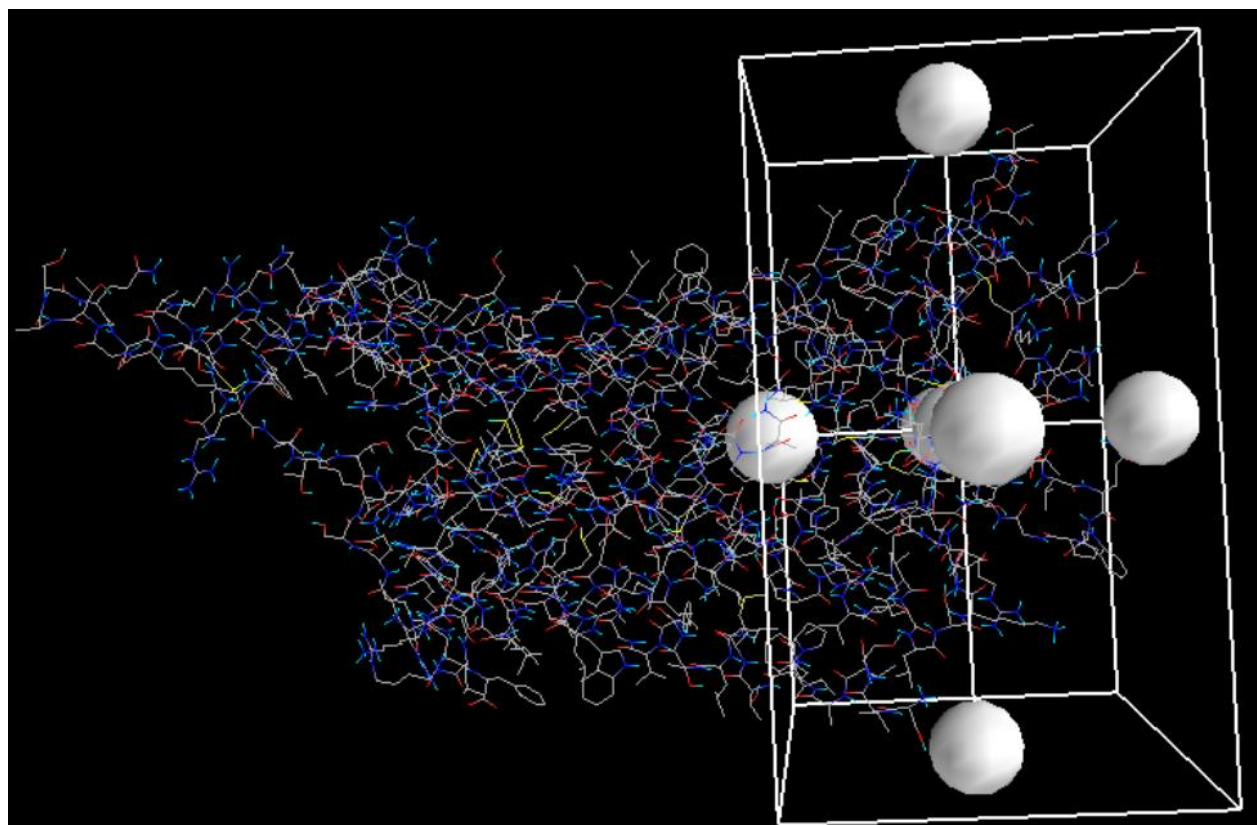
interacciones con el receptor se califican. Además, su puntuación real también depende del refinamiento, durante el cual permite que el ligando se mueva en las direcciones X, Y y Z y se recupere (Tabla 11) (Friesner *et al.*, 2004, p. 1746).

**Tabla 11. Ejes de Referencias Utilizados para Alinear la Cuadrícula en el Receptor EP3A**

Centros	Dimensiones
X: 0.5357	X:56.5685
Y:83.0971	Y:55.5075
Z:271.3577	Z:38.0235

Fuente: Elaboración propia, 2018.

**Figura 27. Gridbox de la Diana EP3A según los Ejes Establecidos**



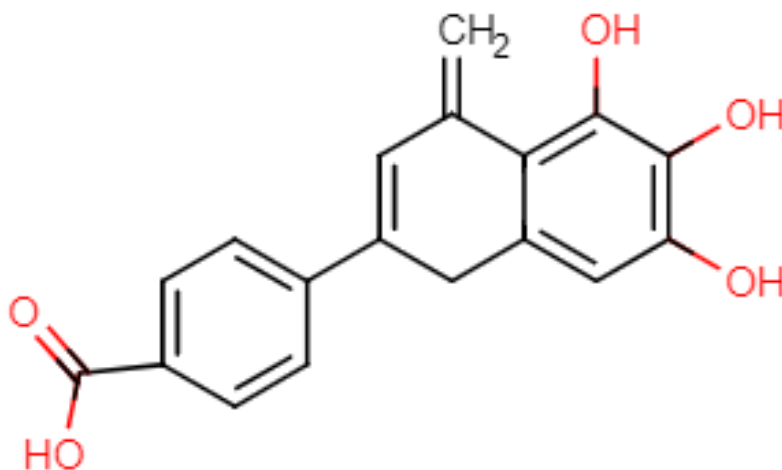
Fuente: Pyrx, 2018

En LigandFit, se utilizó un método de Monte Carlo para desarrollar la búsqueda conformacional del ligando combinada con un filtro de comparación de formas. El acoplamiento inicial del ligando se obtiene mediante la alineación de los ejes principales del ligando a los ejes principales del sitio, como se había mencionado anteriormente, y cada punto de la cuadrícula se clasifica como un punto ocupado o punto libre (Figura 27). Se evalúa la conformación del mejor acoplamiento mediante una función de energía que incluye la energía interna del ligando y la energía de interacción con el receptor, en otras palabras, al usar la aproximación de una proteína rígida, el cálculo de las energías de interacción proteína-ligando se puede acelerar mediante el uso de cálculos de energía basados en la cuadrícula (Venkatachalam *et al.*, 2003, p. 295). Los errores que surgieron de la interpolación de cuadrícula se redujeron drásticamente utilizando este nuevo esquema de interpolación no lineal presente en el PyRx. Para cada postura, se calcularon la energía de tensión interna aproximada del ligando y la energía de interacción del ligando con la proteína.

### **“Docking” de la molécula prototipo y baicaleína con el receptor EP3A de prostaglandina**

Por medio del software PyRx y Chimera, se lograron calcular y visualizar mejor las diferentes conformaciones o lugar de interacción que tiene el ligando en la macromolécula. Como el ligando puede interactuar en varios sitios de la diana, se escogió al que tiene menor valor, ya que representa la mejor energía de interacción de ese ligando con la diana. Como se había mencionado, el candidato seleccionado como prototipo es el análogo número 60 (Figura 28). Este presenta dos anillos aromáticos, tres grupos hidroxilos y un grupo de ácido carboxílico, en donde posiblemente habrá interacciones de enlace de hidrógeno o de Van der Waals.

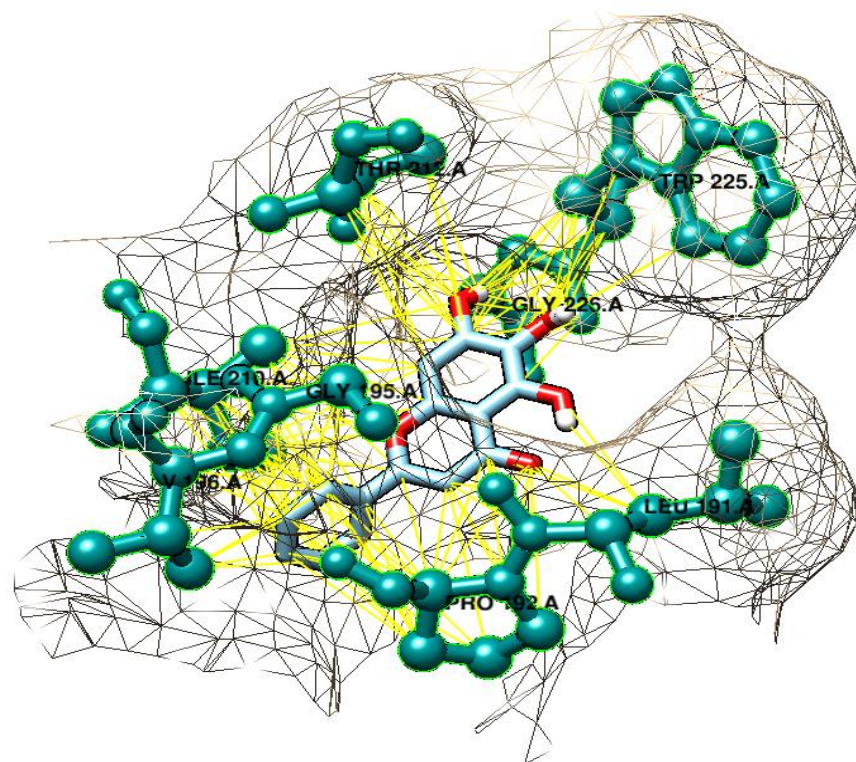
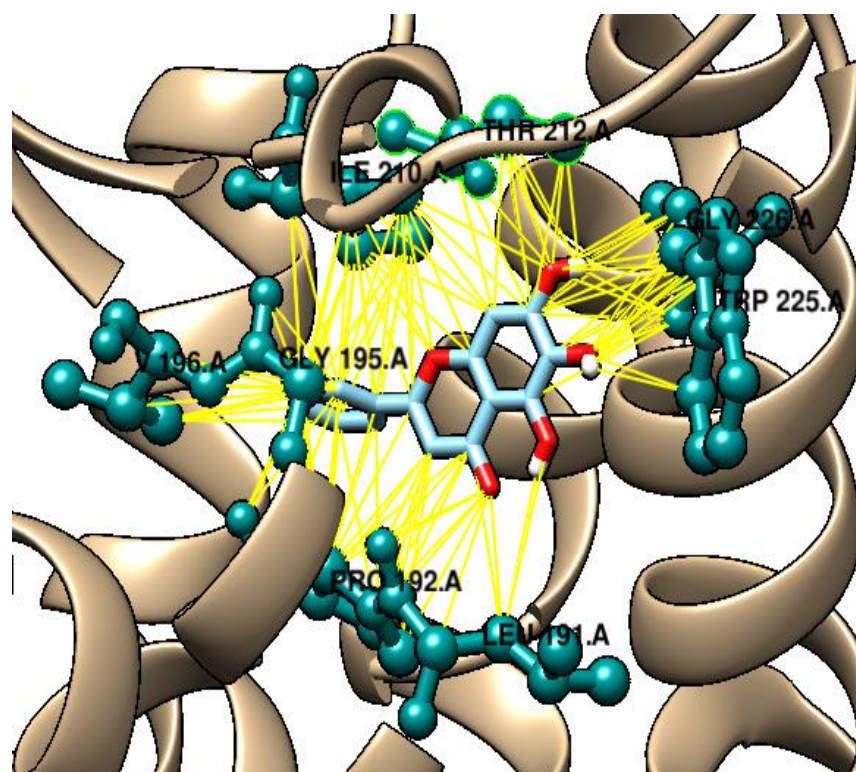
**Figura 28. Estructura de la Molécula Prototipo (Análogo 60)**



Fuente: Marvin JS, 2018.

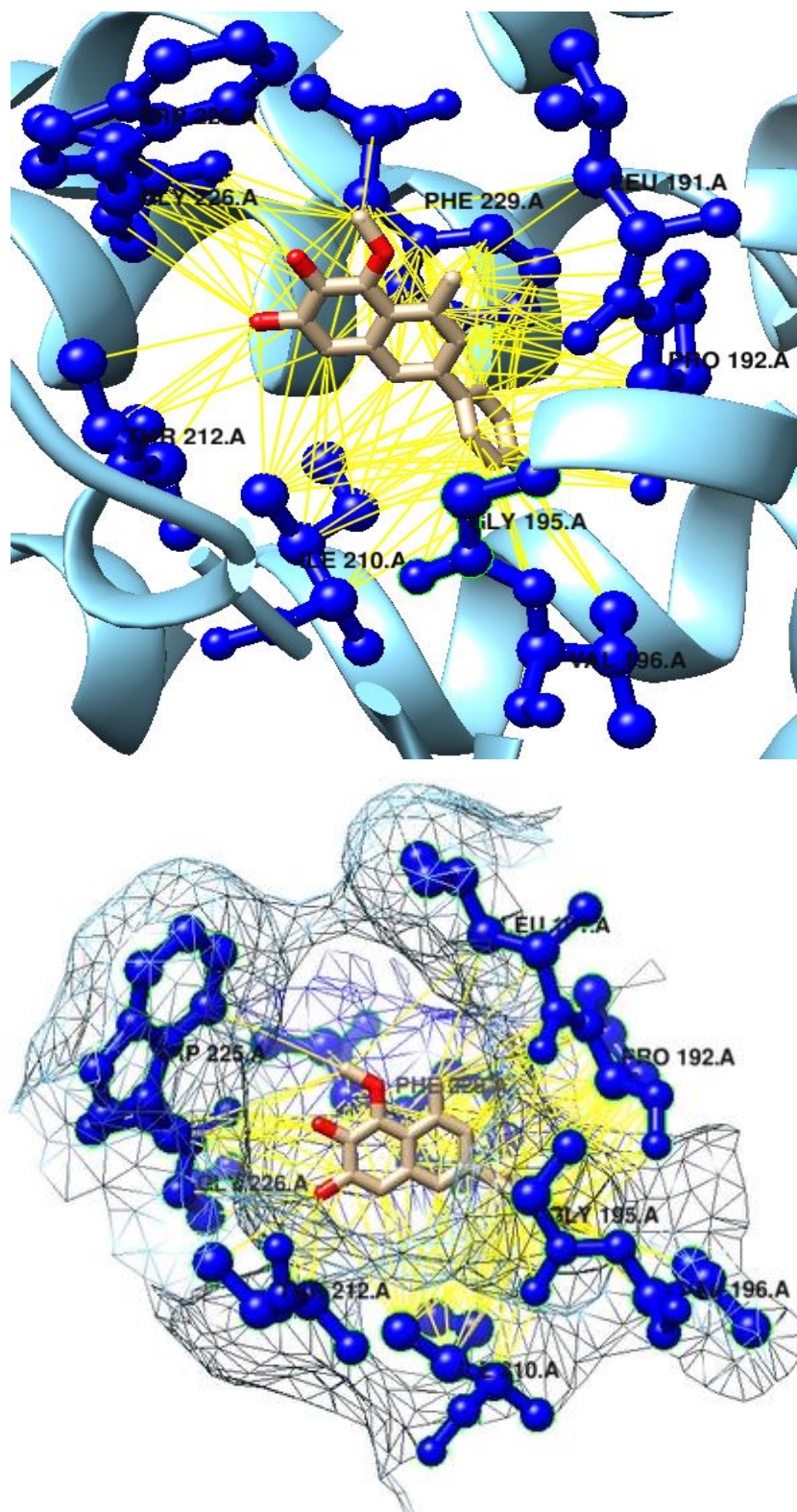
La molécula prototipo presenta -13,1 como energía de interacción con la macromolécula, mientras que baicaleína presenta -10,2. Notablemente, mediante la optimización, la molécula prototipo tiene una mejor interacción. Estos resultados reflejan la posibilidad de seleccionar al diseño para convertirse en un posible candidato de fármaco y sugerir futuras pruebas *in vitro* e *in vivo* para evaluar la activación del receptor EP3A de prostaglandina acoplada a la proteína G inhibidora. Así bien, en la bolsa de malla (Figuras 29 y 30) se pueden apreciar las dimensiones y los residuos específicos involucrados en la interacción.

