



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE 6 COMPUESTOS MORFOLÍNICOS
(LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313 y LQM-314) Y 6
COMPUESTOS TIOMORFOLÍNICOS (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-
321, LQM-324 y LQM 332) SOBRE LA CONTRACCIÓN DE LA AURÍCULA
DERECHA DE RATA WISTAR MACHO JOVEN”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:
PATRICIA TAMARA CASTILLO GARCÍA

ASESORA:
DRA. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. MÉXICO 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis :
"Determinación del efecto de 6 compuestos Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313 y LQM-314) y 6 compuestos Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324 y LQM-332) sobre la contracción de la aurícula derecha de rata Wistar macho joven".
que presenta la pasante: Patricia Tamara Castillo García
con número de cuenta: 30031750-7 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 7 de Noviembre de 2007

PRESIDENTE	<u>Dra. Luisa Martínez Aguilar</u>	
VOCAL	<u>DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez</u>	
SECRETARIO	<u>Dr. David Quintanar Guerrero</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>QFI. Guadalupe Koizumi Castro</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFB. Jazmín Flores Monroy</u>	

AGRADECIMIENTOS

*“Empieza por hacer lo necesario, después lo que es posible,
y sin darte cuenta estarás haciendo lo imposible”.*

Francisco de Assis

- Ø Como un testimonio de mi infinito aprecio y agradecimiento por toda una vida de esfuerzos y sacrificios brindándome siempre cariño y apoyo cuando mas lo necesite, deseo de todo corazón que mi triunfo Profesional lo sientan como suyo.
- Ø Gracias a mis Padres por sus apoyo y comprensión. Se que esas noches de desvelos por su cansancio de un día arduo de trabajo y su esfuerzo por que no me diera cuenta me hacían dar lo mejor de mi para lograr cumplir mi meta y ¿Qué crees MA? Lo logramos, gracias por todo.
- Ø Gracias a mi hermano (“burro”) por su apoyo, se que es una pieza clave para que yo este aquí, se que casi no te lo digo pero TQM y aunque tu no lo digas lo se por que siempre estas cuando te necesito, ya que “la familia es familia”.
- Ø Gracias a mi hermana, por su apoyo y comprensión, por esas noches que no la dejaba dormir por estudiar, por escucharme y sobre todo por ser mi amiga incondicional.
- Ø Gracias a mi Fal ya que nunca me dejo sola en las frías madrugadas, por no dejarme dormir, por distraerme cuando ya no podía seguir y sobre todo por estar ahí para saber que la vida no es fácil y que hay que luchar por ser el mejor, gracias por cambiar mi vida y ser el apoyo en mi familia.
- Ø Gracias a Jair por aguantar mis locuras, por ayudarme a levantarme cuando me caía, por estar ahí cuando lo necesitaba, se que sin su apoyo no estaría aquí ya que me ayudaste en todo, gracias por ser como eres y por ser una persona tan especial, gracias por dejarme formar parte de tu vida.
- Ø Un amigo es alguien con quien puedes sonreír, llorar pero sobre todo saber que esta ahí en las buenas y en las malas, gracias Luis por ser ese amigo que me aconseja, me regaña, me da patadas, gracias por ser esa persona con la que puedo ser yo, recuerda que “tengo un lápiz y se como utilizarlo”.
- Ø Gracias a mis amigas: Ana, Carmen y Lucy, se que la distancia es cada vez mas grande pero se que las personas valiosas y especiales siempre estarán ahí a pesar de todo.
- Ø Gracias a la familia tortuga: Emma, Fabis, Pam y Miguel por cambiar mi vida, no sabia que lo que te propones lo logras hasta que los conocí, se que si trabajas en equipo, se logra lo posible y lo imposible, los quiero.
- Ø Gracias a todos mis demás amigos, Gaby (por exigirme mas de lo que podía dar), Néstor Pedro, Blanca, Caty en fin a todos los que de una u otra forma contribuyeron para que yo lograré ser un Profesionista.
- Ø Gracias a la Q.F.B. Reyna Sánchez por su apoyo para que yo pudiera terminar mi tesis, por sus enseñanzas pero sobre todo por dejarme formar parte de su equipo de trabajo y contribuir a mi formación profesional.
- Ø Gracias a la Doctora Luisa por aceptarme en su laboratorio aun sin conocerme, gracias por dejarme conocer lo interesante que es la investigación pero sobre todo por enseñarme que nada es fácil y hay que luchar para conseguirlo, gracias a DGAPA-UNAM mediante los proyectos: ÄTT IN 207705, a PAPIME EN2011004 y CATEDRA INI-17 por el apoyo brindado para la realización de este proyecto de tesis.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	I
ABREVIATURAS	III
INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	IV
RESUMEN	VI
1) INTRODUCCIÓN	1
2) OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos particulares	3
3) HIPÓTESIS	4
4) MARCO TEORICO	5
4.1 Diseño de nuevos fármacos	5
4.2 Técnicas para el diseño de nuevos Fármacos	5
4.3 Etapas del desarrollo de nuevos Fármacos.	6
5) RECEPTORES	7
5.1 Definición de receptores	7
5.2 Clasificación de los receptores.	7
5.3 Interacción Fármaco-Receptor	8
5.4 Agonistas y Antagonistas	9
5.5 Receptores adrenérgicos alfa	10
5.6 Vía de señalización de la Fenilefrina	10
6) ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LA ACCION FARMACOLÓGICA	11
6.1 Curvas Concentración-Respuesta	12
6.1.1 Curvas Concentración-Respuesta Gradual	12
6.2 Grafica doble reciproca	13
7) CARACTERÍSTICAS DE LA AURÍCULA DERECHA	15
7.1 Aurícula derecha	15
7.2 Sistema de conducción	16
7.3 Compuestos Morfolínico y Tiomorfolincos	17
8) FASE EXPERIMENTAL	21
8.1 Material	21
8.2 Métodos	22
8.3 Diagrama de la fase experimental	23
9) RESULTADOS	24
10) ANÁLISIS DE RESULTADOS	45
11) Conclusiones	48
12) REFERECIAS	49
ANEXO II Análisis ANOVA un factor	55
ANEXO I Método de doble reciproca	52

