



UN PANORAMA SOBRE ÚLCERAS PÉPTICAS: UREASAS DE *Helicobacter pylori* COMO POSIBLE DIANA TERAPÉUTICA

Luis A. Perez-González ^a, Victoria Lomeli-Sanchez ^a, Mayte Cortes-Mendiola ^a, Eduardo A. Guzmán-Cuevas ^a, Selene Lagunas-Rivera ^b, Eduardo Peña-Cabrera ^a, Yolanda Alcaraz ^{c*}, Miguel A.

Vázquez ^{a*}.

^aDepartamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto. mvazquez@ugto.mx

^bCátedra CONACyT, Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Gto., 36050, México

^cDepartamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto. yolaalca@ugto.mx

Resumen

En México, las enfermedades gastrointestinales tanto de origen infeccioso como no infeccioso se presentan en más del 80% de la población, siendo las principales causas los malos hábitos alimenticios, estrés, polifarmacia, así como la presencia del microorganismo *Helicobacter pylori*. El tratamiento indicado para este padecimiento es diferente para cada paciente, el cual depende principalmente del tipo y origen de la enfermedad gastrointestinal. El presente trabajo se enfoca en proporcionar un panorama sobre diferentes dianas terapéuticas para atender el padecimiento de úlceras pépticas haciendo énfasis en el papel de las ureasas de *Helicobacter pylori* como nuevo blanco biológico.

Palabras clave: Enfermedad gastrointestinal; *Helicobacter pylori*; úlceras pépticas; ureasas.

AN OVERVIEW OF PEPTIC ULCERS: *Helicobacter pylori* UREASE AS A POSSIBLE THERAPEUTIC TARGET.

Abstract

In Mexico, more than 80% of the population has infectious and non-infectious gastrointestinal problems, the main causes are attributed to poor eating habits, stress, polypharmacy, and the presence of *Helicobacter pylori*. The treatment of this condition will be different depending on the sensitivity of the patient and the type/origin of the gastrointestinal disease. This work focuses on giving an overview of different therapeutic targets to treat the condition from a chemical approach.

Palabras clave: Gastrointestinal disease; peptic ulcers; *Helicobacter pylori*; ureases.



1. Introducción

En México, hasta antes de la pandemia por COVID-19, el Sistema Nacional de Salud informó que las enfermedades más atendidas fueron las relacionadas con infecciones intestinales, infecciones de vías urinarias, úlceras, gastritis y duodenitis, gingivitis y enfermedades periodontales, conjuntivitis, otitis, obesidad, vulvovaginitis e hipertensión arterial. (Centro de Investigación en Evaluación y Encuestas, s.f.) Los padecimientos del sistema digestivo, conocidos también como enfermedad ácido-péptica, incluyen úlceras, reflujo gastroesofágico y lesión de la mucosa gástrica. (Fahey y col., 2006) En cada uno de los trastornos, la erosión de la mucosa o úlcera se origina cuando el efecto cáustico de diversos factores agresivos sobrepasa los factores de defensa de la mucosa gastrointestinal, entre los que destacan, la secreción de moco y prostaglandinas, el flujo sanguíneo, así como los procesos de regeneración posteriores al haber ocurrido una lesión celular. (Serafim y col., 2020) Más del 90% de los casos de úlcera péptica son asociados a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* (*Hpy*) (Figura 1) o por el uso de antiinflamatorios no esteroideos. (Katzung, 2022)

2. Generalidades

En el proceso fisiológico de la secreción ácida participan las células parietales y células similares a las enterocromafines ECL (siglas en inglés de *Enterochromaffin-like cells*). Las células parietales, ubicadas en la parte superior de las glándulas oxínticas del estómago, contienen receptores para gastrina, histamina (H_2) y acetilcolina (Figura 2).

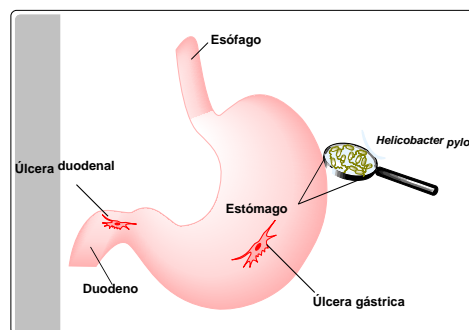


Figura 1. Localización de las úlceras en el sistema digestivo

De esta manera, cuando la acetilcolina o la gastrina se unen a sus receptores se incrementa el calcio intracelular provocando el estímulo de las proteínas cinasas para activar la secreción del ácido a través de la bomba de protones por la ATPasa H^+/K^+ localizada en la superficie canalicular. Alrededor de las células parietales se localizan las ECL las cuales tienen receptores para gastrina y acetilcolina, cuando son activados promueven la liberación de histamina. Esta última se une al