Figura 29. Interacción del Baicaleín con el Receptor EP3A de Prostaglandina



Fuente: Chimera, 2018.

Figura 30. Interacción de la Molécula Prototipo con el Receptor EP3A de Prostaglandina



Fuente: Chimera, 2018.

Efectivamente, los ligandos diseñados mantienen alguna estructura básica esencial para la interacción con los residuos, como los hidroxilos, el anillo aromático y el grupo fenil, presentando protagonismo en las interacciones. Baicaleín y la molécula prototipo presentan 8 interacciones con los mismos residuos (Tabla 12) (Figura 29 y 30). En el estudio del “docking” de los dos ligandos, muestran que la mayoría de las interacciones son de tipo hidrofóbicas (Tabla 12)

**Tabla 12. Residuos Involucrados en la Interacción con Baicaleín y la Molécula Prototipo**

Ligando	Interacción con los residuos
Baicalein	Leucina (Leu) 191, Prolina (Pro) 192, Glicina (Gly) 195, Valina (Val) 196, Isoleucina (Ile) 210, Treonina (Thr) 212, Triptófano (Trp) 225 y Glicina (Gly) 226,
Molécula prototipo	Leucina (Leu) 191, Prolina (Pro) 192, Glicina (Gly) 195, Valina (Val) 196, Isoleucina (Ile) 210, Treonina (Thr) 212, Triptófano (Trp) 225 y Glicina (Gly) 226.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Aunque los enlaces de Van del Waals son relativamente débiles y fáciles de romper, cuando muchos de ellos actúan en conjunto, sus fuerzas de atracción son aditivas produciendo una estructura más estable. Así mismo, los ligandos que forman enlaces de hidrógeno con la diana, aseguran su estabilidad y unión con el receptor EP3A de prostaglandina. (Karp, 2014, p. 34 y 41)

Los enlaces de hidrógeno se formaron por la unión del átomo hidrógeno, con carga parcial positiva, en forma no covalente al átomo electronegativo como el oxígeno o el nitrógeno (Karp, 2014, p. 29). El átomo que está enlazado al hidrógeno, se conoce como donador de hidrógeno (O-H, N-H y C-H), que requiere cierto grado de polaridad. El oxígeno y nitrógeno son aceptores de hidrógeno (Acero, 2018, p. 51), debido a que son átomos muy electronegativos, aunque se debe destacar que no es imprescindible, ya que basta con que disponga de densidad de carga negativa para dar lugar a la interacción (Ibáñez, 2017, p. 9).

Las características polares y no polares de las cadenas laterales de los residuos son muy importantes para la estructura y la función de la diana. La molécula prototipo formó un enlace de hidrógeno con la treonina, un residuo polar. Este residuo es polar sin carga, debido a que su cadena lateral tiene un grupo hidroxilo (polar), por lo tanto, pueden formar enlaces de hidrógeno (Karp, 2014, p. 31 y 128).

Por otro lado, la valina, la isoleucina, la leucina y el triptófano, son residuos no polares, debido a que sus cadenas laterales son hidrofóbicas. Sin embargo, puede formar interacciones hidrofóbicas por sus atracciones electrostáticas reduciendo su exposición al ambiente polar (Karp, 2014, p. 34 y 129). Los dos residuos de glicina de los ligandos son más flexibles que los otros aminoácidos, por su grupo lateral hidrógeno; por esta razón formaron más interacciones y otorgaron mayor estabilidad al complejo ligando-receptor. La prolina, con su cadena lateral alifática, es un residuo hidrofóbico que también generó interacciones hidrofóbicas (Figura 29 y 30) (Karp, 2014, p. 130)

También se pudo observar que existen interacciones hidrofóbicas de los anillos aromáticos con residuos apolares de la diana mediante interacciones  $\pi$ - $\pi$  (stacking) entre las nubes electrónicas de los orbitales  $\pi$  en anillos aromáticos (Figura 29 y 30) (Martín, 2016, p. 215). A pesar de ser considerada una interacción de tipo dispersiva en gran parte está determinada por fuerzas electrostáticas y puede describirse como una transferencia de carga. Además, la estabilidad de la interacción se puede ver afectada por la presencia de heteroátomos y sustituyentes en los anillos aromáticos (Ibáñez, 2017, p. 10).

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

Se logró diseñar una molécula lead, derivada del flavonoide baicaleín, como un agonista del receptor EP3A de prostaglandina acoplada a la proteína G, ya que presentaba una buena energía de acople molecular y propiedades fisicoquímicas favorables y convenientes, por lo que es un buen candidato de selección para crear un futuro fármaco con propiedades gastroprotectora, antiulcerosa y citoprotectora. Este podría ser un buen sustituto de los inhibidores de bomba de protones y un buen tratamiento profiláctico cuando se toma un AINE.

Se logró desarrollar una biblioteca virtual de 100 análogos, optimizados, derivados del baicaleín efectivamente y se estimaron sus valores fisicoquímicos. Todas ellas cabían dentro de los rangos propuestos en los parámetros utilizados, por lo que todos podían ser elegidos y se logró seleccionar al mejor prototipo según las propiedades fisicoquímicas.

Se logró diseñar una molécula con una energía de interacción de -14,2; sin embargo, este presentaba una solubilidad baja en agua. Por otro lado, la molécula prototipo que se eligió tenía una energía de interacción de -13.1, no era una energía tan alta como se esperaba, pero en comparación con la energía del baicaleín (-10.2) fue considerable y tendrá una buena absorción debido a su alta solubilidad.

## Recomendaciones

Se sugiere la necesidad de desarrollar estudios de síntesis orgánica de la molécula optimizada a partir del baicaleína, análogo 60, con el objetivo de establecer una ruta química funcional que abarque la menor cantidad de pasos sintéticos para alcanzar un mejor rendimiento químico.

Se aconseja también, realizar experimentos *in vitro*, en donde se pone a prueba la biodisponibilidad de la molécula prototipo con el fin de respaldar y sostener todos los estudios que se han hecho con baicaleína como un buen candidato clínico.

Asimismo, por la cantidad de evidencia científica respaldada y las variedades de propiedades que ofrece baicaleína, se sugieren más investigaciones y estudios sobre ella, ya que es una molécula muy valiosa para crear futuros fármacos y así ampliar el conocimiento de los profesionales involucrados.

Se requiere de un estudio más profundo de la estructura tridimensional del receptor EP3A, principalmente cristalográficos, con el fin de llevar a mejores estudios de sus ligandos.

## Referencias

- Acero, J. (2018). Análisis y simulación de nuevos nanomateriales para la liberación de fármacos. (Tesis). Universitat Politècnica de Catalunya. Recuperado de [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/120682/joel\\_acero\\_TFG\\_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/120682/joel_acero_TFG_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Adom, M., Taher, M., Mutalabisin, M., Amri, M., Kudos, M., Sulaiman, M., Sengupta, P. y Susanti, D. (2017). Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 96, 348–360. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.152>
- Aihara, E., Nomura, Y., Sasaki, Y., Ise, F., Kita, K. y Takeuchi, K. (2007). Involvement of prostaglandin E receptor EP3 subtype in duodenal bicarbonate secretion in rats. *Life Sciences*, vol. 80, 2446–2453. Doi: [10.1016/j.lfs.2007.04.012](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.04.012)
- Akasaka, H., Thaliachery, N., Zheng, X., Blumenthal, M., Nikhar, N., Murdoch, E., Ling, Q. y Ruan, K. (2016). The key residue within the second extracellular loop of human EP3 involved in selectively turning down PGE2-and retaining PGE1-mediated signaling in live cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1-29. Doi: [10.1016/j.abb.2016.12.001](https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.12.001).
- Albadejo, G. (s.f). Diseño de fármacos basados en la estructura. (Tesis). Universidad Complutense. Madrid, España.
- Alvarado, K. (2015). Uso de cocristales para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos. *Revista Pensamiento Actual*, vol. 15 (25), 207-215. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5821471>
- Andrade, J. Y Mora, C. (2014). Capítulo 11: Farmacodinamia. *Farmacología general. Una guía de estudio*. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?Sectionid=96951024&bookid=1489&jumpsectionid=96951072&Resultclick=2#1115737550>
- Babu, T., Manjulatha, K., Kumar, G., Hymavathi, A., Tiwari, A., Purohit, M., Rao, J. y Babu, K. (2010). Gastroprotective flavonoid constituents from *Oroxylum indicum* Vent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. Vol. 20, 117–120. DOI: [10.1016/j.bmcl.2009.11.024](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.11.024)
- Baidya, M., Kumari, P. y Shukla, A. (2018). Entering the Pocket: Crystal Structure of a Prostaglandin D2 Receptor. *Molecular Cell*, vol. 72, 3-6. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.09.024>.
- Ballesteros, C. y Parra, D. (2018). Modelamiento *in silico* de la proteína heparan-alfa-glucosamina n-acetiltransferasa y análisis funcional de isoformas mediante docking molecular. (Tesis). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Bogotá, Colombia.
- Barrett, K., Barman, S., Boitano, S. y Brooks, H. (2016). CAPÍTULO 2: Revisión de la fisiología celular en fisiología médica. *Ganong. Fisiología médica*. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=125143157&bookid=1800&jumpsectionID=125143328&Resultclick=2#1127838024>

- Beaumont, C., Young, G., Cavalier, T. y Young, M. (2014). Human absorption, distribution, metabolism and excretion properties of drug molecules: a plethora of approaches. *Br J Clin Pharmacol*, vol. 78(6), 1185-200. Doi: 10.1111/bcp.12468.
- Berit, A. (2000) The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 71, 1-21. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874100002129?via%3Dihub>
- Blanco, A. (2017). Docking para el diseño de ésteres derivados de benzotiazol como posibles antifúngicos inhibidores de la N-miristoiltransferasa para el uso en procedimientos de limpieza contra el hongo *Aspergillus fumigatis*. (Tesis). Universidad Internacional de las Américas. San José, Costa Rica.
- Blanco, B., Saborío, A. y Garro, G. (2008) Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor). *Tecnología en Marcha*, Vol. 21 (2), 17-24. Recuperado de [http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/107](http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/107)
- Blumenthal, D. y Garrison, J. (2012). Capítulo 3: Farmacodinámica: mecanismos moleculares de acción de los fármacos. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica, 12e. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=138606941&bookid=1882&jumpsectionID=138607021&Resultclick=2#1134004793>
- Brunton, L., Chabner, B. y Knollmann, B. (2012). Capítulo 45: Farmacoterapia de la acidez gástrica, úlceras pépticas y enfermedad por reflujo gastroesofágico. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?bookid=1882&sectionid=138615500#1134013353>
- Cardona, J., Medina, D., Rodríguez, A. y Machado, J. (2016). Efectos adversos a largo plazo de los inhibidores de la bomba de protones. Perspectiva desde la medicina basada en la evidencia. *Asociaciones Colombianas de Gastroenterología, Endoscopia digestiva, Coloproctología y Hepatología*, vol. 31 (4), 403-408. Recuperado de <https://www.revistagastrocol.com/index.php/rcg/article/view/115/114>
- Carretero, M. (2001) Citoprotección gástrica. *Avances Farmacológicos*. 122-125. Recuperado de <http://studylib.es/doc/4738044/citoprotecci%C3%B3n-g%C3%A1strica>
- Castillo, J., Orduz, A. y Rozo, C. (2018). Caracterización del conjugado no covalente de grafeno y ácido fólico mediante espectroscopia Raman y métodos computacionales. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.*, vol. 42(162), 96-103. Doi: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.524>
- Cienfuegos, A. (2010) Secreción gástrica e inhibidores de bomba de protones. Serie de la fisiología a la clínica. *Asociaciones Colombianas de Gastroenterología, Endoscopia digestiva, Coloproctología y Hepatología*, 94-97. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v25n1/v25n1a18.pdf>
- Cruz, C. (2015). Identificación de un inhibidor de la proteasa NS3/NS2B en productos naturales descritos en la biodiversidad costarricense por técnicas de modelaje molecular para el diseño de un potencial prototipo de fármaco para el tratamiento del virus del dengue. (Tesis). Universidad Internacional de las Américas. San José, Costa Rica.