ABREVIATURAS

AV	Nodo auriculoventricular
Ca ²⁺	Ion calcio
DAG	Diacilglicerol
E	Efecto
E _{max}	Efecto máximo
F-R	Interacción Fármaco-Receptor
H ₀	Hipótesis inicial
H _i	Hipótesis alterna
GTP	Guanosina trifosfato
GDP	Guanosina difosfato
K _D	Constante de afinidad
PLC	Fosfolipasa C
PIP ₂	Fosfatidil-inositol difosfato
PIP ₃	Trifosfato de inositol
PKC	Proteína cinasa C
PNA	Péptidonatriuretico

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	PAGINA
Tabla 1. Estructuras químicas de los compuestos evaluados en la aurícula derecha de rata	19
Tabla 2. Efecto máximo y K_D (promedios) de cada compuesto LQM 300's	26
FIGURAS	
Figura 1. Efecto de los compuestos Antagonistas de un fármaco	9
Figura 2. Vía de señalización de la Fenilefrina	11
Figura 3. Curva teórica log Concentración –Respuesta	12
Figura 4. Grafica teórica doble recíproca	14
Figura 5. Efecto antagónico no competitivo	14
Figura 6. Efecto antagónico competitivo	14
Figura 7. Estructura del corazón	15
Figura 8. Sistema de conducción	17
Figura 9. Molécula Changrolina dividida en tres regiones	17
Figura 10. Reacción Química de la síntesis de la serie de compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos.	18
Figura 11. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-308 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-308	26
Figura 12. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-309 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-309	27
Figura 13. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-310 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-310	28
Figura 14. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-312 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-312	29
Figura 15. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-313 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-313	30
Figura 16. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-314 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-314	31
Figura 17. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-318 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-318	32
Figura 18. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-319 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-319	33
Figura 19. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-320 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-320	34
Figura 20. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-321 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-321	35
Figura 21. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-324 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-324	36
Figura 22. A) Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-332 B) Grafica Doble recíproca para el compuesto LQM-332	37
Figura 23. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-308	38
Figura 24. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-309	38
Figura 25. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-310	39
Figura 26. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-312	39
Figura 27. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-313	40
Figura 28. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-314	40
Figura 29. Curva concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-318	41
Figura 30. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-319	41
Figura 31. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-320	42
Figura 32. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-321	42
Figura 33. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-324	43
Figura 34. Curva Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-332	43

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de 6 compuestos Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314) 6 compuestos Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM 332) sobre la contracción auricular producida con Fenilefrina, caracterizando la función que ejercen estos compuestos sobre el sistema adrenérgico α_1 mediante la obtención de las constantes de afinidad empleando el método doble recíproca. Se utilizó un modelo *In Vitro* de preparaciones aisladas de corazón de rata Wistar.

La parte experimental se llevo a cabo empleando la aurícula derecha de rata con Fenilefrina un agonista específico de los receptores adrenérgicos α_1 , en ausencia y presencia de los compuestos LQM antes mencionados que funcionan como antagonistas.

Para realizar dicha investigación se realizo una toracotomía y se extrajo el corazón, se aisló la aurícula derecha la cual se colocó en cámaras de tejido aislado bajo condiciones fisiológicas normales, es decir; se colocó en solución de Krebs y con oxigenación (95% de O_2 y 5% de CO_2), a temperatura de 32-35°C. Se ajusto la tensión a 0.5g con la finalidad de producir la contracción isométrica máxima, la cual se registro con sensores integrados a la cámara de tejido aislado, el cual mandaba la señal a la computadora y se registraba con el programa ACQ 381 NEWLEDGE. Se dejaron estabilizar las preparaciones por un periodo de una hora y se realizaron lavados con solución de Krebs cada 15 minutos. Posteriormente se adicionaba la concentración de Fenilefrina (10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} y $10^{-3}M$) realizando la Curva Concentración respuesta a Fenilefrina.

Para realizar las Curvas-Concentración Respuesta a Fenilefrina en presencia del compuesto, la aurícula se dejo incubar durante 1h con el compuesto a evaluar transcurrido este tiempo se realizo la Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina.

Los resultados obtenidos muestran que los compuestos LQM-313, LQM-320, LQM-318, LQM-332, LQM-309 Y LQM-319 presentan un efecto antagónico de tipo no competitivo. Los compuesto LQM-314 y LQM-321 inhiben por completo la respuesta contráctil de la Fenilefrina. El compuesto LQM-308 presenta un antagonismo de tipo competitivo mientras que los compuestos LQM-310, LQM-312 y LQM-324 presentan una tendencia a provocar sinergismo sobre la respuesta a Fenilefrina.