receptor H_2 de la célula parietal, lo que origina la activación de adenilciclase, que incrementa el monofosfato de adenosina cíclico intracelular (cAMP). (Chen y col., 2006) El cAMP activa las proteínas cinasas que estimulan la secreción de ácido a través de la ATPasa H^+/K^+ . Se cree que el mayor efecto de la gastrina sobre la secreción de ácido está mediado indirectamente por la liberación de histamina por las células ECL, más que, a través de estimulación directa de la célula parietal. En resumen, la generación de protones por las células parietales de la mucosa gástrica está mediada por tres vías: la acetilcolina que estimula a los receptores muscarínicos M_3 , la histamina que estimula a los receptores H_2 y la gastrina la cual ejerce

su efecto directo o indirectamente al estimular la liberación de histamina por las células ECL. Los tres procesos son mediados por la enzima ATPasa ($ATPasa H^+, K^+$) la cual constituye la etapa final de la secreción de ácido. (Fock y col., 2008)

2.1 Fármacos utilizados para reducir la secreción ácida.

Diferentes fármacos han sido desarrollados para bloquear la producción de ácido; y con base a su mecanismo de acción se clasifican en 2 grupos: 1) inhibidores de la bomba de protones “PPIs” (siglas en inglés de *proton pump inhibitors*) y; 2) antagonistas de los receptores H_2 de histamina (Figuras 3 y 4, respectivamente).

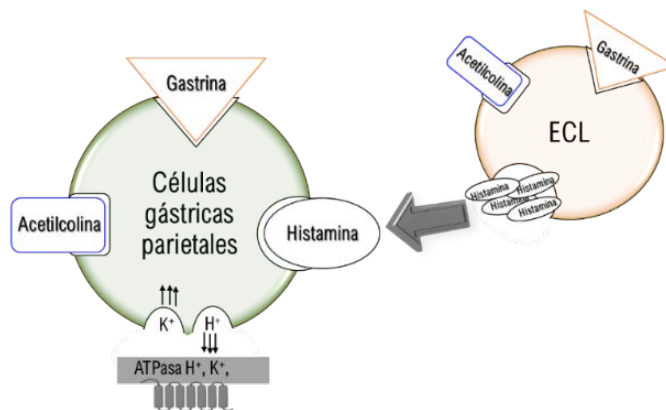


Figura 2. Secreción de iones H^+ por las células parietales de la mucosa gástrica.

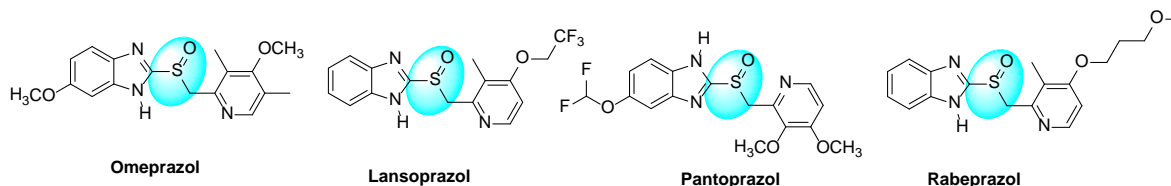


Figura 3. Estructuras de los fármacos más empleados como inhibidores de la bomba de protones.

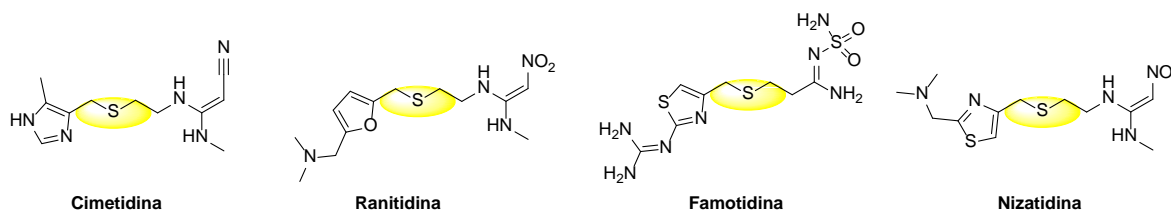


Figura 4. Estructuras de los fármacos antagonistas de los receptores H₂.

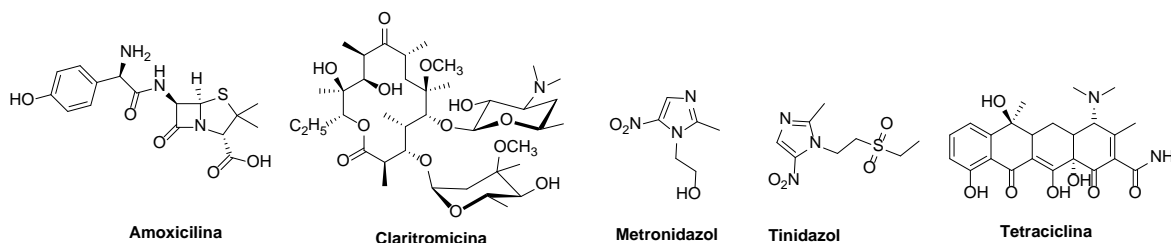


Figura 5. Estructuras de fármacos con actividad antibiótica.