- Cuanalo, L., Merino, S. y Scior, T. (2011) ¿Qué sabe Ud. acerca de... Cribado Virtual? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. Vol. 42 (2), 54-55. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v42n2/v42n2a8.pdf>
- Cuevas, O., Molina, A. y Fernández, D. (2016). Los ensayos clínicos y su impacto en la sociedad. *Medisur*, vol. 14 (1), 13-21. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v14n1/ms05114.pdf>
- Dandan, R. y Brunton, L. (2015). Capítulo 33: Autacoides derivados de los lípidos: eicosanoides y factores activadores de las plaquetas. Goodman & Gilman. Manual de farmacología y terapéutica, 2e. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=93495559&bookid=1468&jumpsectionID=104555211&Resultclick=2#1119646763>
- Davis, A., Teague, S y Kleywegt, G. (2003). Application and Limitations of X-ray Crystallographic Data in Structure-Based Ligand and Drug Design. *Angewandte Chemie*, vol. 47, 2718-2736. Doi: 10.1002/anie.200200539.
- De la Coba, C., Argüelles, F., De Argila, C., Júdez, J., Linares, A., Ortega, A., Rodríguez, E., Rodríguez, M., Vera, I., Aguilera, L., Álvarez, A., Andrade, R., Bao, F., Castro, M. y Giganto, F. (2016) Efectos adversos de los inhibidores de la bomba de protones: revisión de evidencias y posicionamiento de la Sociedad Española de Patología Digestiva. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. vol. 108 (4), 207-224. Recuperado de <http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v108n4/especial.pdf>
- Diaz, L. (2015) Mucosa gástrica: mecanismos protectores y efectos dañinos del ácido acetilsalicílico. Enfoques fisiológicos y bioquímico. *Medicina e investigación*. vol. 3 (1), 100-103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mei.2015.02.011>
- Díaz, A., Martínez, E., Vivas, R., Puerta, L., Méndez, D., Cabrales, R. y Padilla, A. (2012). Modelación por homología de la proteína LuxS de *Porphyromonas gingivalis* cepa W83. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, vol. 5(3), 105-113. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/piro/v5n3/art01.pdf>
- Diaz, MD., Osman, IC, Fresno, M. e Iñiguez, MA., (2012) Implicación de las prostaglandinas (PG)E<sub>2</sub> y la vía de señalización de AMPc en la inducción de la expresión de la ciclooxigenasa 2 y la prostaglandina E<sub>2</sub> sintasa microsomal-1 en macrófagos activados con lipopolisacárido. *Centro de Investigación en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM)*. vol. 443, 451-461. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2012.12.003>
- Duan, X., Zhang, M., Zhang, X., Wang, F. y Lei, M. (2015). Molecular Modeling and Docking Study on Dopamine D<sub>2</sub>-like and Serotonin 5-HT<sub>2A</sub> Receptors. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 54, 1-30. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmngm.2015.01.014>
- Edwards, M. y Price, D. (2010). Role of Physicochemical Properties and Ligand Lipophilicity Efficiency in Addressing Drug Safety. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, vol. 45, 381-391. Doi: 10.1016/S0065-7743(10)45023-X
- Fabre, J., Coffman, T. y Koller, B. (2001). Activation of the murine EP<sub>3</sub> receptor for PGE<sub>2</sub> inhibits cAMP production and promotes platelet aggregation. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 107(5), 603-610. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI10881>.

- Fernández, J. (2014). Incidencia actual de la gastritis: una breve revisión. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, vol. 45 (1), 10-17. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/1812/181230079002/>
- Ferrer, I., Pérez, J. y Herrerías, J. (s.f) Guía de seguimiento farmacoterapéutico sobre úlcera péptica. *Universidad de Granada*. 1-56. Recuperado de [http://www.ugr.es/~cts131/esp/guias/GUIA\\_ULCERA.pdf](http://www.ugr.es/~cts131/esp/guias/GUIA_ULCERA.pdf)
- Font, C. (2017). Modelado molecular como herramienta para el descubrimiento de nuevos fármacos que interaccionan con proteínas (Doctorado). Universidad Complutense
- Fox, S. (2016). CAPÍTULO 2: Composición química del cuerpo. *Fisiología humana*, 14e. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=162707735&bookid=2163&jumpsectionID=162707857&Resultclick=2#1157755913>
- Fox, S. (2017). CAPÍTULO 6: Interacciones entre células y el ambiente extracelular. *Fisiología humana*. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=162708543&bookid=2163&jumpsectionID=162708757&Resultclick=2#1153584887>
- Friesner, R., Banks, J., Murphy, R., Halgren, T., Klicic, J., Mainz, D., Repasky, M., Knoll, E., Shelley, M., Perry, J., Shaw, D., Francis, P. y Shenkin, P. (2004). Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 47 (7), 1739-1749. Doi: <https://doi.org/10.1021/jm0306430>
- Gardner, D., Anderson, M. y Nissenson, R. (2012). Capítulo 1: Hormonas y acción hormonal. Greenspan. *Endocrinología básica y clínica*. <https://accessmedicina-mhmedicalcom.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=92778713&bookid=1497&jumpsectionID=92778782&Resultclick=2#1119296517>
- García, M., Coto, T., Soto, G. y Pazos, L. (2003) Toxicidad sub-crónica y prueba de irritabilidad ocular del extracto acuoso de las hojas de *Plantago major* (Plantaginaceae). *Revista de Biología Tropical*, vol. 51 (3), 635-638. Recuperado de [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442003000300004](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442003000300004)
- Ghose, K., Viswanadhan, V. y Wendoloski, J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of Combinatorial Chemistry*, vol. 1, 55–68. Doi:10.1021/cc9800071.
- Gené, E., Calvet, X., Morón, A. e Iglesias, M. (2009) Recomendaciones en la prescripción de antiinflamatorios e indicaciones de gastroprotección en urgencias. *Servicio de urgencias*. vol. 21, 295-300. Recuperado de [http://www.dep4.san.gva.es/contenidos/urg/archivos/guias/2009/AINES%20y%20prevenci%C3%B3n%20gastropat%C3%ADa%20\(Emergencias%202009\).pdf](http://www.dep4.san.gva.es/contenidos/urg/archivos/guias/2009/AINES%20y%20prevenci%C3%B3n%20gastropat%C3%ADa%20(Emergencias%202009).pdf)
- Gil, R. (2010) Desarrollo y Utilización de Métodos Computacionales en la Mejora del Proceso de Obtención de Nuevos Fármacos (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. Recuperado de [https://repositorio.uam.es/xmlui/bitstream/handle/.../48446\\_gil\\_redondo\\_ruben.pdf?](https://repositorio.uam.es/xmlui/bitstream/handle/.../48446_gil_redondo_ruben.pdf?)

- Gomm, W., Von Holt, K., Thomé, F., Broich, K., Mainer, W., Fink, A., Doblhammer, G. y Haenisch. (2016). Association of proton pump inhibitors with risk of dementia: A Pharmacoepidemiological claims data analysis. *JAMA Neurol.* Vol. 73 (4), 1-7. Doi: <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.4791>
- Hernández, R. (2014). Metodología de la investigación. 6ma ed. México, McGraw-hill, Interamericana.
- Ibáñez, C. (2017). Preparación de la N6 -bencil-N 6 -metiladenina (BAPC1) y estudio de su capacidad complejante con Zn(II). (Tesis). Universitat de les Illes Balears. Recuperado de [http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/145948/Ibanez\\_Cristina.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/145948/Ibanez_Cristina.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Karp, G. (2014). Capítulo 15: Señalización celular y transducción de señales: comunicación intercelular. Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=153038275&bookid=2036&jumpsectionID=153038303&Resultclick=2#1139754873>
- Kasper, D., Fauci, A., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J. y Loscalzo J. (2016). Aumento del riesgo de demencia con los inhibidores de la bomba de protones. Harrison. Principios de Medicina Interna. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/updatesContent.aspx?gbos id=244198&sectionId=0&Resultclick=2>
- Katzung, B. y Trevor, A. (2015). Capítulo 36: Fármacos antiinflamatorios no esteroideos, antirreumáticos modificadores de la enfermedad, analgésicos no opioides y fármacos usados en la gota. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos. Farmacología básica y clínica. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedicalcom.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=126879987&bookid=1832&Resultclick=2#1128420954>
- Kikkou, T., Matsumoto, O., Ohkubo, T., Kobayashi, Y. y Tsujimoto, G. (2006). NMR structure of an intracellular loop peptide derived from prostaglandin EP3a receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 345, 933–937. Doi: 10.1016/j.bbrc.2006.04.165.
- Kobeasya, M., Abdel, O., Abd El, S. y Mohamed, Z. (2013). Gastroprotective effect of *Plantago major L.* against gastric injury induced by aspirin in rats. *Journal of Chemica Acta.* vol. 2, 86-91. Recuperado de <http://www.jchemacta.com/index.php/JChemActa>
- Kuzmanović, D., Stanković, D., Manojlović, D., Kalcher, K. y Roglić, G. (2015). Baicalein -main active flavonoid from *Scutellaria baicalensis*- voltammetric sensing in human samples using boron doped diamond electrode. *Diamond & Related Materials.* Vol. 58, 35–39. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diamond.2015.06.002>
- Leffler, A., Kuryatov, A., Zebroski, H., Powell, S., Filipenko, P., Hussein, A. Gorson, J., Heizmann, A., Lyskov, S., Tsien, R., Poget, S., Nicke, A., Lindstrom, J., Rudy, B., Bonneau, R. y Holford, M. (2017). Discovery of peptide ligands through docking and virtual screening at nicotinic acetylcholine receptor homology models. *PNAS*, 1-10. Doi: 10.1073/pnas.1703952114
- Li, L., Liu, W., Feng, F., Wu, C. y Xie, N. (2013). Synthesis and in vitro cytotoxicity evaluation of baicalein amino acid derivatives. *Chinese Journal of Natural Medicines*, vol. 11(3), 284–288. Doi: 10.1016/S1875-5364(13)60030-8.

- Li, M., Shi, A., Pang, H., Xue, W., Li, Y., Cao, G., Yan, B., Dong, F., Li, K., Xiao, W., He, G., Du, G. y Hu, X. (2014). Safety, tolerability, and pharmacokinetics of a single ascending dose of baicalein chewable tablets in healthy subjects. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 156, 210–215. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.08.031>
- Li-Weber, M. (2009). New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of *Scutellaria* and its main active constituents Wogonin, Baicalein and Baicalin. *Cancer Treatment Reviews*, vol. 35, 57-68. Doi: 10.1016/j.ctrv.2008.09.005
- Linares, S., Guirao, R., Bernabé, A. y Gómez, S. (2017). Hipomagnesemia grave secundaria a inhibidores de la bomba de protones, dos casos clínicos. *Revista del Laboratorio Clínico*, vol. 10 (4), 1-4. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2017.07.003>
- Lipinski, C., Lombardo, F., Dominy, B. W. y Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 46, 3–26. Doi: 10.1016/S0169-409X(00)00129-0.
- López, D. (2017). El modelado molecular: una herramienta para la mejora y obtención de nuevos fármacos. *FarmaJournal*, vol. 2 (1), 141-142. Recuperado de <https://search.proquest.com/openview/73628dafa9a4d45019986f0601062480/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2044559>
- Loza, E. (2011) AINEs en la práctica clínica: lo que hay que saber. *IT del Sistema Nacional de Salud*. Vol. 35 (3), 88-95. Recuperado de [https://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos\\_propios/infMedic/docs/vol35n3AINEs.pdf](https://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/infMedic/docs/vol35n3AINEs.pdf)
- Lukova, P., Karcheva, D., Bivolarski, V., Mladenov, R., Iliev, I. y Nikolova, M. (2017) Enzymatic Hydrolysis of Water Extractable Polysaccharides from Leaves of *Plantago major L. Folia Medica*. vol. 59 (2), 210-216. DOI: 10.1515/folmed-2017-0023
- Lúquez, A., Marulanda, H., Rodríguez, D. y Otero, W. (2017). Déficit de vitamina B12 asociado con el consumo de inhibidores de la bomba de protones. *Revista Colombiana Gastroenterología*. vol. 32 (3), 197-201. Doi: <https://doi.org/10.22516/25007440.150>
- Martín, M. (2016). Síntesis asimétrica de  $\delta$ -aminoácidos. Aplicaciones a la síntesis de ezetimiba, en biomedicina y nanotecnología. (Tesis). Universidad de Salamanca. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=155453>
- Medina, J., Fernández, E. y Naveja, J. (2015). Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación Química*, vol. 26, 180-186. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eq.2015.05.002>
- Meneses, L. y Cuesta, S. (2015). Determinación Computacional de la Afinidad y Eficiencia de Enlace de Antiinflamatorios No Esteroides Inhibidores de la Ciclooxygenasa-2. *REM CB* 36 (2), 17-25. Recuperado de <http://remcb-puce.edu.ec/index.php/remcb/article/view/260>
- Mignani, S., Rodrigues, J., Tomas, H., Jalal, J., Singh, P., Majoral, J. y Vishwakarma, R. (2018). Present drug-likeness filters in medicinal chemistry during the hit and lead optimization process: how far can they be simplified? *Drug Discov Today*, vol. 23 (3), 605-615. Doi: 10.1016/j.drudis.2018.01.010.
- Morales, M., Sanchez, O., Quirino, C., García, P. y Miranda, J. (2018). Desarrollo de un Sistema Autoemulsificable para Administración de Fármacos (SEDDS) que incremente la

solubilidad de Enrofloxacin para su administraci3n oral. RCFB, vol. 2, 1. Recuperado de <http://rcfb.uanl.mx/index.php/rcfb/article/viewFile/143/138>

