



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

TEMA: Determinación del mecanismo de activación biológica del Misoprostol en receptores EP3 de las capas musculares lisas circular y longitudinal del estómago.

Autor: Alexis Sebastián Simbaña Salazar

Director de tesis: Lorena Maribel Meneses Olmedo PhD

Quito, Ecuador

2024

Determinación del mecanismo de activación biológica del Misoprostol en receptores EP3 de las capas musculares lisas circular y longitudinal del estómago.

Determination of the biological activation mechanism of Misoprostol in EP3 receptors of the stomach's circular and longitudinal smooth muscle layers.

RESUMEN

En este estudio computacional se realizó la optimización de dos moléculas análogas entre sí, el Misoprostol y la prostaglandina E1 (PGE1) y el acoplamiento con la enzima 15 - prostaglandina deshidrogenasa (15-PGDH). El objetivo principal de este estudio fue determinar cómo empieza el mecanismo biológico del misoprostol, comparar la eficacia del fármaco con su análogo orgánico y determinar el uso en úlceras gástricas provocadas por antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Esta comparación determinó que tanto en la optimización estructural como en el acoplamiento dentro de la enzima el misoprostol tiene una mejor estabilidad y afinidad, lo que indica que su eficacia es alta para los receptores EP3, que son los encargados de reducir los ácidos gástricos dentro de las paredes estomacales y promover el aumento de las pacas protectoras dentro de las misma.

ABSTRACT

In this computational study, the optimization of two analogous molecules, Misoprostol and prostaglandin E1 (PGE1), and the coupling with the enzyme 15-prostaglandin dehydrogenase (15-PGDH) was carried out. The main objective of this study was to determine how the biological mechanism of misoprostol begins, compare the effectiveness of the drug with its organic analogue and determine its effectiveness for use in gastric ulcers caused by NSAID medications. This comparison determined that both, structural optimization and coupling within the enzyme, misoprostol has better stability and affinity, this assures us that its efficiency performance is high for the EP3 receptors which are responsible for reducing gastric acids within of the stomach walls and promote the increase of the protective bales within it.

INTRODUCCIÓN

Las úlceras gástricas son lesiones en la mucosa gastrointestinal, específicamente en la zona del estómago, que dejan esta área muy vulnerable. Dado que puede causar un sangrado grave o una perforación en las paredes estomacales, se considera un peligro para la salud de una persona, debido a las complicaciones que puede acarrear (Lozano, 2000).

Las causas por las que se da una úlcera gástrica son variadas, sin embargo, una de las principales es el uso continuo de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), los cuales bloquean el canal hidrófobo de la ciclooxigenasa donde se enlaza al sustrato, ácido araquidónico, para evitar la conversión de este en prostaglandina G₂ (PGG₂) (Golan et al., 2017). Esto provoca que no se forme la prostaglandina, dejando a la mucosa gástrica vulnerable a cualquier daño.

El misoprostol es un fármaco análogo de la prostaglandina E₁ (PGE₁) que protege a la mucosa gástrica y ayuda a la cicatrización de heridas. Este fármaco ayuda a la prevención y tratamiento de las úlceras gástricas. Al ser una prostaglandina sintética, inhibe la secreción basal del ácido clorhídrico, disminuye la salida de pepsina y estimula la secreción duodenal del bicarbonato

citoprotector, junto con la producción de la mucosa gástrica (Flores et al., 2013). Para ello, el mecanismo de acción biológico se centra en la estimulación de receptores de prostaglandina de tipo EP₃, los cuales se unen con una alta afinidad a la prostaglandina generando cambios intracelulares, debido a que inhiben la adenosinacilasa, afectando directamente los receptores histamínicos, muscarínicos y de gastrina (Hatae, 2002).

Los casos de úlceras pépticas abarcan un 10 % en enfermedades ácido-pépticas, a nivel mundial, de los cuales un 25 % llegan a tener complicaciones graves (Romero Barrientos, 2016). A nivel mundial, el riesgo de presentar una úlcera gástrica por el consumo prolongado de medicamentos AINE es de 2,7 veces más probable que una persona ordinaria (Quintero Carrión, 2000). Según estudios realizados por la Unidad de Investigación en el Hospital Universitario de Canarias en el año 2000 el 13 % de pacientes desarrollaron una úlcera gástrica, cuando el porcentaje de esta misma es del 0,3 % en la población general.

El objetivo de este estudio fue analizar las interacciones del misoprostol, un análogo de la prostaglandina E₁, con los receptores de tipo EP₃, con el fin de determinar una ruta de acción

bioquímica más estable y evaluar su eficacia en el tratamiento de úlceras gástricas provocadas por el consumo de medicamentos AINE.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el estudio computacional se optimizó la geometría del fármaco y se obtuvieron las frecuencias de vibración. Se graficó la molécula con el programa Gauss View (Dennington et al., 2016) para luego realizar los debidos cálculos con el paquete Gaussian 16 (Frisch et al., 2016) y obtener el mínimo de la energía para el fármaco.