El manejo más exitoso de la supresión de producción de ácido gástrico se logra mediante el uso, principalmente, de los PPIs los cuales resultan más efectivos que los antagonistas H₂ en el tratamiento de la enfermedad por reflujo gastroesofágico y enfermedad de úlceras pépticas. (Yeomans y col., 1998) Dentro de los fármacos más empleados destacan el lansoprazol, omeprazol, pantoprazol y rabeprazol, los cuales muestran al sulfoxido como grupo funcional común

(R¹R²S=O) (Figura 3). Sin embargo, el uso prolongado de los inhibidores de la bomba de protones, especialmente en dosis altas, puede aumentar el riesgo de daño renal, hepático y cardiovascular, demencia, tumores endocrinos del tracto gastrointestinal y alteraciones en la absorción de nutrientes, aunque las pruebas hasta ahora no son contundentes, esto ha permitido generar estudios sobre el perfil de seguridad. (Yibirin y col., 2021)



Por otro lado, los antagonistas del receptor H_2 , reducen la secreción de ácido gástrico estimulada por histamina como se describió previamente. (Sanger y Depoortere, 1998) Estos fármacos muestran inhibición competitiva a nivel del receptor H_2 de la célula parietal y suprimen la secreción basal y la secreción de ácido. Actualmente, existen cuatro antagonistas H_2 : cimetidina, ranitidina, famotidina y nizatidina (Figura 4), los cuales contienen un grupo funcional común tioéter (R^1-S-R^2). Cabe destacar que el uso de estos fármacos ha disminuido en gran medida por el surgimiento y auge de los PPIs, éstos tienen ventajas sobre los bloqueadores H_2 al poseer mayor capacidad inhibitoria y un mejor perfil de seguridad.

2.2 *Helicobacter pylori* (*Hpy*) y su relación con las enzimas ureasas.

Hpy es un microorganismo que coexiste con el humano infectando de manera crónica al epitelio gástrico. Actualmente, se calcula que dos tercios de la población mundial tienen infección por *Hpy*. Sin embargo, a pesar de esta elevada prevalencia no siempre causa enfermedad gástrica, excepto cuando se rompe el equilibrio, (Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y Rena-

les., s. f.) de tal manera que, bajo esta situación, *Hpy*, es sin dudar, el principal generador de cuadros ulcerosos. Una característica de *Hpy* es el contenido de grandes cantidades de las enzimas ureasas, las cuales contribuyen a su supervivencia ya que al hidrolizar urea genera amoniaco y carbonatos, los cuales, neutralizan el ácido clorhídrico permitiendo al *Hpy* colonizar eficientemente el tracto digestivo. Esta aseveración es respaldada al analizar la concentración del amonio (NH_4^+) en pacientes infectados por este microorganismo, la cual es elevada comparada a los no infectados. (Thomsen y col., 1989) Hay evidencia de que genéticamente este microorganismo presenta diferentes especies y está relacionada con la agresividad hacia la mucosa y su repercusión a la variabilidad en la inflamación. (Shimoyama y Crabtree, 1998) También se ha reportado que provoca cálculos infecciosos (litiasis infecciosa, -infección crónica de las vías urinarias-) que tiene relación con la patogénesis de la pielonefritis (infección de la vía urinaria alta), la encefalopatía hepática (deterioro de la función cerebral debido a enfermedad hepática grave), urolitiasis, incrustación de catéteres y coma hepático (fallo de la función hepática). (Schindler, 2000) Asimismo, el exceso de



amoniaco también puede provocar alteraciones en la síntesis de ADN, riesgos de infecciones virales y carcinogénesis. (Tsuji y col., 1992) Por lo tanto, considerando que *Hpy* es un factor principal de riesgo de la mayoría de las úlceras de estómago y del intestino delgado superior, cuando se encuentra *Hpy* en el tubo digestivo, se emplea una combinación de antibióticos para su eliminación. Estos antibióticos pueden ser la amoxicilina, la claritromicina, metronidazol, tinidazol, y tetraciclina (Figura 5). (Kim, Choi, y Chung 2015) Es impredecible atender la infección y erradicar la presencia de *Hpy*, ya que también ha sido clasificado como carcinógeno del grupo I. (Tytgat 2011) No obstante, el tratamiento con estos fármacos no ha resultado ser completamente eficaz, debido a problemas como la resistencia, la falta de cumplimiento terapéutico o por la degradación en el entorno del estómago. (Ierardi y col., 2013; Nishizawa y col., 2012) Por lo tanto, la inhibición de las ureasas resulta una estrategia alternativa para el tratamiento de las enfermedades causadas por *Hpy*.