- Muegge, I. (2003). Selection criteria for drug-like compounds. *Medicinal Research Reviews*, vol. 23 (3), 302–321. Doi:10.1002/med.10041
- Najafian, Y., Sadat, S., Kaboli, M. y Feyzabadi, Z. (2018) *Plantago major* in Traditional Persian Medicine and modern phytotherapy: a narrative review. *Electronic Physician*.vol. 10, 6390-6399. DOI:<http://dx.doi.org/10.19082/6390>
- Nestler, E., Hyman, S., Holtzman, D. y Malenka, R. (2017). Capitulo 4: Transducci3n de se1ales en el cerebro. Neurofarmacolog1a molecular. Fundamentos de neurociencia cl1nica. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=165240979&bookid=2187&jumpsectionID=165241000&Resultclick=2#1144412648>
- Oprea, T. I., Davis, M., Teague, S. J. y Leeson, P. D. (2001). Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 41 (5), 1308–1315. DOI:10.1021/ci010366a.
- Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., 1lvarez, M., Fraile, B., Anad3n, R. y Sa3ez, F. (2017). CAPITULO 7: Relaciones de la c3lula con su entorno. Biolog1a celular y molecular. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?bookid=2214&sectionid=171771087#1146930486>
- Papadakis, M., McPhee, S. y Rabow, M. (2017). Enfermedades del est3mago y el duodeno. Diagn3stico cl1nico y tratamiento. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=174399639&bookid=2197&jumpsectionID=174400528&Resultclick=2#1148075485>
- Peralta, M., Valdivia, F., Hern1ndez, M., Medina, G., Cordero, M., Baca, B., Cruz, A., Aguilar, I., 1valos, A. (2013) Prescripci3n farmacol3gica en el adulto mayor. Gu1a de pr1ctica cl1nica. *Revista M3dica instituto de M3xico del Seguro Social*. Vol. 51 (2), 228-239. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/4577/457745488021.pdf>
- Perea, A., L3pez, G., De la Osa, M. y Reyes, U. (2016). Antiinflamatorios no esteroideos y sus aplicaciones terap3uticas (Parte 1). *Cl1nica de Adolescentes y Obesidad del Instituto Nacional de Pediatr1a*. Vol. 33 (2), 73-82. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/bolclinhosinfson/bis-2016/bis162e.pdf>
- P3rez, M., Riera, R. y Riera, C. (2018). Verdades y mentiras sobre los inhibidores de la bomba de protones. *Formaci3n M3dica Continuada en Atenci3n Primaria*, vol. 25(2), 69-71. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fmc.2017.12.001>
- Pinto, J. y Bustamante, Z. (2008) Evaluaci3n de la actividad gastroprotectora de los extractos de llant3n (*Plantago major*). *3rgano Oficial del Colegio de Bioqu1mica y Farmacia de Bolivia*. Vol. 16, 36-41. Recuperado de [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632008000100007&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632008000100007&script=sci_arttext)
- Prieto, F. y Medina, J. (2018). Dise1o de f1rmacos asistido por computadora: cuando la inform1tica, la qu1mica y el arte se encuentran. *Revista Especializada en Ciencias Qu1mico-Biol3gicas*, vol. 21(2), 124-134. Doi: 10.22201/fesz.23958723e.2018.2.6

- Restrepo, C. H., Botello, J., López, L., Aguirre, J. y Restrepo, C. A. (2017) Impacto de los inhibidores de la bomba de protones en los niveles de vitamina B12 en pacientes con ERC estadio 5 en hemodiálisis experiencia de un centro en Manizales, Colombia. *Acta Médica Colombiana*. vol. 24, 172-179. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/1631/163153605004.pdf>
- Rodríguez, D. y Alfaro, A. (2010) Actualización de la fisiología gástrica. *Medicina Legal de Costa Rica*. vol. 27 (2), 59-68. Recuperado de <http://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v27n2/a07v27n2.pdf>
- Rodríguez, Y., Vera, L., Moreno, K., Montilla, J., Guevara, C. y González, R. (2014). Conocimiento sobre el uso del *Plantago-major* como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales. *Revista Venezolana de Investigación Odontológicas*, vol.2 (2), 106-115. Recuperado de <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio/article/view/5306>
- Rodwell, V., Bender, D., Botham, K., Kennelly, P. y Weil, P. (2016). Capítulo 5: Proteínas: órdenes de estructura superiores. Harper. Bioquímica ilustrada. Recuperado de [https://accessmedicina-mhmedical-comezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.Asp\\_x?sectionid=127361744&bookid=1814&jumpsectionID=127361800&Resultclick=2#1128657919](https://accessmedicina-mhmedical-comezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.Asp_x?sectionid=127361744&bookid=1814&jumpsectionID=127361800&Resultclick=2#1128657919)
- Romero, T. y Rueda, A. (2015). Determinación de la actividad de ATPasa de la bomba SERCA en homogenados de tejido muscular. *Problema Bioquímico*, vol. 34 (1), 29-30. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/reb/v34n1/1665-1995-reb-34-01-00029.pdf>
- Ribeiro, A., Valença, J., Santos, J., Boeing, T., Silva, L., Andrade, S., Albuquerque, R. y Thomazzi, S. (2016). The effects of baicalein on gastric mucosal ulcerations in mice: Protective pathways and anti-secretory mechanisms. *Chemico-Biological Interactions*. vol. 260, 33-41. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.10.016>
- Sabag, V., Pinto, J., Zabalaga, S. y Camacho, M. (2010) Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (*Plantago major*). *BIOFARBO*. vol. 18 (2), 44-52. Recuperado de [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632010000200005&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1813-53632010000200005&script=sci_arttext)
- Saldívar, F., Prieto, F. y Medina, J. (2017). Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química*. Vol. 28, 51-58. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002>
- San Martín, A., Chui, G., Romero, A., Acebey, R., Blanco, E., Flores, Y. y Almanza, G. (2017). Luteolina en cáscaras de maní (*Arachis hypogaea*) en cultivares de Bolivia. *Revista Boliviana de Química*. vol. 34 (3), 79-88. Recuperado de [http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v34n3/v34n3\\_a03.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v34n3/v34n3_a03.pdf)
- Sánchez, J., Irineo, A., Magaña, G. y Peraza, F. (2013) Indicaciones inadecuadas en el consumo crónico de inhibidores de bomba de protones en un hospital de México. Estudio transversal. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. vol. 105 (3), 131-137. Recuperado de [http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v105n3/es\\_original2.pdf](http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v105n3/es_original2.pdf)
- Schmid, A., Thierauch, K., Schleuning, W. y Dinter, H. (1995). Splice variants of the human EP3 receptor for prostaglandin E<sub>2</sub>. *Eur. J. Biochem*. Vol. 228, 23-30. Recuperado de <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1432-1033.1995.00230.x>

- Shabaka, A., Tornero, F., Del Castillo, S., Rodríguez, R., Romero, S., Gil, B., De Gracia, R. y Herrero, J. (2016) Trastornos electrolíticos graves asociados a tratamiento crónico con omeprazol. *NefroPlus*, vol. 8(1), 89-93. Recuperado de <http://www.revistanefrologia.com/es-publicacion-nefroplus-articulo-trastornos-electroliticos-graves-asociados-tratamiento-cronico-con-omeprazol-X1888970016558019>
- Smyth, E. y FitzGerald, G. (2016). CAPÍTULO 18: Eicosanoides: prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y compuestos similares. *Farmacología básica y clínica*, 13e. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=126877035&bookid=1832&Resultclick=2#1128418003>
- Sowndhararajan, K., Deepa, P., Kim, M., Park, S. y Kim, S. (2017). Baicalein as a potent neuroprotective agent: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Vol. 95, 1021-1032. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.135>
- Takeuchi, K. (2010). Prostaglandin EP receptors and their roles in mucosal protection and ulcer healing in the gastrointestinal tract. *Advances in Clinical Chemistry*, vol. 51, 121-144. Doi: 10.1016/S0065-2423(10)51005-9
- Tamez, R., Rodríguez, C., Tamez, P., Weber, R., Gómez, R. y Calderón, C. (2001) Activación de macrófagos y linfocitos in vitro por extractos metanólicos de hojas de *Plantago major*. *Ciencia UANL*, vol. 4 (3), 304-313. Recuperado de <http://eprints.uanl.mx/1071/1/activacion.pdf>
- Tintinalli, J., Stapczynski, S., Ma, O., Cline, D., Meckler, G. y Cydulka, R. (2013). Capítulo 185: Antiinflamatorios no esteroideos. *Medicina de urgencias*. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=101550862&bookid=1532&Resultclick=2#1119344484>
- Tuccinardi, T. (2009). Docking-Based virtual screening: Recent Developments. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, vol. 12 (3), 303-314. Doi: <https://doi.org/10.2174/138620709787581666>
- Valesco, J., Gómez, E., y Uscanga, L. (2016). ¿Qué tanto se siguen las recomendaciones de las guías clínicas sobre gastroprotección? Una revisión en enfermos que consumen antiinflamatorios no esteroideos. *Revista De Gastroenterología De México.*, 81 (3), 121-125. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rgmx.2016.05.001>
- Veber, D., Johnson, S., Cheng, H., Smith, B., Ward, K. y Kopple, K. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 45 (12), 2615–2623. Doi: 10.1021/jm020017n
- Venkatachalam, C., Jiang, X., Oldfield, T, y Waldman, M. (2003). LigandFit: a novel method for the shape-directed rapid docking of ligands to protein active sites. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 21, 289–307. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1093-3263\(02\)00164-X](https://doi.org/10.1016/S1093-3263(02)00164-X)
- Wang, L., Yao, D., Deepak, K., Gong, W., Wei, Z. y Zhang, C. (2018). Structures of the Human PGD2 Receptor CRTH2 Reveal Novel Mechanisms for Ligand Recognition. *Molecular Cell*, vol. 72, 1-12. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.08.009>.

- Weil, A. (2016). CAPÍTULO 42: Acción hormonal y transducción de señal. Harper. Bioquímica ilustrada. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=127365191&bookid=1814&jumpsectionID=127365208&Resultclick=2#1128661360>
- Zastrow, M. (2016). CAPÍTULO 2: Receptores para fármacos y farmacodinámica. Farmacología básica y clínica. Recuperado de <https://accessmedicina-mhmedical-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=126874478&bookid=1832&jumpsectionID=126874562&Resultclick=2#1128415446>
- Zúñiga, L. (2017). Diseño molecular *in silico* de un anestésico local a partir del metabolito espilantol presente en la planta *Acmella oleracea* (Asteraceae) como agonista nociceptivo de la proteína TRPV (Tesis). Universidad Internacional de las Américas. San José, Costa Rica.

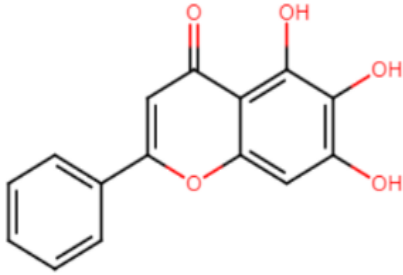
**Apéndice A. Estructura primaria en formato FASTA de los receptores usados para el modelado por homología de EP3A**

Receptor	FASTA (secuencia de amino ácidos)
Receptor EP3A	<pre>&gt;sp P43115 PE2R3_HUMAN Prostaglandin E2 receptor EP3 subtype OS=Homo sapiens OX=9606 GN=PTGER3 PE=1 SV=1  MKETRGYGGDAPFCTRLNHSYTG MWAPERSAEARGNLTRPPGSGE DCGSVSVAFPITMLL  TGFVGNALAMLLVSRSYRRRESKRKKSFLLCIGWLALDVLGQLLT TPVVIVVYLSKQRW  EHIDPSGRLCTFFGLTMTVFGLSSLFIASAMAVERALAIRAPHWYAS HMKTRATRAVLLG  VWLAVLAFALLPVLGVGQYTVQWPGTWCFISTGRGGNGTSSSHN WGNLFFASAFALGLL  ALVTTFSCNLATIKALVSRCAKATASQSSAQWGRITTETAIQLMGI MCVLSVCWSPLLI  MMLKMIFNQTSVEHCKTHTEKQKECNFFLIAVRLASLNQILDPWVY LLLRKILLRKFCQI  RYHTNNYASSSTSLPCQCSSTLMWSDHLER</pre>
Receptor $\beta$ 2-adrenérgico	<pre>&gt;2RH1:A PDBID CHAIN SEQUENCE  DYKDDDAMGQPGNGSAFLLAPNRSHAPDHDVTQQRDEVWVVG M GIVMSLIVLAIVFGNVLVITAIKFERLQTVTNYFIT  SLACADLVMGLAVVPFGAAHILMKMWTFGNFWCEFWTSIDVLCV TASIETLCVIAVDRYFAITSPFKYQSLLTKNKARVI  ILMVWIVSGLTSFLPIQMHWYRATHQEAINCYAEETCCDFFTNQAY AIASSIVSFYVPLVIMVFVYSRVFQEAKRQLNIF</pre>

	<p>EMLRIDEGLRLKIYKDTEGYYTIGIGHLLTKSPSLNAAKSELDKAIG  RNTNGVITKDEAEKLFNQDVDAAVRGILRNAKL</p> <p>KPVYDSLDAVRRRAALINMVFQMGETGVAGFTNSLRMLQQKRWDE  AAVNLAKSRYWYNQTPNRAKRVITTFRTGTWDAYKFC</p> <p>LKEHKALKTLGIIMGTFTLCWLPFFIVNIVHVIQDNLIRKEVYILLNW  IGYVNSGFNPLIYCRSPDFRIAFQELLCLRRS</p> <p>SLKAYGNGYSSNGNTGEQSG</p>
Receptor de prostaglandina D2	<p>&gt;6D26:A PDBID CHAIN SEQUENCE</p> <p>GMSANATLKPLCPILEQMSRLQSHSATSIRYIDHAAVLLHGLASLLG  LVENGVILFVVGCRMQRQTVVTTWVLHLALSDDL</p> <p>ASASLPFFTYFLAVGHSWELGTTFCKLHSSIFFLNMFASGFLLSAISL  DRCLQVVRPVWAQNHRTVAAAHKVCLVLWALA</p> <p>VLNTVPYFVFRDTISRLDGRIMCYYNVLLLNPDPDRDATCNSRQAA  LAVSKFLLAFLVPLAIIASSHAAVSLRLQHRADL</p> <p>GLQHRNIFEMLRIDEGGGSGGDEAEKLFNQDVDAAVRGILRNAKL  KPVYDSLDAVRRRAALINMVFQMGETGVAGFTNSLR</p> <p>MLQQKRWDEAAVNLAKSRYWYNQTPNRAKRVITTFRTGTWDAYR  RRPGRFVRLVAAVVAAFALCWGPYHVFSLLEARAHAN</p> <p>PGLRPLVWRGLPFVTSLAFNSVANPVLVLTCPDMLRKLRRSLRT  VLESVLVDDSELGGAGSSLEVLVLFQ</p>

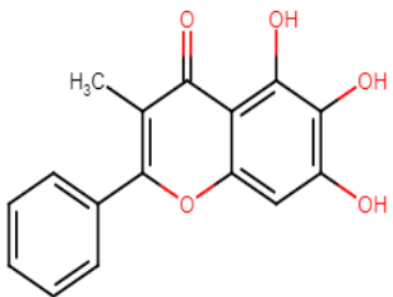
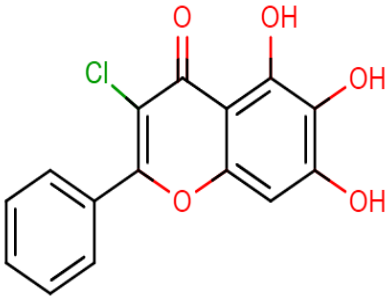
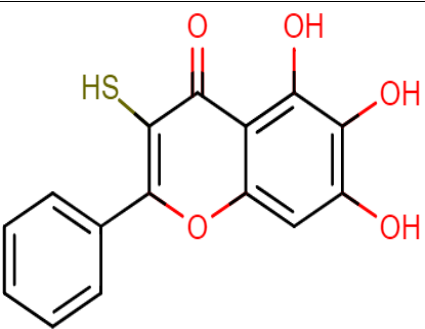
Fuente: Elaboración propia, 2018.