1) INTRODUCCIÓN

Actualmente las enfermedades cardiovasculares aportan el mayor número de muertes anuales en todo el mundo, por lo que se les considera un verdadero problema sobre la humanidad; en México este problema es una de las principales causas de mortalidad¹⁴. Sabemos que el tratamiento de estas patologías es de alto costo debido a que la mayoría de los medicamentos para su tratamiento son transnacionales⁴

Debido a esto se realizan investigaciones nuevas sobre la síntesis de fármacos nuevos que sean útiles en el tratamiento de las cardiopatías en especial para la población mexicana para que puedan acceder a ellos de manera más fácil, es decir que tengan menor costo y sobre todo que hayan sido desarrollados especialmente para esta población. A los fármacos nuevos se le realizan una serie de análisis para determinar si poseen algún efecto farmacológico.

Uno de los análisis para determinar dicho efecto es determinar su mecanismo de acción (farmacodinamia), lo que permite la identificación de su acción primaria, el sitio sobre el cual se lleva a cabo, el tipo de interacción química entre el fármaco y la célula o elemento biológico involucrado, así como la secuencia de cambios bioquímicos y fisiológicos que surgen como consecuencia de la interacción del fármaco en un sistema biológico determinado.^{21, 20} Dicho análisis se realiza empleando un método farmacológico para la identificación de receptores, el cual permite conocer y demostrar la interacción del fármaco con su receptor, esto debido a su afinidad y a su actividad intrínseca, así como la sensibilidad de los receptores en los que el fármaco nuevo actúa de manera específica, en este método podemos emplear dosis muy pequeñas para demostrar dicha relación (dosis-efecto).

Los métodos farmacológicos se basa en el empleo de antagonistas y agonistas específicos en preparaciones de tejidos u órganos aislados (*in vitro*). Cabe señalar que los tejidos son mantenidos en condiciones de viabilidad (soluciones fisiológicas) que conservan su capacidad de respuesta.¹⁹

En el presente trabajo se evaluaron los compuesto morfólinicos y tiomorfólinicos sintetizados mediante un sistema asistido por computadora en el Laboratorio de Química Medicinal a cargo del Dr. Enrique Angeles Anguiano; los cuales han presentado efecto sobre la presión arterial y el ritmo cardiaco al ser evaluados en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio a cargo de la Doctora Luisa Martínez Aguilar.¹⁷ Se determinó el efecto de los compuestos morfólinicos y tiomorfólinicos sobre el sistema adrenérgico α_1 en la aurícula derecha de rata Wistar.

2) OBJETIVOS

2.1 Objetivo General:

Determinar el efecto de 6 compuestos Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314) y 6 compuestos Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM 332) en modelo *in vitro* para conocer la respuesta sobre la contracción muscular producida con Fenilefrina en la preparación aislada de la aurícula derecha de corazón de rata Wistar macho.

2.2 Objetivos Particulares

- Ø Realizar las Curvas Concentración- Respuesta a Fenilefrina en ausencia y presencia de los compuestos Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314) y Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM 332) sobre la contracción de la aurícula derecha de corazón de rata.
- Ø Realizar las Curvas Concentración-% Respuesta a Fenilefrina en ausencia y presencia de los compuestos Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314, y Tiomorfolínicos LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM 332) sobre la contracción de la aurícula derecha de corazón de rata.
- Ø Determinar las constantes de afinidad (K_D) de las Curvas Concentración-Respuesta a Fenilefrina en ausencia y presencia de los compuestos Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314) y Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM 332) mediante el método de doble recíproca.
- Ø Determinar si los compuestos Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314) y Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM 332) presentan sinergismo o antagonismo mediante su constante de afinidad (K_D) y el efecto máximo.

3) HIPÓTESIS

Es importante conocer los mecanismos mediante los cuales los compuestos son capaces de modificar la función de un sistema biológico para producir una respuesta. Debido a esto al evaluar los compuestos empleando un modelo *in vitro* se puede determinar la función que ejercen estos compuestos sobre el sistema adrenérgico α_1 mediante la obtención de las Curvas Concentración-Respuesta a Fenilefrina en ausencia y presencia de los compuestos LQM 300's .

4) MARCO TEORICO

4.1 Diseño de nuevos fármacos.

Es bien sabido que los malos hábitos alimenticios y el sedentarismo traen consigo una serie de problemas a la salud, Las cardiopatías se ha incrementado de manera considerable en México y muchos países del mundo por lo cual los profesionales de la salud (químicos, biólogos, médicos, farmacéuticos entre otros), se dan a la tarea de trabajar en conjunto para poder crear nuevos fármacos que sean de gran utilidad.²¹ Por tal motivo al diseñar un fármaco nuevo los investigadores deben tomar en cuenta que, el fármaco óptimo será aquel que presente mayor índice terapéutico y no necesariamente aquel que presenta mayor actividad biológica. Cuanto mayor sea el índice terapéutico de un fármaco, menor será su riesgo y mayor la tranquilidad con la que se pueda aumentar la dosis hasta conseguir el efecto terapéutico con la intensidad que se desea. Por lo tanto, el diseño de nuevos fármacos debe plantearse como objetivos no solo lograr una buena actividad farmacológica, sino también conseguir que presente lo menos posible efectos tóxicos y adversos^{6, 8}.