2.3 Estrategia desde el enfoque de las enzimas ureasas para eliminar *Helicobacter pylori*.

Las ureasas son producidas por bacterias, hongos, plantas y organismos invertebrados, en todas estas especies su estructura primaria y sitio activo es conservado. (Krajewska, 2009) Estas enzimas catalizan la hidrólisis de urea a ácido carbónico y amoniaco (Figura 6). (Mobley y col., 1995) Su nomenclatura EC3.5.1.5, se describe como enzimas hidrolasas: (EC3) que actúan sobre enlaces C-N, incluyen péptidos (EC3.5), enfocadas a amidas lineales (EC3.5.1) del tipo ureasa (EC3.5.1.5), tienen como co-factor un complejo dimérico de Ni (II) coordinado con un grupo hidroxilo y una lisina carbamilada (esto explica porque el CO₂ es imprescindible para la activación de la apoenzima -proteína de una holoenzima-). Su peso molecular es alrededor de 545,000 Da y está constituida por seis subunidades idénticas de 90,790 Da organizada en una estructura bipyramidal trigonal, (Kojima y col., 2006) de los cuatro dominios estructurales que posee, uno presenta el centro dimérico de Ni con separación de 3.5 Å entre ellos (Figura 7, III). (Zambelli y col., 2014) Considerando las características de las enzimas, muchas de ellas no son funcionales de forma inmediata, en este caso las ureasas necesitan unirse a dos Ni, para ello, tres enzimas (UreD, UreF y UreG, Figura 7, I) forman un complejo capaz



de ensamblar al metal en el lugar correcto, por lo que al impedir la formación de este complejo (UreD-UreF-UreG) se inhibe la síntesis de ureasa activa. (Lebrette y col., 2014) Como se indicó en párrafos anteriores, la generación de amoníaco y ácido carbónico es el resultado de la acción de las ureasas (Figura 6). Es ampliamente aceptado que el papel de los dos Ni(II) es esencial; se postula que uno de ellos coordina a la urea (acción

de un ácido de Lewis) y el otro, enlaza y activa al agua. (Jabri y col., 1995) La enzima en su conformación abierta recibe a la urea y disocia moléculas del agua generando un cambio conformacional de algunos aminoácidos como la lisina, que ayuda a la transferencia de hidrógenos, ocasionando que la molécula de agua ataque a la urea a través de una típica adición nucleofílica hacia el grupo carbonilo (Figura 8). (Karplus y col., 1997)

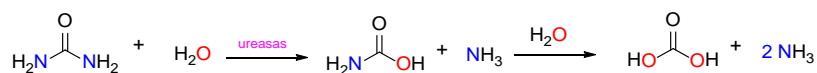


Figura 6. Esquema general de la hidrólisis de urea.

Algunos estudios han propuesto que un posible inhibidor de este tipo de enzimas debe presentar tres requerimientos: 1) grupos quelantes de níquel; 2) eficientes grupos donantes y aceptores de hidrógeno (estados de protonación); y 3) estructura flexible en puntos de unión. (Benini y col., 2013) Para un diseño más certero de los posibles inhibidores, es importante conocer preferentemente la estructura cristalográfica de la enzima y su relación con su inhibidor. En el banco de datos

de proteínas (PDB) han sido publicados diferentes estructuras de complejos de ureasas, por ejemplo, la estructura de *Sporosarcina pasteurii* coordinada con mercaptoetanol (PDB 1UPB), (Benini y col., 1998) *Helicobacter pylori* coordinada con el ácido acetohidroxámico (Lithostat) (PDB 1E9Y), (Ha y col., 2001) y *Klebsiella aerogenes* (PDB 1FWE). (Pearson y col., 1997)