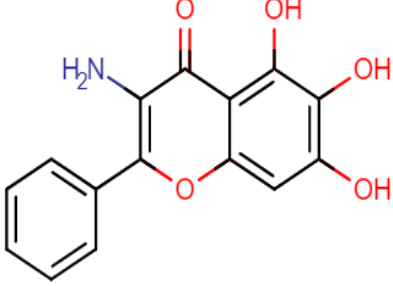
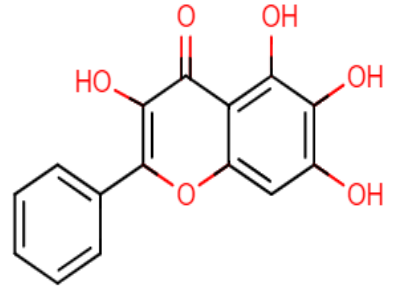
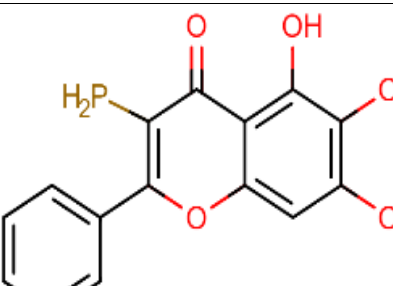
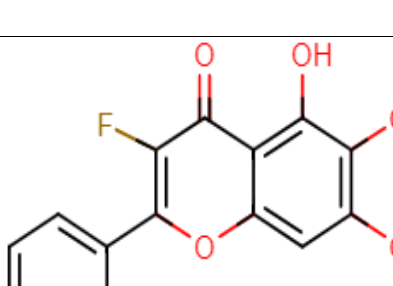
### Apéndice B. Datos obtenidos de la molécula baicaleín

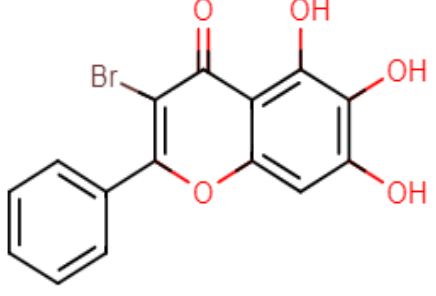
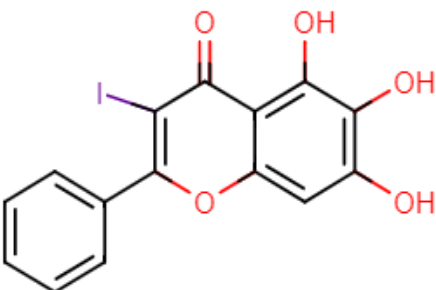
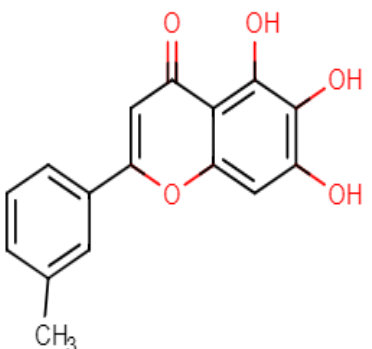
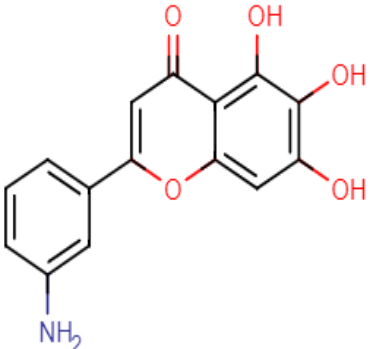
Estructura molecular	
Código PDB	4X2D
SMILE	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=CC(=O)C3=C(C(=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
Fórmula molecular	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>
Masa molecular	270.24 g/mol
LogP	2.71
Refractividad molar=RM (cm <sup>3</sup> /mol)	72.91
APS (Å <sup>2</sup> )	86.99
Donadores de hidrógeno (DDH)	3
Aceptores de hidrógeno (ADH)	5
Átomos totales	30
Enlaces rotables	1
Anillos	3
Solubilidad a pH 7,4 (mg/mL)	0.85
Energía de Gibbs	-10.2

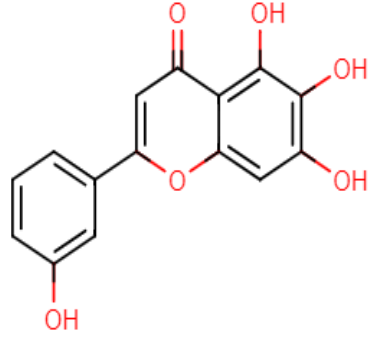
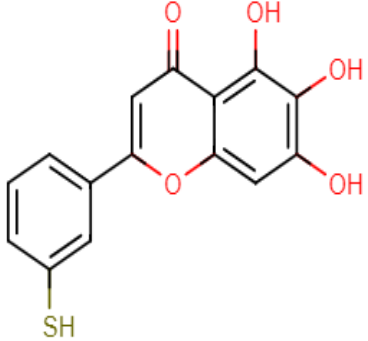
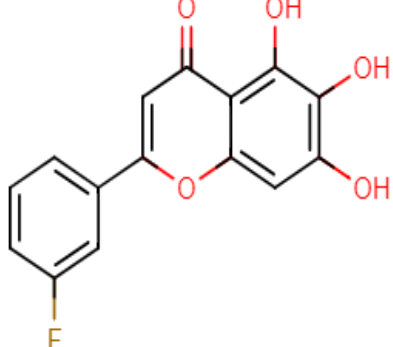
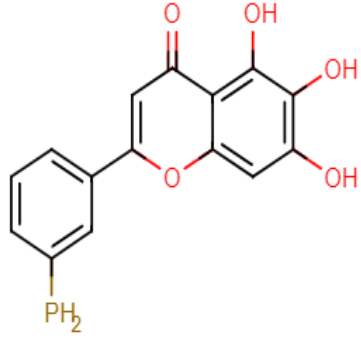
Fuente: Elaboración propia, 2018.

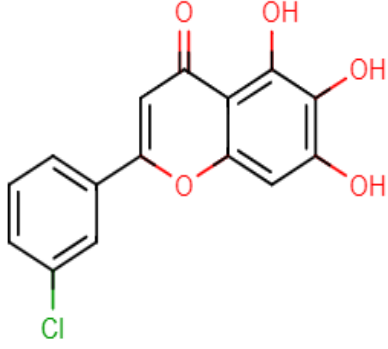
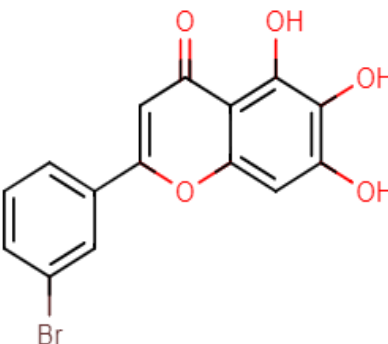
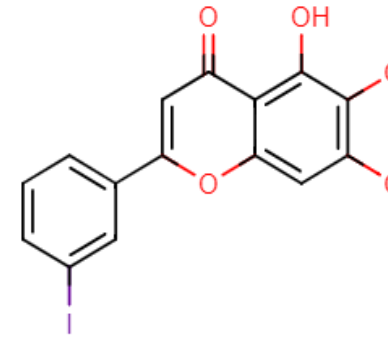
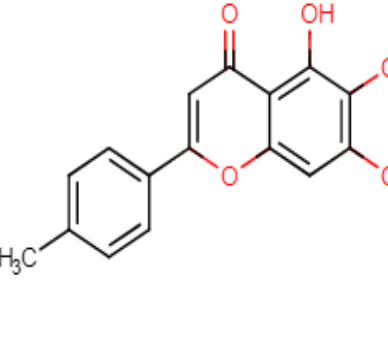
### Apéndice C. Estructura de los derivados de baicaleína

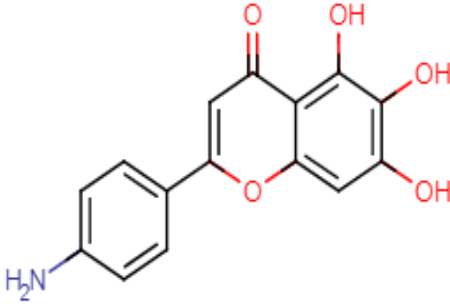
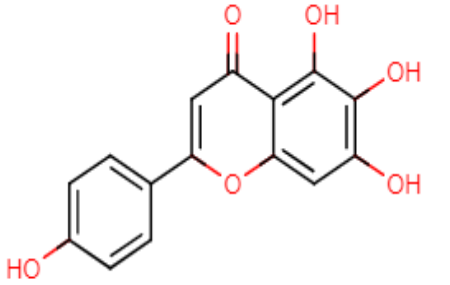
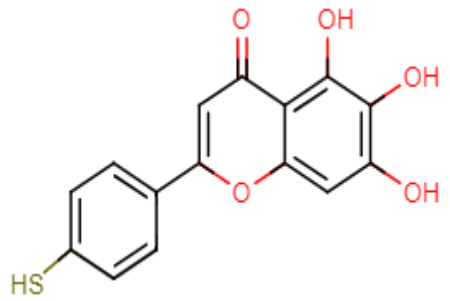
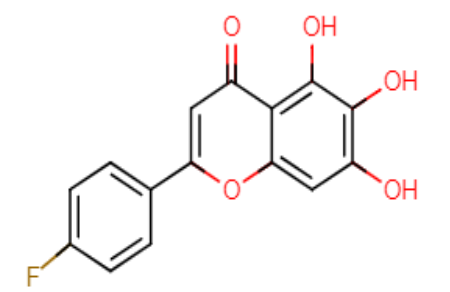
Análogo	Estructura molecular	Fórmula	SMILES	Masa molar g/mol
1		C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	CC1=C(OC2=C C(O)=C(O)C(O )=C2C1=O)C1= CC=CC=C1	284.3
2		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> ClO <sub>5</sub>	OC1=C(O)C(O) =C2C(=O)C(Cl) =C(OC2=C1)C1 =CC=CC=C1	304.6
3		C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> S	OC1=C(O)C(O) =C2C(=O)C(S) =C(OC2=C1)C1 =CC=CC=C1	302.3

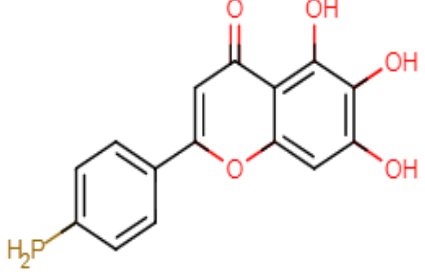
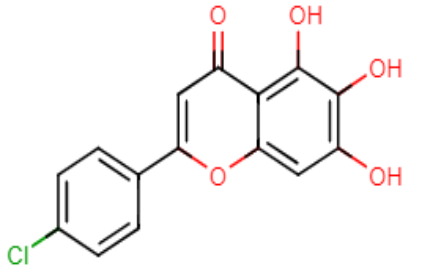
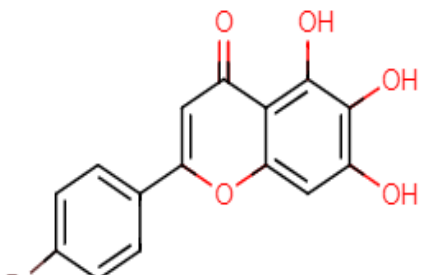
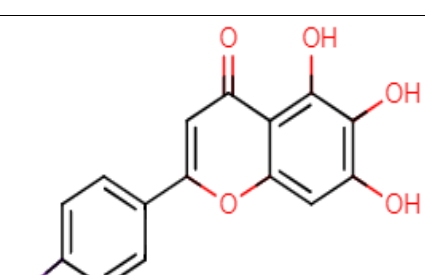
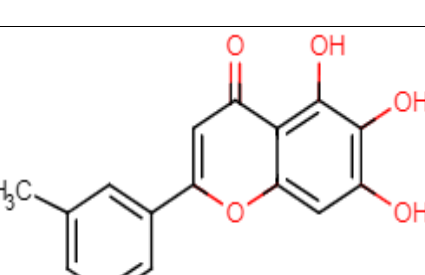
4	 <p>Chemical structure of 6-aminophenyl-7-hydroxy-2,4-dihydroxyflavone. The structure shows a flavone core with a phenyl ring at position 6, a hydroxyl group at position 7, and hydroxyl groups at positions 2 and 4. The amino group at position 6 is highlighted in blue.</p>	$C_{15}H_{11}NO$ 5	$NC1=C(OC2=C$ $C(O)=C(O)C(O)$ $=C2C1=O)C1=$ $CC=CC=C1$	285.3
5	 <p>Chemical structure of 6-phenyl-7-hydroxy-2,4-dihydroxyflavone. The structure shows a flavone core with a phenyl ring at position 6, a hydroxyl group at position 7, and hydroxyl groups at positions 2 and 4.</p>	$C_{15}H_{10}O_6$	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(OC(=C(O$ $)C2$ $=O)C2=CC=CC$ $=C2)=C1$	286.2
6	 <p>Chemical structure of 6-phenyl-7-hydroxy-2,4-dihydroxyflavone-6-phosphonic acid. The structure shows a flavone core with a phenyl ring at position 6, a hydroxyl group at position 7, and hydroxyl groups at positions 2 and 4. A phosphonic acid group is attached at position 6, highlighted in yellow.</p>	$C_{15}H_{11}O_5P$	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C(P)$ $=C(OC2=C1)C1$ $=CC=CC=C1$	302.2
7	 <p>Chemical structure of 6-phenyl-7-hydroxy-2,4-dihydroxyflavone-6-fluoride. The structure shows a flavone core with a phenyl ring at position 6, a hydroxyl group at position 7, and hydroxyl groups at positions 2 and 4. A fluorine atom is attached at position 6, highlighted in yellow.</p>	$C_{15}H_9FO_5$	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C(F)$ $=C(OC2=C1)C1$ $=CC=CC=C1$	288.2