4.2 Técnicas para el diseño de nuevos fármacos

Debido a la necesidad que existe entre las personas de mejorar su calidad de vida empleando medicamentos cada vez más seguros y eficaces los investigadores tienen la tarea de realizar rápido las investigaciones para crearlos y satisfacer esta necesidad¹; esto lo llevan a cabo empleando métodos eficientes para el diseño de moléculas que posean actividad farmacológica y así evaluar mayor número de moléculas en menor tiempo; estos métodos deben permitir la optimización de su potencia y el perfil farmacológico para garantizar su efectividad. Algunos de los métodos existentes son: síntesis de análogos, isómeros o isópteros, la modificación de grupos funcionales o del sistema de anillos de la molécula modelo, métodos asistidos por computadora, como la identificación de estructuras farmacóforas por modelaje molecular o de la optimización de la actividad mediante el estudio de relaciones cuantitativas de estructura actividad, entre otros^{8, 6}.

4.3 Etapas del desarrollo de un fármaco¹

El desarrollo de nuevos fármacos abarca diferentes etapas las cuales son: investigación básica la cual comprende una parte química desde el descubrimiento del fármaco nuevo o cabeza de serie, obtenido por cualquiera de los métodos antes mencionados. Posteriormente se manipula la molécula para poder optimizarla, después se realizan ensayos *in vitro* e *in vivo* para determinar así su mecanismo de acción. La siguiente etapa es la del desarrollo preclínico, en esta etapa se estudia su producción a mayor escala, su formulación farmacéutica, su farmacología y su toxicología. La última etapa es el desarrollo clínico, en esta fase por primera vez se realizan estudios en humanos, esta contempla 4 fases; la fase I el objetivo del estudio es establecer la tolerancia (registro de efectos adversos) y la seguridad (no presente toxicidad) mediante el empleo del fármaco en voluntarios sanos.

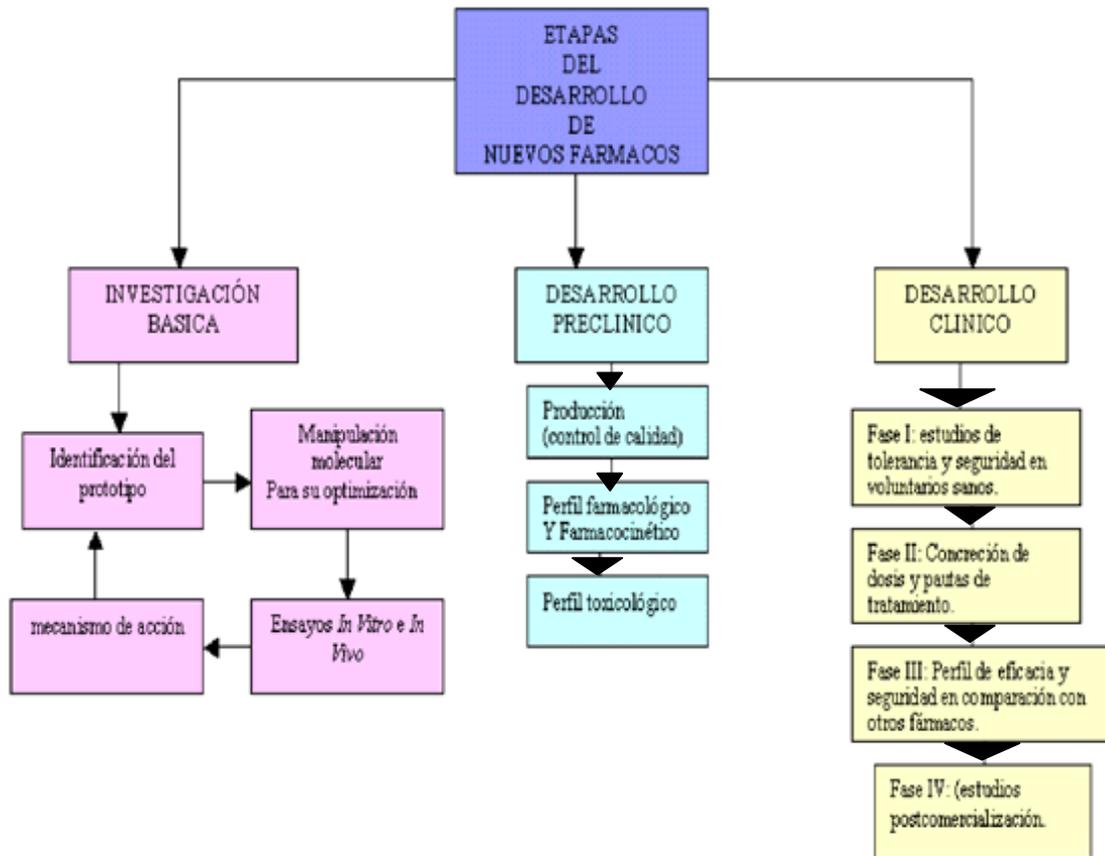


Diagrama 1. Etapas del desarrollo de un fármaco.

Primordialmente la fase II contempla estudios comparativos de diferentes esquemas de dosificación además de determinar pautas de tratamiento. La fase III, sólo se realiza si los datos obtenidos de la fase II son satisfactorios, esta comprende determinar el perfil de

eficacia y seguridad en comparación con otros fármacos. Por último la fase IV que son estudios post-lanzamiento, es decir se continuará monitoreando el comportamiento del producto (p. Ej.; si se presentan efectos adversos)²⁴.