Como método y base de este estudio se utilizó la teoría del funcional de la densidad (DFT), junto con el método B3LYP y el conjunto de bases 6-311G(d,p). Esto nos permitió tener la estructura del fármaco para realizar los cálculos de acoplamiento con los receptores.

La utilización del programa PyMOL (DeLano, 2020) fue fundamental para generar las estructuras moleculares que nos permitieron armar el sistema. Para el estudio de acoplamiento molecular se realizaron los cálculos en los programas AutoDock VINA y AutoDock (Trott, O., Olson, 2010).

Una vez obtenidos los resultados se analizaron todas las afinidades y junto con la mejor afinidad se escogió la mejor

interacción entre el misoprostol y los receptores estudiados.

RESULTADOS

Para este estudio se utilizaron las estructuras optimizadas del misoprostol y la prostaglandina E1, junto a la estructura enzimática de la 15-hidroxilo prostaglandina deshidrogenasa o (15-PGDH), como se puede visualizar en la Figura 1. Una vez realizado la optimización estructural de las dos moléculas, pudimos determinar el nivel energético más estable para cada una. En el caso del misoprostol posee una energía de $-775.028,875$ kcal/mol y la Prostaglandina E1 posee $-751.062,978$ kcal/mol. Estas estructuras, aunque son análogas no presentan la misma energía de optimización.

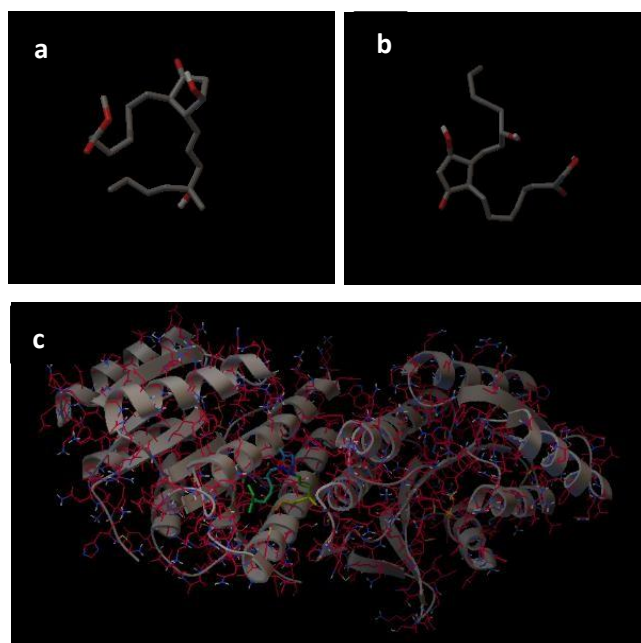


Figura 1. Estructuras optimizadas para la realización del cálculo de acoplamiento. a)

Misoprostol. b) Prostaglandina E1. c) Estructura de la 15-PGDH.

Como sabemos, las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores en reacciones químicas dentro del cuerpo humano, por lo que poseen un sitio activo donde en varios casos empieza la degradación de diversos tipos de moléculas. Para ello la molécula tiene que rotar y buscar la posición más estable dentro de la enzima donde se pueda dar dicha degradación. En este caso la 15-PGDH se encarga de la mayor parte de la modificación y degradación de estas dos moléculas. Para analizar este proceso, se realizó el acoplamiento de estas moléculas con el uso de los programas AutoDock Tools y AutoDock Vina.

Tras realizar el cálculo del acoplamiento de las dos moléculas, pudimos determinar diferentes tipos de uniones en el sitio activo de la enzima, desde la más estables hasta las posiciones que tiene un rango de afinidad mucho menor. En este caso el misoprostol presentó una afinidad de -5,867 kcal/mol mientras que la prostaglandina E1 presento una afinidad de -5,647 kcal/mol, estos cálculos de afinidad se pueden ver reflejadas en la Tabla 1.

Las dos moléculas optimizadas para la unión con la enzima 15-hidroxilo prostaglandina deshidrogenasa (15-PGDH) presentan uniones y afinidades muy similares, sin embargo; como se puede ver en la Figura 2. La posición tanto del misoprostol como la de la prostaglandina E1, aunque están en el mismo sitio activo de la enzima presentan diferentes orientaciones dentro

Tabla 1. Interacciones de la enzima 15-PGDH con el Misoprostol y la prostaglandina E1 de la misma.