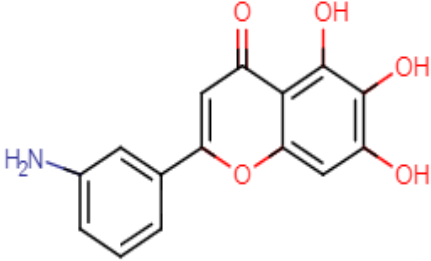
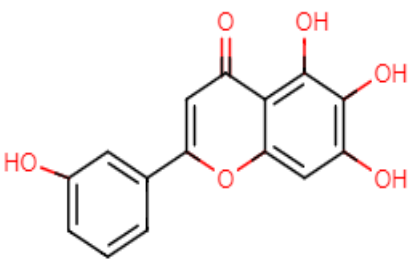
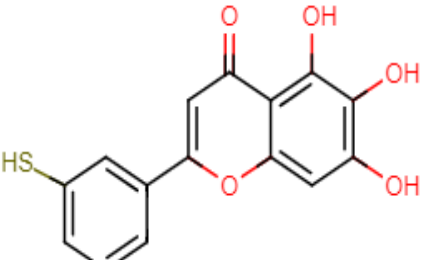
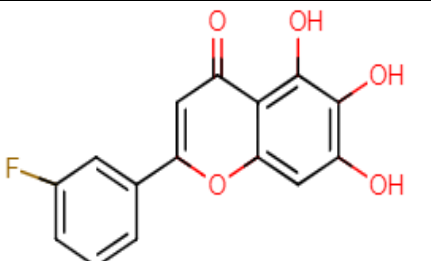
8		$C_{15}H_9BrO$ 5	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C(Br)$ $=C(OC2=C1)C1$ $=CC=CC=C1$	349.1
9		$C_{15}H_9IO_5$	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C(I)$ $=C(OC2=C1)C1$ $=CC=CC=C1$	396.1
10		$C_{16}H_{12}O_5$	$CC1=CC(=CC=C1)C1=CC(=O)C2=C(O)C(O)C=C2O1$	284.3
11		$C_{15}H_{11}NO$ 5	$NC1=CC(=CC=C1)C1=CC(=O)C2=C(O)C(O)C=C2O1$	285.3

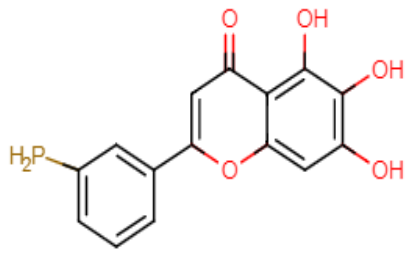
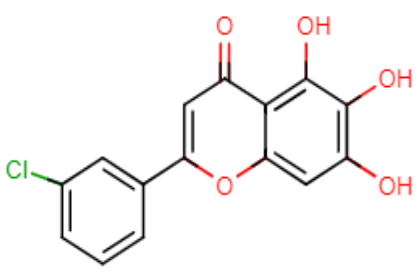
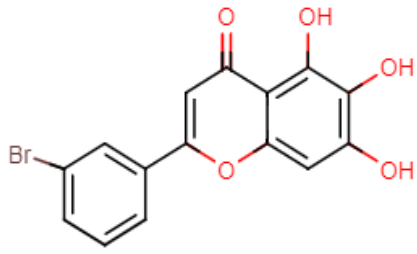
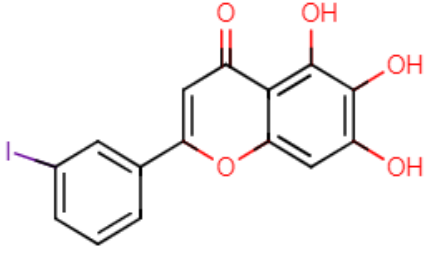
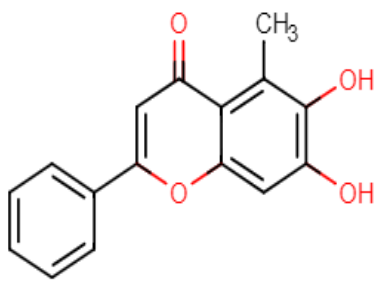
12		C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	<chem>OC1=CC(=CC=C1)C2=C(O)C(=O)C(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C2=CC=C(O)C2=O</chem>	286.2
13		C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> S	<chem>SC1=CC=C(C=C1)C2=C(O)C(=O)C(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C2=CC=C(O)C2=O</chem>	302.3
14		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> FO <sub>5</sub>	<chem>Fc1ccc(cc1)C2=C(O)C(=O)C(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C2=CC=C(O)C2=O</chem>	288.2
15		C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub> P	<chem>OP(=O)(O)C1=CC=C(C=C1)C2=C(O)C(=O)C(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C2=CC=C(O)C2=O</chem>	302.2

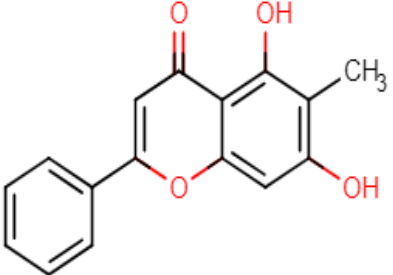
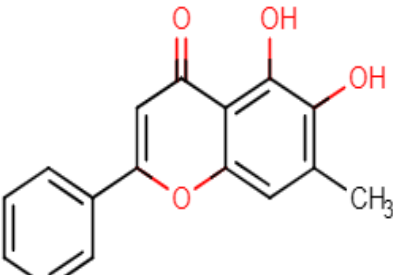
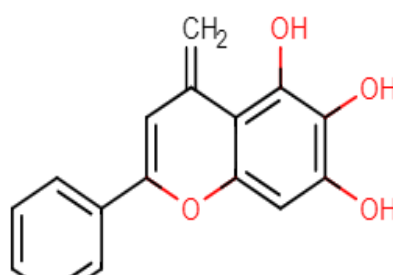
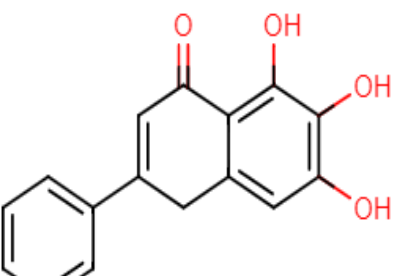
16		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> ClO <sub>5</sub>	<chem>OC1=C(O)C(=O)C=C(O)C1=CC=C(O)C1=CC=C(Cl)C1</chem>	304.7
17		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> BrO <sub>5</sub>	<chem>OC1=C(O)C(=O)C=C(O)C1=CC=C(O)C1=CC=C(Br)C1</chem>	349.1
18		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> IO <sub>5</sub>	<chem>OC1=C(O)C(=O)C=C(O)C1=CC=C(O)C1=CC=C(I)C1</chem>	396.1
19		C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	<chem>CC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=O)C=C(O)C1=CC=C(O)C1=CC=C(C)C1</chem>	284.3

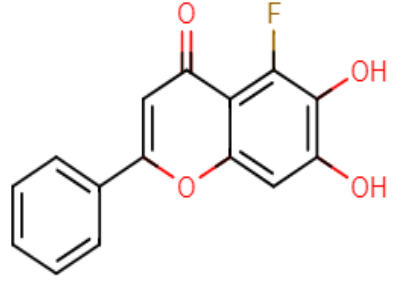
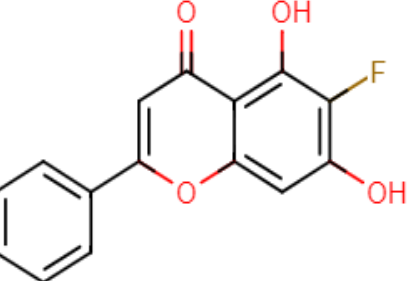
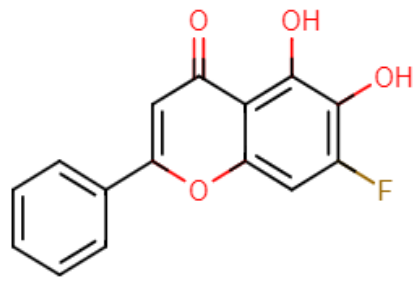
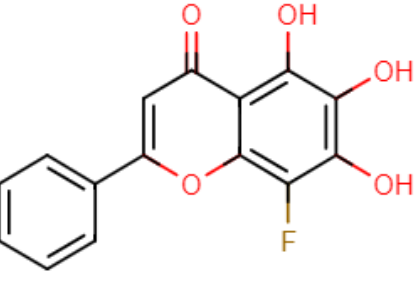
20		C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> NO 5	NC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C=C2O1	285.3
21		C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	OC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C=C2O1	286.2
22		C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> S	OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2)=C1C=CC=C(S)C=C1	302.3
23		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> FO <sub>5</sub>	OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2)=C1C=CC=C(F)C=C1	288.2

24		$C_{15}H_{11}O_5P$	<chem>OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C(P)C=C1</chem>	302.2
25		$C_{15}H_9ClO_5$	<chem>OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	304.7
26		$C_{15}H_9BrO$ 5	<chem>OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C(Br)C=C1</chem>	349.1
27		$C_{15}H_9IO_5$	<chem>OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C(I)C=C1</chem>	396.1
28		$C_{16}H_{12}O_5$	<chem>CC1=CC=CC(=C1)C1=CC(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C=C2O1</chem>	284.3

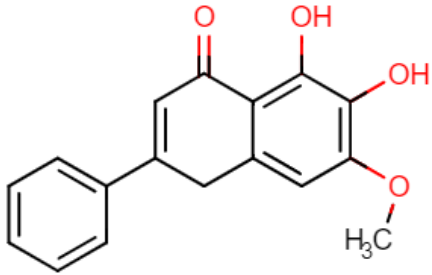
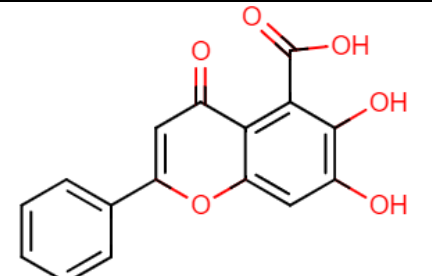
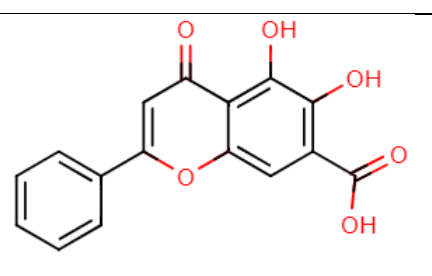
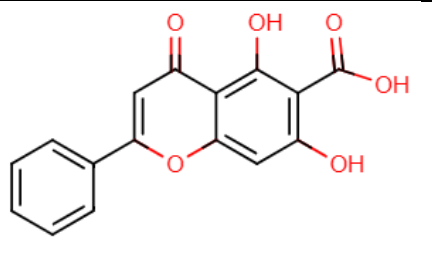
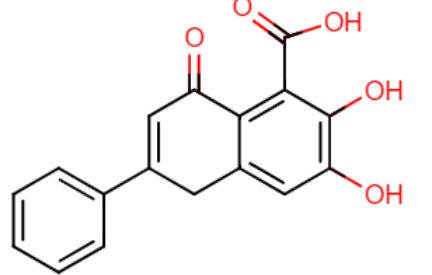
29		$C_{15}H_{11}NO$ 5	<chem>NC1=CC=CC(=C1)C1=CC(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C2=O</chem>	285.3
30		$C_{15}H_{10}O_6$	<chem>OC1=CC=CC(=C1)C1=CC(=O)C2=C(O)C(O)=C(O)C2=O</chem>	286.2
31		$C_{15}H_{10}O_5S$	<chem>OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(C1)C2=S</chem>	302.3
32		$C_{15}H_9FO_5$	<chem>OC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(C1)C2=F</chem>	288.2

33		$C_{15}H_{11}O_5P$	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C=C($ $OC2$ $=C1)C1=CC(P)$ $=CC=C1$	302.2
34		$C_{15}H_9ClO_5$	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C=C($ $OC2$ $=C1)C1=CC(Cl)$ $=CC=C1$	304.7
35		$C_{15}H_9BrO$ 5	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C=C($ $OC2$ $=C1)C1=CC(Br$ $)=CC=C1$	349.1
36		$C_{15}H_9IO_5$	$OC1=C(O)C(O)$ $=C2C(=O)C=C($ $OC2$ $=C1)C1=CC(I)=$ $CC=C1$	396.1
37		$C_{16}H_{12}O_4$	$CC1=C2C(=O)$ $C=C(OC2=CC($ $O)$ $=C1O)C1=CC=$ $CC=C1$	268.3

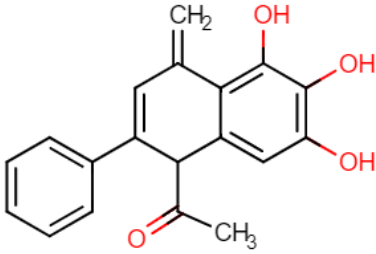
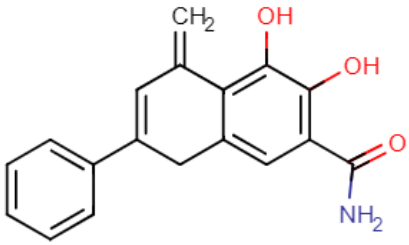
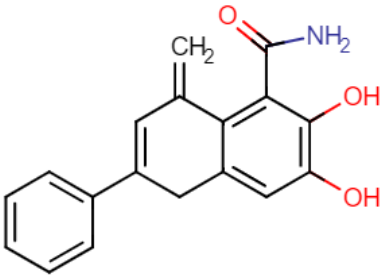
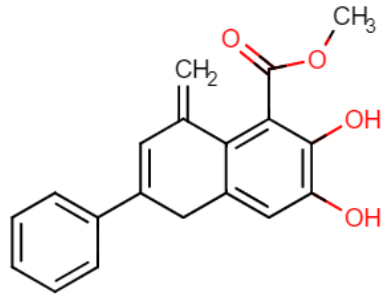
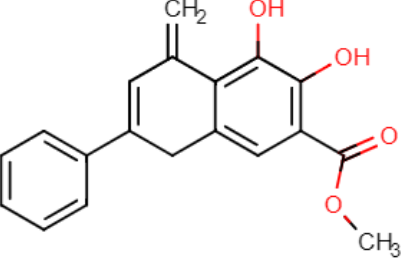
38		C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	<chem>CC1=C(O)C=C</chem> <chem>2OC(=CC(=O)C</chem> <chem>2</chem> <chem>=C1O)C1=CC=</chem> <chem>CC=C1</chem>	268.3
39		C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	<chem>CC1=C(O)C(O)</chem> <chem>=C2C(=O)C=C(</chem> <chem>OC2</chem> <chem>=C1)C1=CC=C</chem> <chem>C=C1</chem>	268.3
40		C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	<chem>OC1=C(O)C(O)</chem> <chem>=C2C(=C)C=C(</chem> <chem>OC2</chem> <chem>=C1)C1=CC=C</chem> <chem>C=C1</chem>	268.3
41		C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	<chem>OC1=C(O)C(O)</chem> <chem>=C2C(=O)C=C(</chem> <chem>CC2</chem> <chem>=C1)C1=CC=C</chem> <chem>C=C1</chem>	268.3