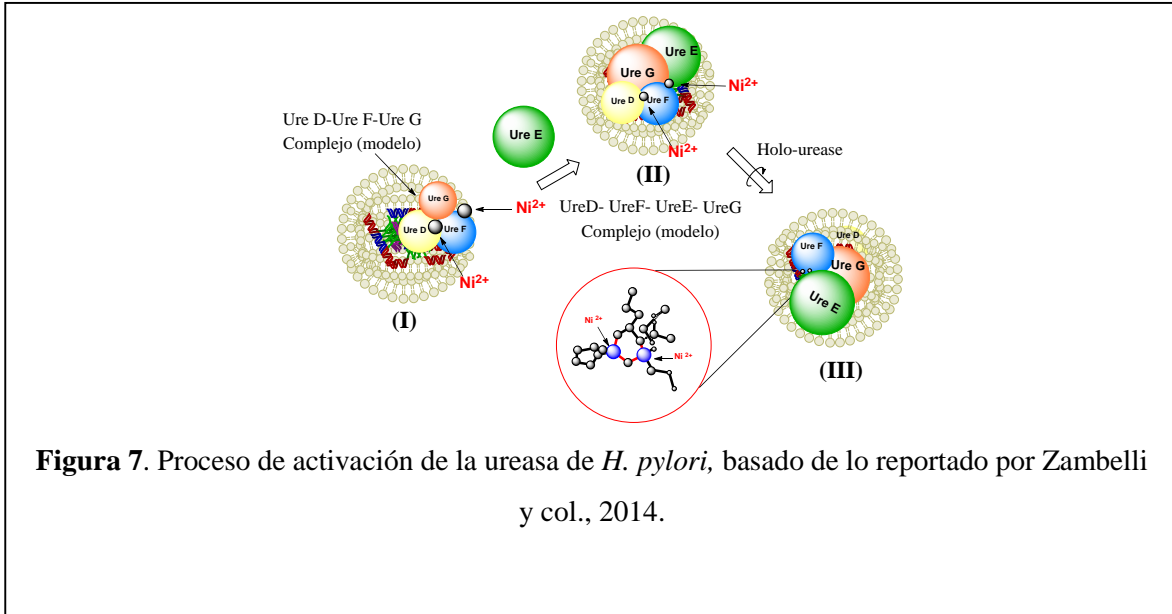


Figura 7. Proceso de activación de la ureasa de *H. pylori*, basado de lo reportado por Zambelli y col., 2014.

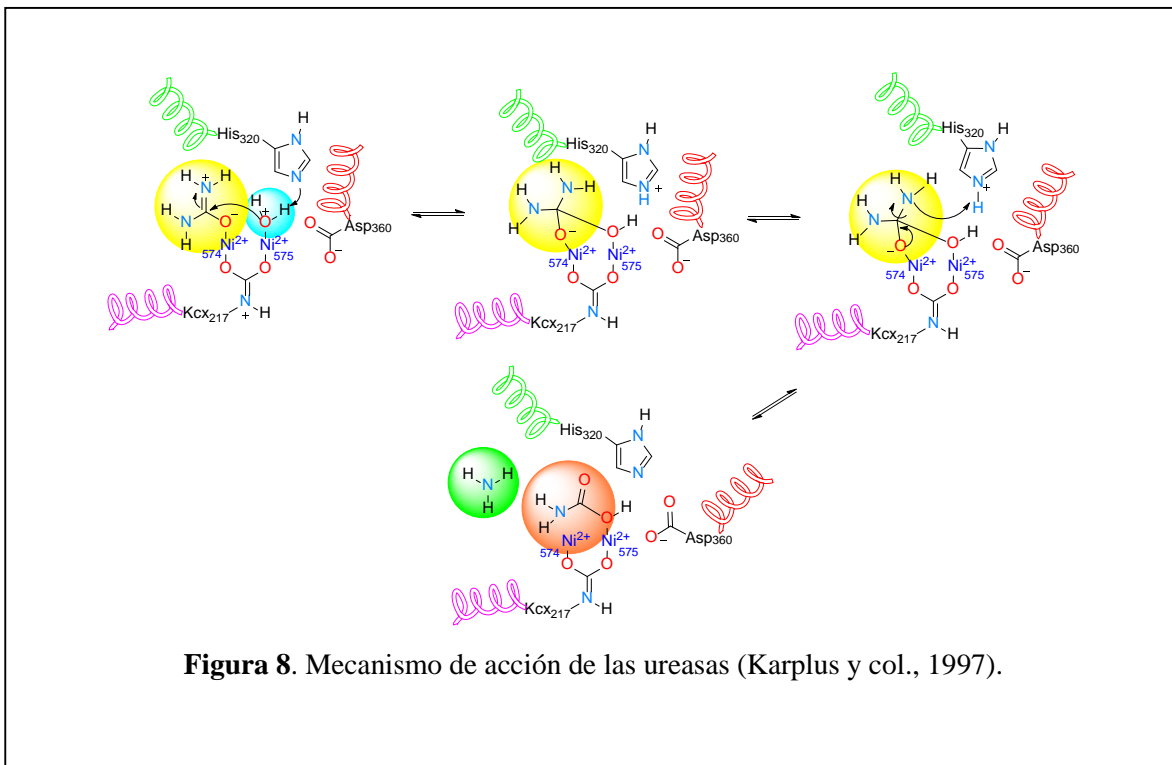


Figura 8. Mecanismo de acción de las ureasas (Karplus y col., 1997).