5) RECEPTORES

5.1 Definición

Se ha observado que los efectos de los fármacos son el resultado de sus relaciones con las moléculas corporales; esto ocurre generalmente de una manera muy específica, ocurre por interacción con un tipo de molécula (o grupo de ellas) en concreto. Así se derivó el concepto de receptor, que puede definirse como el componente de una célula u organismo con el cual interactúa (o se presume que lo hace) el fármaco²¹. Son estructuras macromoleculares de naturaleza proteica, asociada a veces a radicales lipídicos o hidrocarbonados, que se encuentran localizados en gran número en las membranas externas de las células, en el citoplasma y en el núcleo celular¹⁵

5.2 Clasificación de receptores

Existen muchas clasificaciones de los receptores de acuerdo a diferentes características que poseen, la que se menciona a continuación es en base a las familias existentes:

- a) **Receptores con actividad enzimática:** son aquellos que están asociados a adenilciclasa, tirosincinasa, guanilpolinilciclasa, por lo tanto, promueven la formación de segundos mensajeros.
- b) **Receptores acoplados a proteínas G:** Está es la más abundante de todas las proteínas asociadas a los receptores. De todos los neurotransmisores conocidos muchas hormonas se unen a receptores asociados a proteínas G. La cadena polipeptídica de aminoácidos tiene 7 dominios que se unen a la membrana, que son cadenas carboxílicas hidrofílicas.
- c) **Receptores de citoplasma o factores de transcripción:** tienen que ver con la síntesis proteica.

5.3 Interacción fármaco-receptor

La interacción del receptor con el fármaco se traduce en una señal que va al interior de la célula con una transducción subsiguiente de la información. En la célula pueden pasar muchos eventos, entre otras cosas la liberación de segundos mensajeros que promueven cambios en la permeabilidad de la membrana. Esta interacción sucede por el establecimiento de uniones químicas, eléctricas o nucleares entre las partes activas de ambas moléculas (F-R). Mientras mas fuerte sea la unión más tiempo persiste el efecto farmacológico. En términos prácticos, esto puede significar la irreversibilidad del efecto. Existen otros tipos de unión que participan en la interacción fármaco-receptor, como los enlaces iónicos, los puentes de hidrógeno y los llamados enlaces de Van der Waals (uniones en las que intervienen fuerzas nucleares)^{15, 19}

Existen dos etapas que median la interacción Fármaco-Receptor:

- Ø **Unión:** el reconocimiento de los dos elementos moleculares.
- Ø **Transducción de la señal y la aparición del efecto.** La mayoría de los receptores responden a proteínas que están en la membrana. Pero no debemos olvidar que existen también proteínas que están en el citoplasma celular y son unidades de transducción que se relacionan con la respuesta de ciertas hormonas, las cuales se unen a los receptores solubles ubicados en el citoplasma, los que tienen que ver con la asociación del ADN, o sea una estructura proteica que se une al fármaco y que también se une al ADN y posteriormente esto es incorporado al núcleo, modificándose de esta manera la síntesis proteica¹⁵.

5.4 Agonista y antagonistas

Los fármacos que actúan sobre los receptores específicos se pueden clasificar según la acción sobre el receptor. Los agonistas activan a los receptores produciendo una respuesta subsiguiente mientras que los antagonistas se unen a los receptores pero sin

producir una respuesta. Los antagonistas reducen la probabilidad de que los agonistas se fijen al receptor y de esta manera se oponen a su acción de forma eficaz al eliminar a los receptores del sistema. Distinguimos dos tipos de antagonismo: el competitivo y el no competitivo^{20, 21}.

Antagonistas competitivos: Estos agentes interactúan en el mismo sitio de los receptores que el fármaco agonista y por ello compiten con la unión del segundo. Un antagonista competitivo desplaza la Curva Concentración-Respuesta hacia la derecha, lo que hace que el fármaco se manifieste como si fuera menos potente^{20, 21}.

Antagonistas no competitivos: Estos fármacos pueden evitar la unión del agonista o impedir que este active al receptor. Un antagonista no competitivo reduce la respuesta máxima y el fenómeno es similar al que produce un inhibidor no competitivo de una reacción catalizada por enzimas^{20, 21}.



Fig., 1. Efecto de los antagonistas de un fármaco. se muestra en color rosa el efecto biológico producido por un agonista completo en color café el efecto biológico producido por la presencia de un agonista con un antagonista competitivo y por ultimo en color azul se presenta el efecto biológico producido por un agonista y un antagonista competitivo. Tomada de la referencia 2.

5.5 Receptores Adrenergicos α

En la década de los setenta se estableció la existencia de dos tipos de receptores alfaadrenérgicos; los α_1 y los α_2 y los β esto se comprobó en diversos órganos que la adrenalina, noradrenalina y otros agonistas con efecto α_1 (pero no los que tenían acción

exclusiva β), eran capaces de inhibir la liberación de noradrenalina provocada por estimulación de fibras adrenérgicas.

Usualmente el receptor α_1 media la respuesta en el órgano efector y el receptor α_2 se localiza presinápticamente y regula la liberación del neurotransmisor. Sin embargo, el receptor α_2 también aparece a nivel postsináptico y coexiste en el músculo liso vascular con el receptor α_1 . Ambos receptores α son importantes para el control del tono vascular.