42		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> FO <sub>4</sub>	<chem>OC1=C(O)C(F)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C</chem>	272.2
43		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> FO <sub>4</sub>	<chem>OC1=C(F)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C</chem>	272.2
44		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> FO <sub>4</sub>	<chem>OC1=C(F)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C</chem>	272.2
45		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> FO <sub>4</sub>	<chem>OC1=C(O)C(F)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C</chem>	288.2

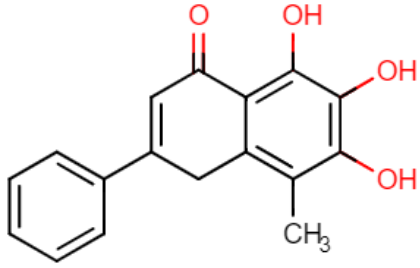
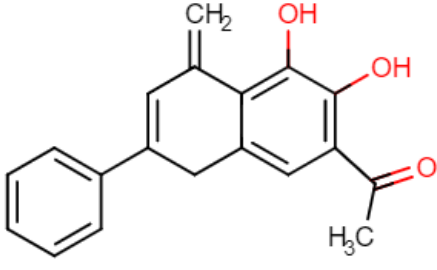
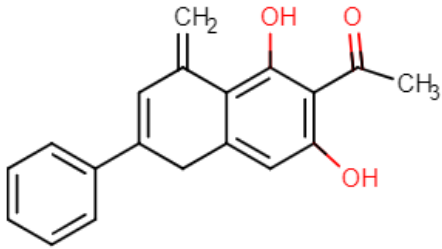
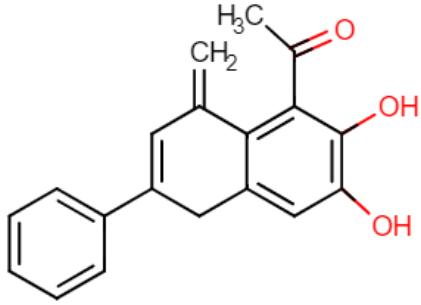
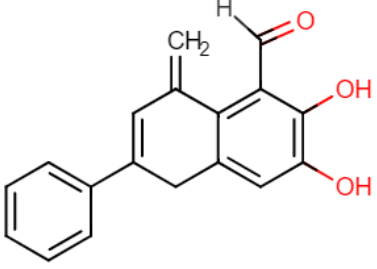
46		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> ClO <sub>4</sub>	OC1=C(O)C(Cl)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C=C1	288.7
47		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> ClO <sub>4</sub>	OC1=C(Cl)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C=C1	288.7
48		C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> ClO <sub>4</sub>	OC1=C(Cl)C=C(O)C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C=C1	288.7
49		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	COC1=C2C(=O)C=C(O)C(C2=CC(=O)C1)C1=CC=C=C1	282.3
50		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	COC1=C(O)C=C(O)C2C(=O)C=C(OC2=C1)C1=CC=C=C1	282.3

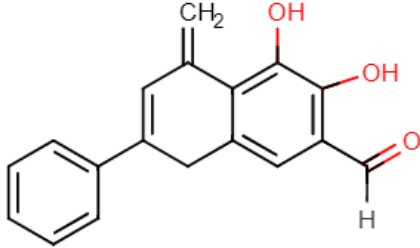
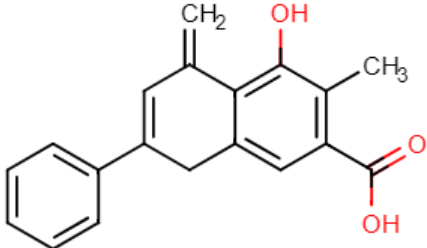
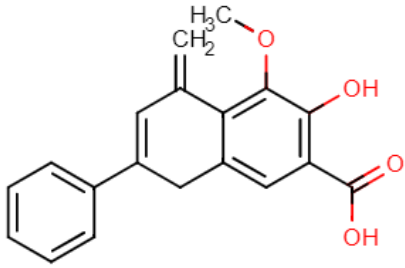
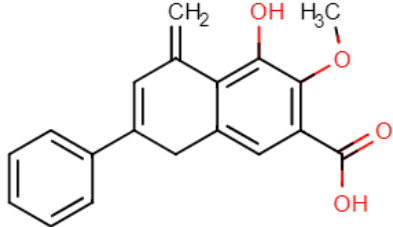
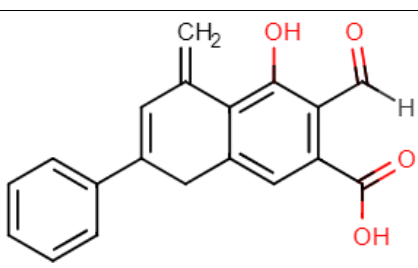
51		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	<chem>COC1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(C(C2=O)C1=CC=C)C=C1</chem>	282.3
52		C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	<chem>OC(=O)C1=C2C(=O)C=C(OC2=CC(O)=C1O)C1=CC=C)C=C1</chem>	298.3
53		C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	<chem>OC(=O)C1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(OC2=CC(O)=C1)C1=CC=C)C=C1</chem>	298.3
54		C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	<chem>OC(=O)C1=C(O)C(O)=C2OC(=C(C(=O)C2=CC(O)=C1O)C1=CC=C)CC=C1</chem>	298.3
55		C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	<chem>OC(=O)C1=C2C(=O)C=C(CC2=CC(O)=C1O)C1=CC=C)CC=C1</chem>	296.3

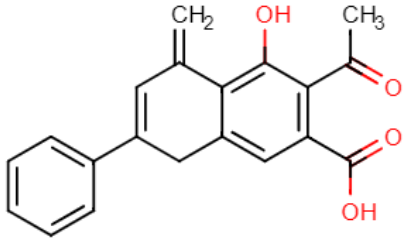
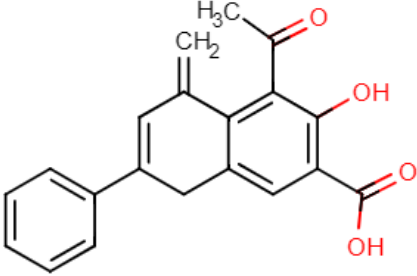
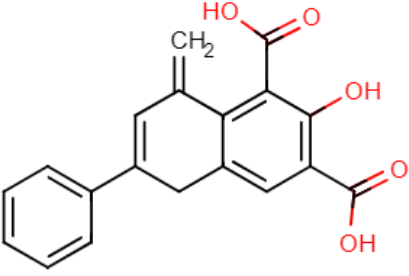
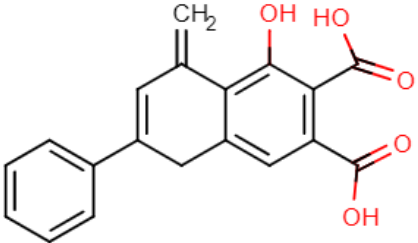
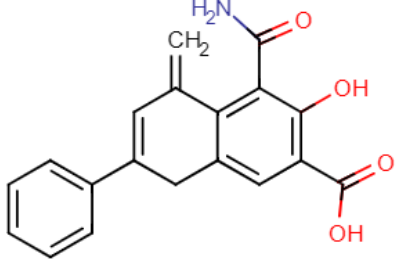
56		C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	OC(=O)C1=C(O)C=C2CC(=C(C(=O)C2=C1O)C1=CC=CC=C1	296.3
57		C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	OC(=O)C1=C(O)C(O)=C2C(=O)C=C(C(C2=C1)C1=CC=CC=C1	296.3
58		C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	OC(=O)C1=C2C(=C)C=C(CC2=CC(O)=C1O)C1=CC=CC=C1	294.3
59		C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	OC(=O)C1=C(O)C(O)=C2C(=C)C=C(CC2=C1)C1=CC=CC=C1	294.3
60		C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	OC(=O)C1=CC(=C(C=C1)C1=C(C(=C)C2=C(O)C(O)=C(O)C=C2O)C=C1	310.3

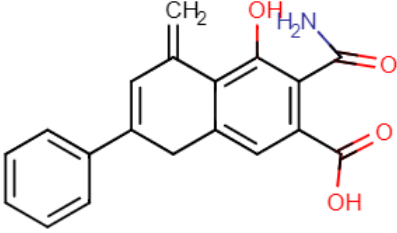
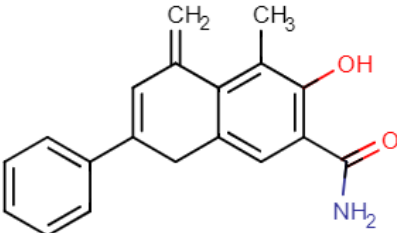
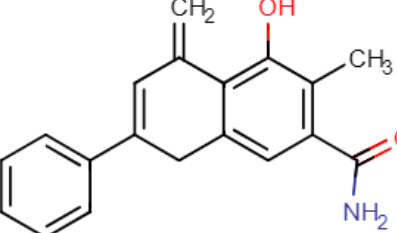
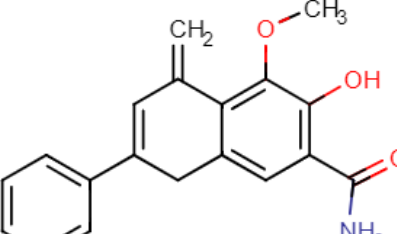
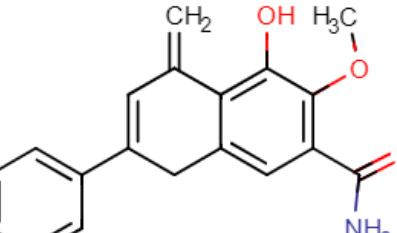
61		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	CC(=O)C1C(=C C(=C)C2=C(O) C(O) =C(O)C=C12)C 1=CC=CC=C1	308.3
62		C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> NO 3	NC(=O)C1=C( O)C(O)=C2C(= C)C =C(CC2=C1)C1 =CC=CC=C1	293.3
63		C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> NO 3	NC(=O)C1=C2 C(=C)C=C(CC2 = CC(O)=C1O)C1 =CC=CC=C1	293.3
64		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	COC(=O)C1=C 2C(=C)C=C(CC 2 =CC(O)=C1O)C 1=CC=CC=C1	308.3
65		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	COC(=O)C1=C( O)C(O)=C2C(= C) C=C(CC2=C1) C1=CC=CC=C1	308.3

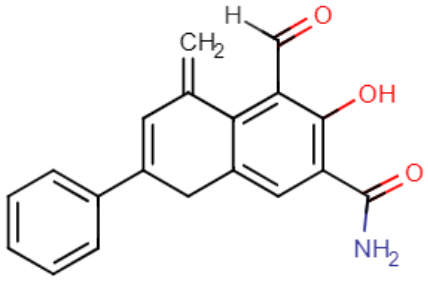
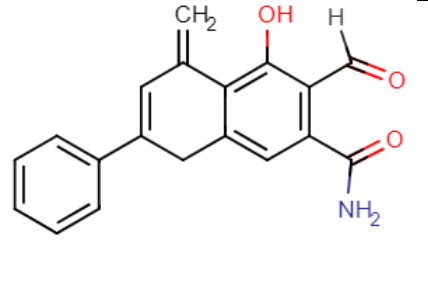
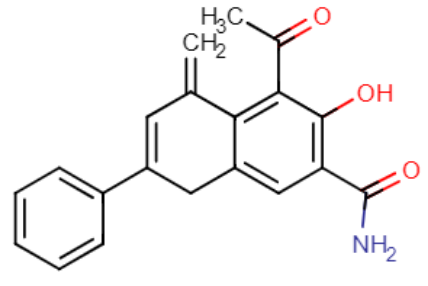
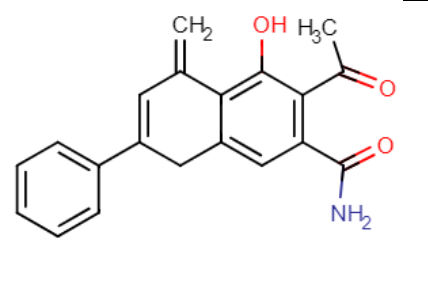
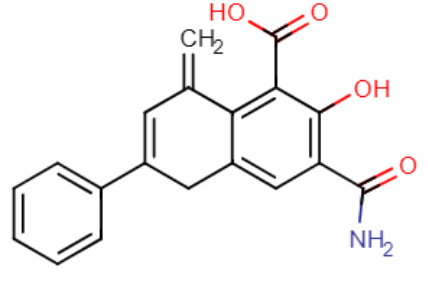
66		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	CC1=C2C(=O) C=C(CC2=CC( O) =C1O)C1=CC= CC=C1	266.3
67		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	CC1=C(O)C=C 2CC(=CC(=O)C 2 =C1O)C1=CC= CC=C1	266.3
68		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	CC1=C(O)C(O) =C2C(=O)C=C( CC2 =C1)C1=CC=C C=C1	266.3
69		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	CC1=CC=C(C= C1)C1=CC(=O) C2 =C(O)C(O)=C( O)C=C2C1	282.3
70		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	CC1C(=CC(=O) C2=C(O)C(O) =C(O)C=C12)C 1=CC=CC=C1	282.3