Del análisis bibliográfico, se han reportado estructuras que contribuyen al modelo farmacofórico, entre ellas se encuentran compuestos derivados de urea (Figura 9, 1) que han mostrado ser efectivas, (Saeed y col.,

2017) otras como barbitúricos y tiobarbitúricos (Figura 9, 2), hidrazonas (Figura 9, 3), (Sheng y col., 2015) iminotiazolinas (Figura 9, 4), (Saeed y col., 2016) cianoacetamidas, (Rauf y col., 2015) moléculas que imitan a la urea (bioisóster).

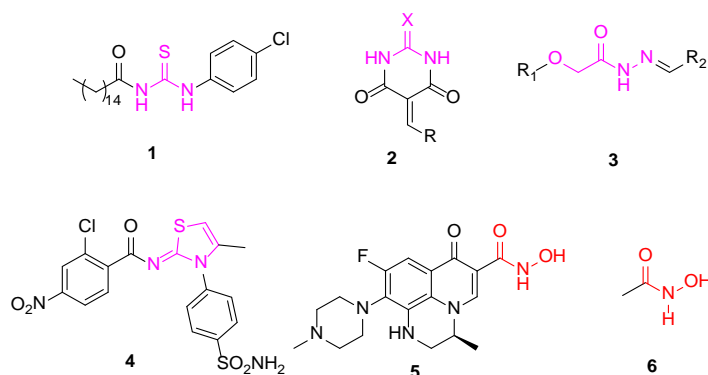


Figura 9. Estructuras de compuestos inhibidores de ureasas.

Por otro lado, las quinolonas son núcleos empleados como agentes antibacteriales de amplio espectro, por lo que, su uso como inhibidores de ureasas es evidente, se reportó que este tipo de heterociclos actúan inhibiendo la síntesis de ADN (Figura 9, estructura 5), cuando fueron probados en *Hpy* y *Proteus mirabilis* los estudios de modelado molecular sugieren que el ácido carboxílico interactúa con Ni. (Zaborska y col., 2007) Otros derivados han sido desarrollados y evaluados donde el ácido carboxílico ha sido transformado al derivado de ácido hidroxámico. (Abdullah y col., 2017) En 1983, la FDA

aprobó el ácido acetohidroxámico (AHA, Lithostat, compuesto 6, Figura 9) para tratar las infecciones urinarias crónicas por ruptura de urea y la hiperamonemia asociada a la cirrosis hepática causada por *Hpy* ureasa-positiva (Zullo, A. y col., 2020). Hasta ahora, el AHA es el más estudiado y empleado como prototipo de esta clase de compuestos. Se trata de un inhibidor de la ureasa muy potente con un valor K_i de 5 μ M (Griffith y col., 1978). Sin embargo, el AHA induce efectos secundarios graves, como teratogénesis y anemia hemolítica (Kappaun, y col., 2018 y;



National Center for Biotechnology Information, 2020). Estos efectos secundarios indeseables han provocado que el AHA en los últimos años sea menos empleado, lo que ha dado lugar a un aumento de la investigación sobre inhibidores alternativos de la ureasa con perfiles toxicológicos menos graves. Una premisa sobre la selección de la ureasa como diana terapéutica facilita la eliminación de la virulencia bacteriana con terapia combinada (antibióticos) sin afectar en gran medida a la viabilidad de las bacterias.

3. Conclusiones

Uno de los problemas de salud pública de alta incidencia en la sociedad son las enfermedades gastrointestinales agudas o crónicas. A pesar de que existen grupos de fármacos que pueden actuar mediante diferentes vías para reducir la secreción de ácido gástrico, la población en general no tiene un adecuado control de estos padecimientos, por lo que, además, de estas medidas se requiere de un cambio de hábitos alimenticios, manejo de estrés y la incorporación de ejercicio físico. Por otro lado, la alta incidencia de la bacteria *Hpy* y su correlación con afecciones gastrointestinales, redireccionan la estrategia de inhibir ureasas como dianas terapéuticas

contra *Hpy*. Esta aproximación es una vía adecuada en la búsqueda de alternativas terapéuticas adicionales y como consecuencia el desarrollo de nuevas estructuras químicas.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero proporcionado por DAIP-UG (058/2023), verano de investigación UG-2023 y al Laboratorio Nacional UG-CONACyT (# 316011).

Bibliografía

- Abdullah, M. A. A., Abuo-Rahma, G. E.-D. A. A., Abdelhafez, E.-S. M. N., Hassan, H. A., & Abd El-Baky, R. M. (2017). Design, synthesis, molecular docking, anti-*Proteus mirabilis* and urease inhibition of new fluoroquinolone carboxylic acid derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 70, 1–11.
- Benini, S., Rypniewski, W., Wilson, K., Ciurli, S., & Mangani, S. (1998). The complex of *Bacillus pasteurii* urease with β -mercaptoethanol from X-Ray data at 1.65-Å resolution. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 3, 268–273.