Hoy se sabe que los receptores α_1 y los α_2 no representan poblaciones homogéneas y se pueden subdividir unos y otros en distintos subtipos. Actualmente la clasificación de los receptores adrenergicos- α_1 ha quedado establecida de la manera siguiente: subtipo α_{1A} (clonado α_{1c}) y nombrado provisionalmente por algunos investigadores $\alpha_{1a/c}$, subtipo α_{1B} (clonado α_{1b}) y subtipo α_{1D} (clonado α_{1d}) y nombrado provisionalmente por algunos investigadores $\alpha_{1a/d}$. Parece que el subtipo α_{1A} estaría más implicado en el mantenimiento del tono basal y la tensión arterial en animales conscientes y, sin embargo, los subtipos α_{1B} y α_{1D} probablemente participan más en la respuesta de los agonistas^{5, 11, 20}.

5.6. Vía de Señalización de la Fenilefrina

La fenilefrina es un potente vasoconstrictor que posee efectos simpaticomiméticos tanto directos como indirectos. El efecto dominante es agonista adrenérgico α_1 ⁵. La Fenilefrina es un adrenérgico- α_1 selectivo, este receptor es un receptor acoplado a proteína G el cual a su vez se encuentra asociado al GTP, tanto la proteína G y GTP regulan la actividad de la PLC (fosfolipasa C), una vez activada, la lipasa desdobla rápidamente el fosfatidilinositol-difosfato (PIP₂) a trifosfato de inositol (IP₃) y diacilglicerol los cuales actúan como segundos mensajeros^{5, 14}.

El IP₃ puede difundirse rápidamente a través del citoplasma y fijarse a un canal de Ca²⁺ almacenado en el citoplasma. Al aumentar la concentración de calcio citoplasmático en la célula se inicia una cadena de reacciones dependientes de este ion, muchas de ellas son mediadas por proteínas fijadoras de Ca²⁺ específicas, la mas común de ellas es la calmodulina, provocando la respuesta celular, es decir la contracción muscular^{5, 14, 16}.

El diacilglicerol permanece en la membrana celular y activa proteinquinasa C, lo que provoca una entrada de calcio en la célula. El exceso de diacilglicerol es destruido por hidrólisis en glicerol más el correspondiente ácido graso⁵.

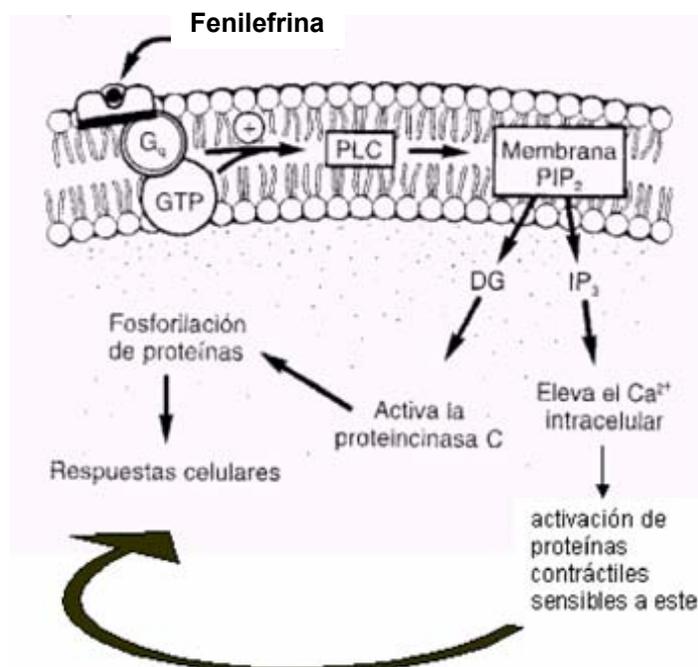


Fig. 2 Vía de señalización de la Fenilefrina sobre los receptores α_1 . La Fenilefrina se une al sitio activo provocando la activación de la proteína G_q esta a su vez promueve el intercambio GDP para GTP- α que es la forma activa tanto la Proteína G y el GTP activan la Fosfolipasa C (PLC) la cual desdobla rápidamente el PIP₂ a IP₃ y Diacilglicerol (DG) los cuales actúan como segundos mensajeros provocando una respuesta celular.

6) ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LA ACCIÓN FARMACOLÓGICA

La cuantificación de la respuesta a los fármacos tiene implicaciones prácticas y teóricas importantes. Por un lado, permite establecer las bases de la relación entre la dosis de un medicamento y el efecto terapéutico que puede esperarse y por otro lado, ha sido de gran utilidad en el análisis de la naturaleza de la interacción F-R.

6.1 Curvas Concentración –Respuesta

La Curva Concentración-Respuesta constituye el elemento fundamental para la cuantificación de la actividad farmacológica y permite estudiar las características de la interacción fármaco receptor para llevar a cabo, esto es necesario conocer la cantidad de receptores ocupados ya que esto determina la concentración del fármaco en el órgano

blanco, lo cual a su vez, permite formar un número adecuado de complejos fármaco-receptor y producir una acción farmacológica cuantitativa o gradual. La respuesta gradual o cuantitativa es aquella que relaciona la concentración con la magnitud de la respuesta, y la respuesta cualitativa o cuantitativa o de tipo todo o nada que relaciona la frecuencia con la cual una dosis de un fármaco provoca una respuesta fija del tipo todo o nada^{5, 20}.