Acoplamientos	Afinidad	Afinidad
	Misoprostol (kcal/mol)	prostaglandina E1(kcal/mol)
1	-5,867	-5,647
2	-5,627	-5,420
3	-5,571	-5,366
4	-5,433	-5,269
5	-5,360	-5,261
6	-5,317	-5,084
7	-5,256	-4,977
8	-5,242	-4,933
9	-5,185	-4,753

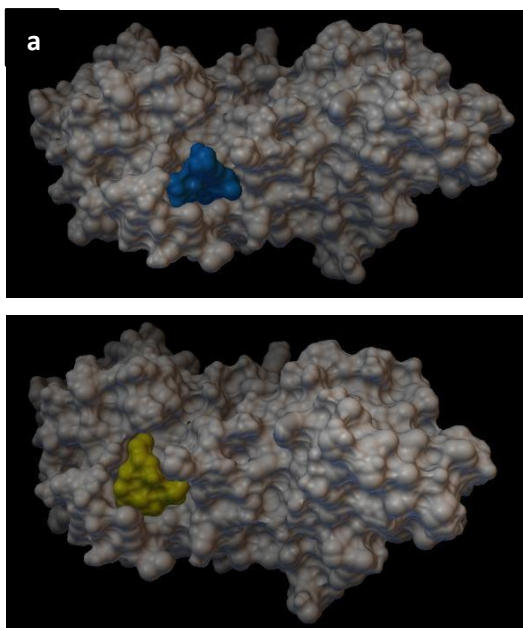


Figura 2. Acoplamiento molecular con la 15-PGDH. a) Acoplamiento del misoprostol. b) Acoplamiento con la prostaglandina E1.

A pesar de tener diferentes tipos de afinidad debido a las pequeñas diferencias estructurales de las dos moléculas. La enzima 15-PGDH actúa sobre la estructura principal de estas dos conformaciones, atacando el grupo funcional del carbono 16 (C-16) en el caso del misoprostol mientras que en la prostaglandina E1 ataca al carbono 15 (C-15) que es donde se encuentra su grupo hidróxido. Como resultado se da una desesterificación en el misoprostol, formando así el metabolito activo que en este es el ácido misoprostólico. En el caso de la PGE1 se da una metilación en el grupo funcional C-15, formando una molécula de grupo 15-ceto.

En cualquiera de los dos casos su degradación dentro del cuerpo pasa por

una omega-hidroxilación y una beta-hidroxilación de la cadena, dando como resultado metabolitos tetranor y dinor.

DISCUSIÓN

Una vez optimizadas las estructuras y determinada la energía para el misoprostol y la prostaglandina E1, se observó que la estructura con mejor estabilidad es el fármaco debido a que tiene un menor valor de energía. Esto quiere decir que su estabilidad estructural está mejor optimizada y conformada.

Collins (1985) menciona en su estudio una mejora considerable del misoprostol contra la PGE1 debido a su conformación estructural ya que a diferencia de la prostaglandina E1, el misoprostol presenta un grupo metoxilo (O-CH₃) en el carbono 20 y un grupo hidroxilo y metilo en el carbono 16.

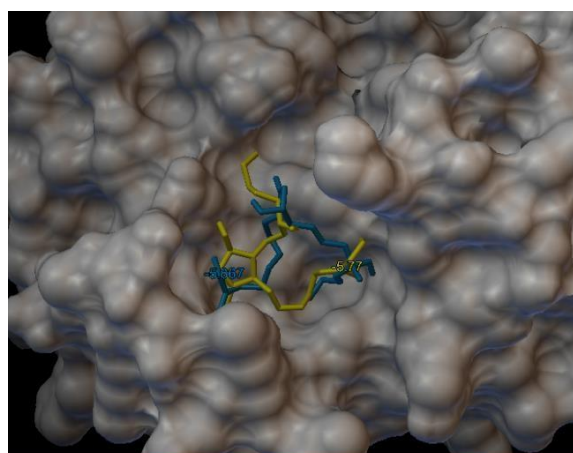


Figura 3. Acoplamiento de las dos moléculas dentro del sitio activo. En azul se muestra la unión del misoprostol. En amarillo se muestra la unión de la PGE1.

Esta modificación estructural al momento de la síntesis del fármaco se debió al desplazamiento del grupo hidroxilo y la integración de un metilo en el C-16, creando una inhibición estérica dentro de la estructura del misoprostol. Debido a esto se dio una mejora en la actividad oral, la selectividad del fármaco y redujo los efectos secundarios presentes en la PGE1 (Collins, 1985).

Por otro lado, en un artículo publicado por Walt (1992), en donde relacionaba que tan efectivo era el misoprostol como tratamiento para diferentes tipos de úlceras, revelo la eficacia del fármaco en diferentes tipos de pacientes con úlceras provocadas por fármacos antiinflamatorios a largo y corto plazo. Esto demuestra que las modificaciones estructurales en el C₁₆ y en el C₂₀ permitieron no solo una menor energía de optimización sino una mejor afinidad al momento del acoplamiento con el sitio activo de la enzima.