- Benini, S., Kosikowska, P., Cianci, M., Mazzei, L., Vara, A. G., Berlicki, L., & Ciarli, S. (2013). The crystal structure of *Sporosarcina pasteurii* urease in a complex with citrate provides new hints for inhibitor design. *Journal of Biological Inorganic Chemistry: JBIC: A Publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*, 18(3), 391–399.
- Centro de Investigación en Evaluación y Encuestas. (s.f.). Sistema Nacional de Salud. Atención médica en los estados. Recuperado el 18 de abril de 2023, de <https://ciep.mx/sistema-nacional-de-salud-atencion-medica-en-los-estados/>
- Chen, D., Aihara, T., Zhao, C. M., Håkanson, R., & Okabe, S. (2006). Differentiation of the Gastric Mucosa I. Role of histamine in control of function and integrity of oxyntic mucosa: Understanding gastric physiology through disruption of targeted genes. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 291(4), 539–544.
- Fahey, J. M., Grassi, J. M., Reddi, J. M., & Greenblatt, D. J. (2006). Acute zolpidem administration produces pharmacodynamic and receptor occupancy changes at similar doses. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 83(1), 21–27
- Fock, K. M., Ang, T. L., Bee, L. C., & Lee, E. J. D. (2008). Proton pump inhibitors: do differences in pharmacokinetics translate into differences in clinical outcomes? *Clinical Pharmacokinetics*, 47(1), 1–6
- Griffith DP, Gibson JR, Clinton CW et al (1978) Acetohydroxamic acid: clinical studies of aurease inhibitor in patients with stag-horn renal calculi. *J Urol* 119:9–15
- Ha, N. C., Oh, S. T., Sung, J. Y., Cha, K. A., Lee, M. H., & Oh, B. H. (2001). Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease. *Nature Structural Biology*, 8(6), 505–509.
- Harvard Health Publishing. (s.f.). Peptic ulcer overview. Harvard Health Publishing. Recuperado el 18 de abril de 2023, de <https://www.health.harvard.edu/digestive-health/peptic-ulcer-overview>
- Ierardi, Enzo et al. 2013. “How Antibiotic Resistances Could Change *Helicobacter Pylori* Treatment: A Matter of Geography?” *World Journal of Gastroenterology: WJG* 19(45): 8168.
- Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y Renales. (s. f.). Enfermedades Digestivas. Recuperado el 18 de abril de 2023, de <https://www.niddk.nih.gov/health-information/digestive-diseases>



- Jabri, E., Carr, M. B., Hausinger, R. P., & Karplus, P. A. (1995). The crystal structure of urease from *Klebsiella aerogenes*. *Science*, 268(5213), 998–1004.
- Karplus, P. A., Pearson, M. A., & Hausinger, R. P. (1997). 70 Years of Crystalline Urease: What Have We Learned? *Accounts of Chemical Research*, 30(8), 330–337.
- Kappaun, K., Regina, A., Regina, C. & Ligabue-braun, R. (2018). Ureases: Historical aspects, catalytic, and non-catalytic properties—A review. *J. Adv. Res.* 13, 3–17.
- Katzung, B. G., & Trevor, A. J. (2022). *Farmacología básica y clínica* (15th ed.). Ciudad de México: El Manual Moderno.
- Kim, Su Young, Duck Joo Choi, and Jun-Won Chung. 2015. “Antibiotic Treatment for *Helicobacter Pylori*: Is the End Coming?” *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics* 6(4): 183.
- Kojima, S., Bohner, A., & von Wirén, N. (2006). Molecular Mechanisms of Urea Transport in Plants. *The Journal of Membrane Biology*, 212(2), 83–91.
- Krajewska, B. (2009). Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: A review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 59(1), 9–21.
- Lebrette, H., Brochier-armanet, C., Zambelli, B., de Reuse, H., Borezée-Durant, E., Ciurli, S., & Cavazza, C. (2014). Promiscuous Nickel Import in Human Pathogens: Structure, Thermodynamics, and Evolution of Extracytoplasmic Nickel-Binding Proteins. *Structure*, 22(10), 1421–1432.
- Mégraud, F., Neman-Simha, V., & Brüggemann, D. (1992). Further evidence of the toxic effect of ammonia produced by *Helicobacter pylori* urease on human epithelial cells. *Infection and Immunity*, 60(5), 1858–1863.
- Mobley, H. L., Island, M. D., & Hausinger, R. P. (1995). Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological Reviews*, 59(3), 451–480.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Acetohydroxamic acid, CID=1990, 1–19. (2020) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/pound/1990#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
- Nishizawa, Toshihiro et al. 2012. “Proton Pump Inhibitor-Amoxicillin-Clarithromycin versus Proton Pump Inhibitor-Amoxicillin-Metronidazole as First-Line *Helicobacter Pylori* Eradication Therapy.” *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 51(2): 114–16.
- Pearson, M. A., Michel, L. O., Hausinger, R. P., & Karplus, P. A. (1997). Structures of