6.1.1 Curvas Concentración-Respuesta gradual^{5, 19}

Las Curvas Concentración-Respuesta se obtienen cuando se emplean varias concentraciones crecientes de un fármaco en un mismo objeto biológico (órgano de tejido aislado *in vitro* o en el animal entero *in situ*) y después de cada aplicación se determina la respuesta máxima, se obtendrá una Curva Concentración-Respuesta que se clasifica como gradual debido a que esta constituida por respuestas de magnitud variable y cada vez mayor.

Este tipo de curvas se puede visualizar graficando en el eje de las abscisas la concentración del fármaco y en las ordenadas el efecto, teniendo una forma sigmoidea.

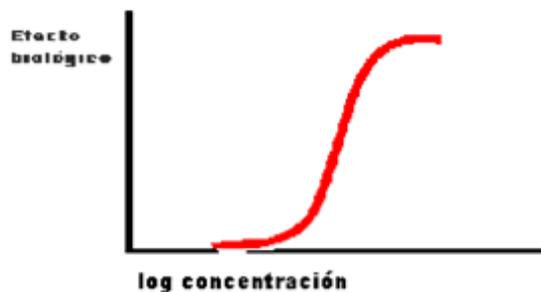


Figura 3. Curva teórica log Concentración-Respuesta que presenta la forma característica sigmoidea.

6.2 Grafica doble reciproca^{11, 20}.

Inicialmente, las fuerzas electroestáticas atraen al fármaco hacia el receptor, si la forma del fármaco corresponde con la del lugar de fijación del receptor, retenido allí temporalmente por enlaces débiles, o bien, si se trata de antagonistas irreversibles, de forma

donde

F = fármaco

R= receptor,

k1 constante de velocidad al inicio (indica velocidad de fijación del fármaco al receptor).

k2= es la constante de velocidad de compensación, (indica la velocidad de disociación del complejo fármaco-receptor).

será

permanente por enlaces covalentes más fuertes que los anteriores. Cuanto mayor es el número de enlaces, mejor es la interacción entre el fármaco y el receptor y por tanto, mayor es la *afinidad* del fármaco por el receptor.



La afinidad es definida por la constante de disociación, a la cual se le asigna el símbolo K_D . Cuanto menor es la K_D , mayor es la afinidad. Valores de la K_D de orden nanomolar representan a fármacos con una alta afinidad por su receptor³.

Sabemos que los conceptos de cinética enzimática los podemos relacionar directamente con los conceptos de la interacción fármaco-receptor, aunque hay que adaptarlos para poderlos emplear.

La ecuación de Michaelis-Menten aplicable a la cinética enzimática es:

$$V = \frac{V_m [S]}{K_m + [S]}$$

$$E = \frac{E_m [S]}{K_D + [S]}$$

Ecuación Michaelis-Menten

V= velocidad de cinética enzimática
V_m=velocidad máxima
(S)= concentración de sustrato
K_m= constante de Michaelis

Análisis K_D

E= Efecto producido.
E_m= Efecto máximo
(F)= concentración de sustrato
K_D= constante de afinidad del fármaco por el receptor

Empleando la expresión doble recíproca, la ecuación de Michaelis-Menten se transforma en una recta cuya ecuación aplicada a la interacción F-R es la siguiente:

$$\frac{1}{E} = \frac{K_D}{E_m} * \frac{1}{[F]} + \frac{1}{E_{max}}$$

Donde K_D se define como la concentración molar de fármaco que produce una respuesta igual al 50% de la respuesta máxima.

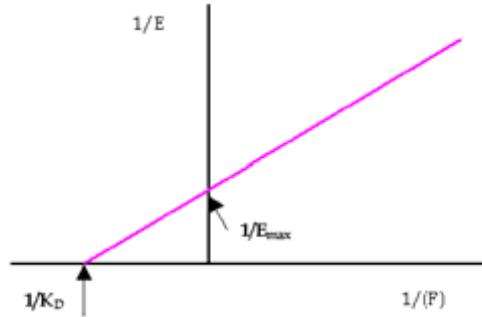


Fig4. Grafica teórica Doble Recíproca. En la cual podemos apreciar el efecto máximo y la K_D.

La grafica doble recíproca se ha empleado para analizar el tipo de antagonismo, ya sea de tipo competitivo (fármaco que tiene la capacidad de unirse al receptor, pero incapaz de producir una respuesta) donde se puede apreciar en la grafica que el efecto máximo es el mismo pero su constante de afinidad es diferente. En el caso de ser un antagonismo no competitivo (estos fármacos pueden evitar la unión del agonista o impedir que este active al receptor), el efecto máximo se reduce y la K_D es igual²¹.