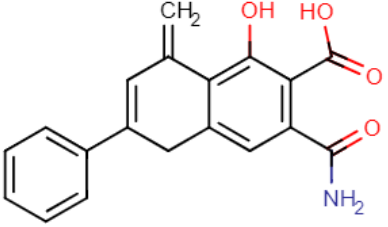
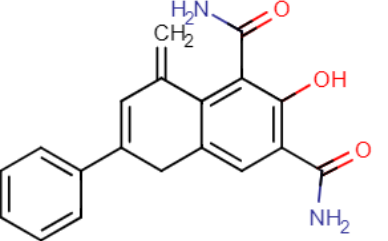
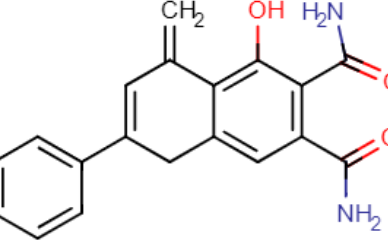
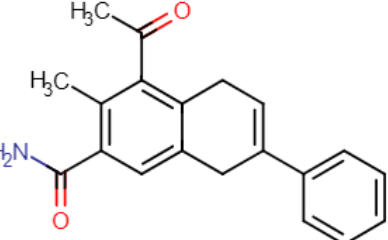
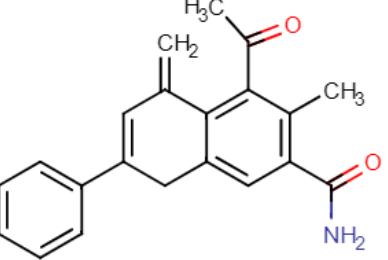
71		C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	CC1=C2CC(=C C(=O)C2=C(O) C(O) =C1O)C1=CC= CC=C1	282.3
72		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	CC(=O)C1=C(O )C(O)=C2C(=C) C =C(CC2=C1)C1 =CC=CC=C1	292.3
73		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	CC(=O)C1=C(O )C=C2CC(=CC( = C)C2=C1O)C1= CC=CC=C1	292.3
74		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	CC(=O)C1=C2 C(=C)C=C(CC2 =CC(O)=C1O)C 1=CC=CC=C1	292.3
75		C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	[H]C(=O)C1=C 2C(=C)C=C(CC 2 =CC(O)=C1O)C 1=CC=CC=C1	278.3

76		$C_{18}H_{14}O_3$	<chem>[H]C(=O)C1=C(O)C(O)=C2C(=C)C=C(C2=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	278.3
77		$C_{19}H_{16}O_3$	<chem>CC1=C(C=C2C=C(C(=O)O)C=C2)C(=O)O</chem>	292.3
78		$C_{19}H_{16}O_4$	<chem>COC1=C2C(=C)C=C(C2)C(=O)O</chem>	308.3
79		$C_{19}H_{16}O_4$	<chem>COC1=C(C=C2CC(=O)O)C=C2</chem>	308.3
80		$C_{19}H_{14}O_4$	<chem>[H]C(=O)C1=C(C=C2C(=O)O)C=C2</chem>	306.3

81		$C_{20}H_{16}O_4$	<chem>CC(=O)C1=C(C=C2CC(=CC(=C)C2)=C1O)C1=CC=CC=C1C(O)=O</chem>	320.3
82		$C_{20}H_{16}O_4$	<chem>CC(=O)C1=C2C(=C)C=C(CC2=C1O)C1=CC=C(C=C1)C</chem>	320.3
83		$C_{19}H_{14}O_5$	<chem>OC(=O)C1=C(C(O)=O)C2C(=C)C=C(C2=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	322.3
84		$C_{19}H_{14}O_5$	<chem>OC(=O)C1=C(C(O)=O)C2C(=C)C=C(C2=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	322.3
85		$C_{19}H_{15}NO$ 4	<chem>NC(=O)C1=C2C(=C)C=C(CC2=C1O)C1=CC=C(C=C1)C</chem>	321.3

86		C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO 4	NC(=O)C1=C(C =C2CC(=CC(= C)C2 =C1O)C1=CC= CC=C1)C(O)=O	321.3
87		C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO 2	CC1=C2C(=C) C=C(CC2=CC( C(N) =O)=C1O)C1= CC=CC=C1	291.4
88		C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO 2	CC1=C(C=C2C C(=CC(=C)C2 =C1O)C1=CC= CC=C1)C(N)=O	291.4
89		C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO 3	COC1=C2C(=C )C=C(CC2=CC( C(N) =O)=C1O)C1= CC=CC=C1	307.3
90		C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO 3	COC1=C(C=C2 CC(=CC(=C)C2 =C1O)C1=CC= CC=C1)C(N)=O	307.3

91		C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO 3	[H]C(=O)C1=C 2C(=C)C=C(CC 2 =CC(C(N)=O)= C1O)C1=CC=C C=C1	305.3
92		C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO 3	[H]C(=O)C1=C( C=C2CC(=CC( =C)C2 =C1O)C1=CC= CC=C1)C(N)=O	305.3
93		C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO 3	CC(=O)C1=C2 C(=C)C=C(CC2 =CC(C(N)=O)= C1O)C1=CC=C C=C1	319.4
94		C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO 3	CC(=O)C1=C(C =C2CC(=CC(= C)C2 =C1O)C1=CC= CC=C1)C(N)=O	319.4
95		C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO 4	NC(=O)C1=C( O)C(C(O)=O)= C2C (=C)C=C(CC2= C1)C1=CC=CC =C1	321.3

96		C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO 4	NC(=O)C1=C(C(O)=O)C(O)=C2C(=C)C=C(CC2=C1)C1=CC=CC=C1	321.3
97		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	NC(=O)C1=C(O)C(C(N)=O)=C2C(=C)C=C(CC2=C1)C1=CC=CC=C1	320.3
98		C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	NC(=O)C1=C(C(N)=O)C(O)=C2C(=C)C=C(CC2=C1)C1=CC=CC=C1	320.3
99		C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO 2	CC(=O)C1=C2C=C(C(C)C(N)=O)C(O)=C1C)C1=CC=CC=C1	305.3
100		C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> NO 2	CC(=O)C1=C2C(=C)C=C(CC2=CC(C)C(N)=O)C(O)=C1C)C1=CC=CC=C1	317.4

Fuente: Elaboración propia, 2018.

**Apéndice D. Propiedades fisicoquímicas de los análogos derivados de baicaleína**

Aná- logo	Log P	RM cm <sup>3</sup> /mol	APST Å <sup>2</sup>	D D H	A D H	Átomos totales	Enlaces rotables	Anillos	S (pH 7,4)	Energía de Gibbs (energía de unión)
1	3,1	77.27	86.99	3	5	33	1	3	0,5	-11,6
2	3,37	77.71	86.99	3	5	30	1	3	0,2	-11,6
3	2,97	81.01	86.99	4	5	31	1	3	21,5	-10,7
4	1,82	76.54	113.0	4	6	32	1	3	1,6	-11,3
5	2,46	74.88	107.2	4	6	31	1	3	3,7	-11,5
6	1,52	79.12	86.99	3	5	32	1	3	5,4	-10,3
7	2,91	73.12	86.99	3	5	30	1	3	0,9	-11,9
8	3,53	80.52	86.99	3	5	30	1	3	0,1	-11
9	3,69	86.26	86.99	3	5	30	1	3	0,2	-10,4
10	3,22	77.96	86.99	3	5	33	1	3	0,3	-11,8
11	1,88	77.61	113.0	4	6	32	1	3	1,4	-11,6
12	2,4	74.89	107.2	4	6	31	1	3	2,4	-11,7
13	2,8	80.92	86.99	4	5	31	1	3	22,5	-10,8
14	2,85	73.13	86.99	3	5	30	1	3	0,5	-12
15	1,32	79.13	86.99	3	5	32	1	3	5,7	-10,9
16	3,31	77.72	86.99	3	5	30	1	3	0,2	-11,8
17	3,48	80.54	86.99	3	5	30	1	3	0,1	-11,5
18	3,64	86.28	86.99	3	5	30	1	3	0,2	-11

19	3,22	77.96	86.99	3	5	33	1	3	0,3	-12,3
20	1,88	77.61	113.0	4	6	32	1	3	1,4	-11,5
21	2,4	74.89	107.2	4	6	31	1	3	2,5	-11,8
22	2,8	80.92	86.99	4	5	31	1	3	25,1	-11,6
23	2,85	73.13	86.99	3	5	30	1	3	0,5	-11,9
24	1,32	79.13	86.99	3	5	32	1	3	5,1	-11,2
25	3,31	77.72	86.99	3	5	32	1	3	0,2	-12
26	3,48	80.54	86.99	3	5	30	1	3	0,1	-11,9
27	3,64	86.28	86.99	3	5	30	1	3	0,2	-11,7
28	3,22	77.96	86.99	3	5	33	1	3	0,3	-12
29	1,88	77.61	113.0	4	6	32	1	3	1,4	-11,6
30	2,4	74.89	107.2	4	6	31	1	3	2,4	-11,7
31	2,8	80.92	86.99	4	5	31	1	3	22,5	-10,9
32	2,85	73.13	86.99	3	5	30	1	3	0,5	-12
33	1,32	79.13	86.99	3	5	32	1	3	5,1	-10,4
34	3,31	77.72	86.99	3	5	30	1	3	0,2	-11,8
35	3,48	80.54	86.99	3	5	30	1	3	0,1	-11,5
36	3,64	86.28	86.99	3	5	30	1	3	0,2	-11
37	2,87	75.97	66.76	2	4	32	1	3	0,2	-12,2
38	3,52	75.97	66.76	2	4	32	1	3	0,1	-11,8
39	3,52	75.97	66.76	2	4	32	1	3	0,04	-12,1
40	2,92	76.48	69.92	3	4	32	1	3	0,07	-11,8
41	3,53	75.74	77.76	3	4	32	1	3	268,3	-12,3

42	2,5	71.15	66.76	2	4	29	1	3	0,9	-12
43	3,15	71.15	66.76	2	4	29	1	3	4,1	-11,6
44	3,15	71.15	66.76	2	4	29	1	3	0,2	-11,9
45	2,85	73.13	86.99	3	5	30	1	3	2,3	-11,7
46	2,96	75.74	66.76	2	4	29	1	3	0,24	-12,1
47	3,61	75.74	66.76	2	4	29	1	3	12,3	-11,5
48	3,61	75.74	66.76	2	4	29	1	3	0,04	-11,8
49	3,03	80.22	66.76	2	4	35	2	3	282,3	-12,3
50	3,68	80.22	66.76	2	4	35	2	3	282,3	-11,8
51	3,68	80.22	66.76	2	4	35	2	3	282,3	-12,4
52	2,67	78.19	104.0 6	3	6	32	2	3	298,3	-12,2
53	3,32	78.19	104.0 6	3	6	32	2	3	298,3	-12,5
54	3,97	78.19	104.0 6	3	6	32	2	3	298,3	-11,4
55	3,5	81.01	94.83	3	5	34	2	3	296,3	-11,9
56	4,8	81.01	94.83	3	5	34	2	3	296,3	-12,2
57	4,15	81.01	94.83	3	5	34	2	3	296,3	-12,5
58	4,36	84.58	77.76	3	4	36	2	3	294,3	-13,3
59	4,36	84.58	77.76	3	4	36	2	3	294,3	-13,7
60	3,4	86.56	97.99	4	5	37	2	3	154,7	-13,1
61	3,3	89.09	77.76	3	4	39	2	3	0,19	-11,9
62	3,55	86.40	83.55	3	3	37	2	3	0,02	-13,8

63	3,55	86.40	83.55	3	3	37	2	3	0,02	-13,4
64	4,7	89.35	66.76	2	3	39	3	3	0,02	-13,1
65	4,7	89.35	66.76	2	3	39	3	3	0,02	-12,7
66	3,7	78.80	57.53	2	3	34	1	3	266,3	-12,9
67	4,35	78.80	57.53	2	3	34	1	3	266,3	-12,6
68	4,35	78.80	57.53	2	3	34	1	3	266,3	-13
69	4,05	80.78	77.76	3	4	35	1	3	282,3	-13
70	3,82	80.29	77.76	3	4	35	1	3	282,3	-12,5
71	4,05	80.78	77.76	3	4	35	1	3	282,3	-12,4
72	4,26	87.72	57.53	2	3	38	2	3	0,01	-13,5
73	4,91	87.72	57.53	2	3	38	2	3	0,01	-13,5
74	4,26	87.72	57.53	2	3	38	2	3	0,01	-12,9
75	4,41	83.91	57.53	2	3	35	2	3	0,04	-13,3
76	4,41	83.91	57.53	2	3	35	2	3	0,04	-12,8
77	4,53	87.64	57.53	2	3	38	2	3	21,25	-13,3
78	4,5	89.06	66.76	2	4	39	3	3	308,3	-12,9
79	3,85	89.06	66.76	2	4	39	3	3	76,54	-12,8
80	4,37	89.18	74.60	2	4	37	3	3	37,7	-13
81	4,22	93.00	74.60	2	4	40	3	3	14,8	-12,9
82	4,87	93.00	74.60	2	4	40	3	3	287,1	-13,3
83	4,97	89.85	94.83	3	5	38	3	3	322,3	-13,1
84	4,32	89.85	94.83	3	5	38	3	3	322,3	-12,9
85	4,16	91.68	100.6	3	4	39	3	3	321,3	-12,5

86	3,51	91.68	100.6	3	4	39	3	3	77,07	-12,7
87	4,37	89.46	63.32	2	2	39	2	3	0	-12,9
88	3,72	89.46	63.32	2	2	39	2	3	0	-12,3
89	3,7	90.88	72.55	2	3	40	3	3	0,01	-13,5
90	3,05	90.88	72.55	2	3	40	3	3	0,01	-13,2
91	4,22	91.00	80.39	2	3	38	3	3	0,03	-13,6
92	3,57	91.00	80.39	2	3	38	3	3	0,02	-13,2
93	4,06	94.82	80.39	2	3	41	3	3	0,01	-14,1
94	3,41	94.82	80.39	2	3	41	3	3	0	-13,2
95	4,16	91.68	100.6	3	4	39	3	3	321,3	-13,9
96	3,51	91.68	100.6	3	4	39	3	3	321,3	-12,9
97	3,36	93.50	106.4	3	3	40	3	3	0,03	-14
98	2,71	93.50	106.4	3	3	40	3	3	0,01	-13,3
99	3,5	93.56	60.16	1	2	42	3	2	0.01	-14
100	3,58	97.88	60.16	1	2	43	3	3	0.01	-14,2

Fuente: Elaboración propia, 2018.