- Cys319 variants and acetohydroxamate-inhibited *Klebsiella aerogenes* urease. *Biochemistry*, 36(26), 8164–8172
- Rauf, A., Nazish, K. A., Nasim, F. H., Yaqoob, A., & Qureshi, A. M. (2015). Synthesis of novel cyanoacetamides derivatives and their urease inhibition studies. *European Journal of Chemistry*, 6(2), 163–168.
- Saeed, A., Mahmood, S. U., Rafiq, M., Ashraf, Z., Jabeen, F., & Seo, S. Y. (2016). Iminothiazoline-Sulfonamide Hybrids as Jack Bean Urease Inhibitors; Synthesis, Kinetic Mechanism and Computational Molecular Modeling. *Chemical Biology and Drug Design*, 87(3), 434–443.
- Saeed, A., Ur-Rehman, S., Channar, P. A., Larik, F. A., Abbas, Q., Hassan, M., Raza, H., & Seo, S. Y. (2017). Jack Bean Urease Inhibitors, and Antioxidant Activity Based on Palmitic acid Derived 1-acyl-3- Arylthioureas: Synthesis, Kinetic Mechanism and Molecular Docking Studies. *Drug Research*, 67(10), 596–605.
- Sanger, D. J., & Depoortere, H. (1998). The Pharmacology and Mechanism of Action of Zolpidem. *CNS Drug Reviews* 4(4), 323–340.
- Serafim, C., Araruna, M. E., Alves Júnior, E., Diniz, M., Hiruma-Lima, C., & Batista, L. (2020). A Review of the Role of Flavonoids in Peptic Ulcer (2010–2020). *Molecules*, 25(22). MDPI.
- Schindler, S. (2000), Reactivity of Copper(I) Complexes Towards Dioxygen. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2000: 2311-2326
- Sheng, G. H., Chen, X. F., Li, J., Chen, J., Xu, Y., Han, Y. W., Yang, T., You, Z., & Zhu, H. L. (2015). Synthesis, crystal structures and urease inhibition of N'-(2-bromobenzylidene)-2-(4-nitrophenoxy) acetohydrazide and N'-(4-nitrobenzylidene)-2-(4-nitrophenoxy)acetohydrazide. *Acta Chimica Slovenica*, 62(4), 940–946.
- Shimoyama, T., & Crabtree, J. E. (1998). Bacterial factors and immune pathogenesis in *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 43(SUPPL. 1), 2–5.
- Thomsen, L., Tasman-Jones, C., Morris, A., Wiggins, P., Lee, S., & Forlong, C. (1989). Ammonia produced by *Campylobacter pylori* neutralizes H⁺ moving through gastric mucus. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 24(6), 761–768.
- Tytgat, G N J. 2011. “Etiopathogenetic Principles and Peptic Ulcer Disease Classification.” *Digestive Diseases* 29(5): 454–58.



- Tsujii, M., Kawano, S., Tsuji, S., Nagano, K., Ito, T., Hayashi, N., Fusamoto, H., Kamada, T., & Tamura, K. (1992). Ammonia: a possible promotor in Helicobacter pylori-related gastric carcinogenesis. *Cancer Letters*, 65(1), 15–18.
- Wilcox, P. E. (1970). Chymotrypsinogen-chymotrypsins. *Methods in Enzymology*, 19, 64-108.
- Yeomans ND, Tulassay Z, Juhász L, Rácz I, Howard JM, van Rensburg CJ, et al. (1998). A Comparison of Omeprazole with Ranitidine for Ulcers Associated with Non-steroidal Antiinflammatory Drugs. *New England Journal of Medicine*, 338(11), 719–726
- Yibirin, M., De Oliveira, D., Valera, R., Plitt, A. E., & Lutgen, S. (2021). Adverse Effects Associated with Proton Pump Inhibitor Use. *Cureus*, 13(1), e12759.
- Zaborska, W., Krajewska, B., Kot, M., & Karcz, W. (2007). Quinone-induced inhibition of urease: Elucidation of its mechanisms by probing thiol groups of the enzyme. *Bioorganic Chemistry*, 35(3), 233–242.
- Zambelli, B., Berardi, A., Martin-Di-aconescu, V., Mazzei, L., Musiani, F., Maroney, M. J., & Ciurli, S. (2014). Nickel binding properties of Helicobacter pylori UreF, an accessory protein in the nickel-based activation of urease. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 19(3), 319–334.
- Zullo, A. et al. (2020). Helicobacter pylori and plasma ammonia levels in cirrhotics: Role of urease inhibition by acetohydroxamic acid. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* 30, 496384.