Como podemos visualizar en la Figura 3, la afinidad de unión del misoprostol es menor, teniendo una posición en el sitio activo diferente a comparación de la prostaglandina E1. Aunque la ubicación es en la misma zona del sitio activo, se puede observar una ubicación en el espacio muy diferente. Esto nos quiere decir que a pesar de que el misoprostol es un fármaco sintético análogo, su

rendimiento y afinidad es mucho mejor que la PGE1.

De esta manera, el misoprostol tiene un mejor rendimiento dentro del cuerpo humano, con lo cual la estimulación de los receptores de prostaglandina EP3 ubicadas en las células musculares lisas dentro de las paredes estomacales son muchos más eficaces en inhibir la vía para la histamina tipo 2 que inhiben a su paso la adenilil ciclasa (Bakker, 2017). Al disminuir la acción de los receptores histamínicos estos disminuyen su producción de ácido clorhídrico y estimulan la producción de mucosa gástrica y de bicarbonato citoprotector dentro de las paredes estomacales.

CONCLUSIÓN

Con la optimización de las dos geometrías estudiadas y con la tabla de afinidades obtenidas con el Doking podemos comprobar que el misoprostol es mucho más estable y eficaz que la PGE1. Esta eficacia del fármaco se ha demostrado no solo con su nivel energético de estabilidad estructural, sino que también teniendo una mejor afinidad con la enzima 15-PGDH que la prostaglandina E1. Aunque los resultados entre las dos moléculas no varían en gran medida, debemos tener en cuenta que son análogas entre sí, teniendo diferencias estructurales muy

pequeñas dentro de cada una, pero lo cual explica que tengan optimizaciones y punto de uniones distintas. Estas diferencias representan un mejor rendimiento de trabajo dentro del cuerpo humano y como opción muy viable para el tratamiento de úlceras gástricas. Así podemos concluir que el misoprostol tiene un mecanismo biológico mucho más eficaz que la PGE1 dentro del organismo de una persona.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres, mis abuelitos y las personas que estuvieron conmigo durante todo esto años, apoyándome en los momentos más duros y cuando mas necesitaba una palabra de aliento. También agradecer a la persona que me inspiro a hacer este estudio para crear un precedente en el estudio del misoprostol dentro del país.

LISTA DE REFERENCIAS

1. Bakker, R., Pierce, S., & Myers, D. (2017). The role of prostaglandins E1 and E2, dinoprostone, and misoprostol in cervical ripening and the induction of labor: a mechanistic approach. *Archives of gynecology and obstetrics*, 296, 167-179.
2. Collins, P. W., Pappo, R., & Dajani, E. Z. (1985). Chemistry and synthetic development of misoprostol. *Digestive diseases and sciences*, 30, 114S-117S.
3. DeLano, W. L. (2020). The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.3. In Schrödinger LLC.
4. Dennington, R., Keith, T. A. & Millam, J. M. (2016). GaussView 6. In Gaussian.
5. Flores, J., Antonio, J., & Mediavilla, A. (2013). Farmacología Humana. In *Journal of Petrology* (Vol. 5, Issue 1).
6. Frisch, M. J., Trucks, G. W.,..... & Schlegel, H. B. (2016). Gaussian 16, Revision C.01. Gaussian. Inc.: Wallingford CT.
7. Golan, D. E., Jr., A. H. T., Armstrong, E. J., & Armstrong, A. W. (2017). Principios de Farmacología. Bases fisiopatológicas del tratamiento farmacológico. In *Farmacologia*.
8. Hatae, N., Sugimoto, Y. & Ichikawa, A. (2002). Receptores de prostaglandinas: avances en el estudio de la señalización del receptor EP3. *La revista de bioquímica*, 131 (6), 781-784.
9. Lozano, J. A. (2000). La úlcera péptica y su tratamiento (I). Etiología, clínica, diagnóstico y medidas

- higienicodietéticas. Offarm, 19(3), 116.
10. Quintero Carrión, E. (2000). Efectos de los AINE sobre la mucosa gastrointestinal. Revista Espanola de Reumatologia, 27(1).
 11. Romero Barrientos, C., Castellanos Garden, L., Fuentecilla Jiménez, S., García Díaz, M., & Pérez Villalón, E. (2016). Caracterización clínico-epidemiológica de pacientes ingresados con úlcera péptica. Revista Información Científica, 95(5), 683-691. Recuperado de
 12. Trott, O., Olson, A. J. (2010). Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking. Journal of Computational Chemistry, 31(2).
 13. Walt, R. P. (1992). Misoprostol for the treatment of peptic ulcer and antiinflammatory-drug-induced gastroduodenal ulceration. New England Journal of Medicine, 327(22), 1575-1580.