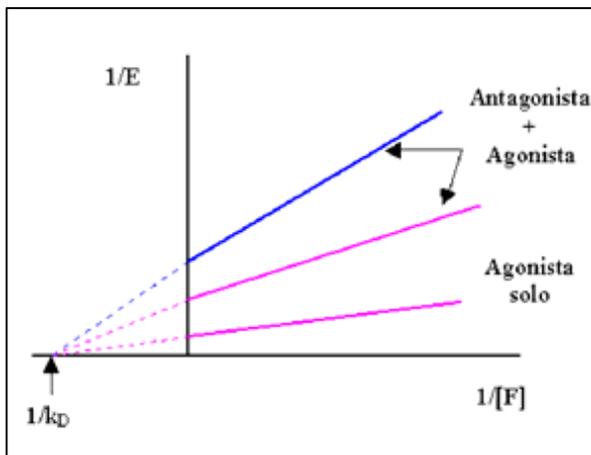


fig. 5 efecto antagónico no competitivo

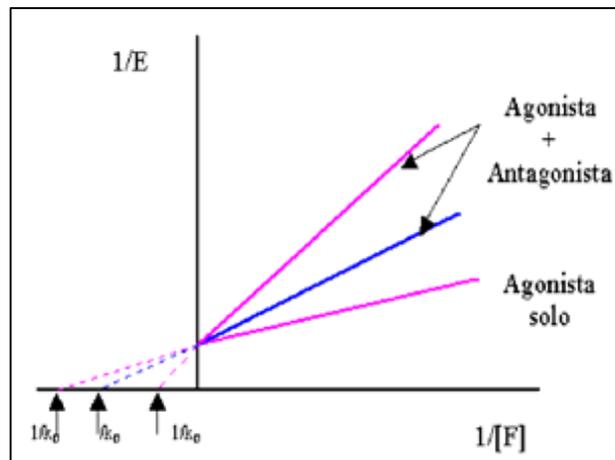


fig.6 efecto antagónico competitivo

7) CARACTERÍSTICAS DE LA AURÍCULA DERECHA

7.1 Aurícula derecha

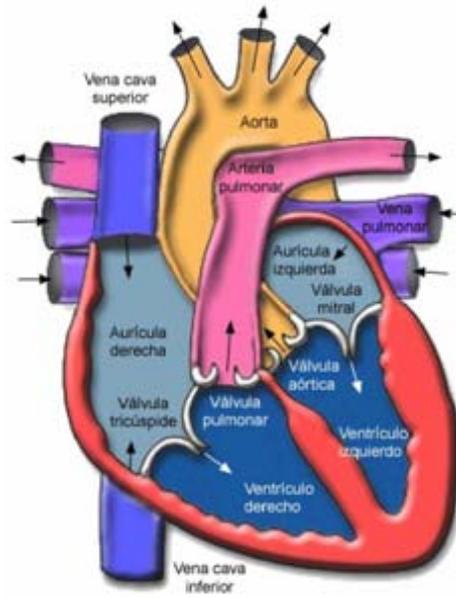


Fig. 7 Estructura del corazón.

La aurícula derecha recibe la sangre desoxigenada que llega a través de las venas cavas (superior e inferior). La aurícula también recibe sangre desoxigenada del propio corazón por medio del seno coronario (una válvula Tebesiana cubre la abertura del seno coronario). Mientras que la vena cava superior carece de válvula, la vena cava inferior tiene una válvula parcial. Un detalle de interés es que la vena cava inferior recibe pulsaciones retrógradas (se observan en las venas del cuello y se conocen como ondas 'a' de cañón) cuando la aurícula derecha se contrae y la válvula tricúspide está cerrada. Esto ocurre en arritmias como el ritmo de la unión, taquicardia ventricular y el bloqueo auriculoventricular de tercer grado (bloqueo completo)^{13, 24}. La aurícula derecha contribuye a la regulación de la frecuencia cardíaca por medio de barorreceptores presente en su superficie interior. Los barorreceptores responden a la disminución de la precarga (disminución en el volumen de sangre), produciendo un incremento en los latidos por minuto. Esto significa que la acción del nervio vago es inhibida, permitiendo que el sistema nervioso simpático estimule el corazón. Por otra parte, si el volumen de precarga incrementa, el nervio vago (estimulado por los barorreceptores) actúa disminuyendo los latidos por minuto. Este efecto ocurre en la arritmia sinusal, en el cual el ritmo cardíaco aumenta durante la inspiración y disminuye durante la expiración. Durante la inspiración el volumen de la caja torácica incrementa, reduciendo el retorno venoso. Durante la expiración el volumen de la caja torácica decrece, causando compresión de las venas

cavas incrementando el retorno venoso. Por otro lado, las aurículas desempeñan una función endocrina. Ambas cavidades producen y liberan el péptido natriurético auricular (PNA). Este péptido decrece el efecto de la epinefrina, endotelina y del sistema de renina-angiotensina-aldosterona. PNA es liberado por las aurículas cuando estas detectan un aumento de la precarga. Los efectos producidos por PNA incluye: disminución de los latidos por minuto; reducción de la precarga por medio de vasodilatación e incremento en la eliminación de orina; estimulación del nervio vago e inhibe la hipertrofia ventricular. La pared auricular derecha tiene aproximadamente dos milímetros de grueso. El espesor de esta pared es suficiente par su función de bombear hacia una cavidad de baja presión (el ventrículo derecho durante su diástole)^{13, 24}.

7.2 Sistema de conducción

Los impulsos eléctricos generados por el músculo cardíaco (el miocardio) estimulan el latido (contracción) del corazón. Esta señal eléctrica se origina en el nódulo sinoauricular (SA) ubicado en la parte superior de la aurícula derecha. El nódulo SA también se denomina él «marcapaso natural» del corazón. Cuando este marcapaso natural genera un impulso eléctrico, estimula la contracción de las aurículas. A continuación, la señal pasa por el nódulo auriculoventricular (AV). Éste detiene la señal un breve instante y la envía por las fibras musculares de los ventrículos, estimulando su contracción. Aunque el nódulo SA envía impulsos eléctricos a una velocidad determinada, la frecuencia cardiaca podría variar según las demandas físicas o el nivel de estrés o debido a factores hormonales^{7, 18, 25}.

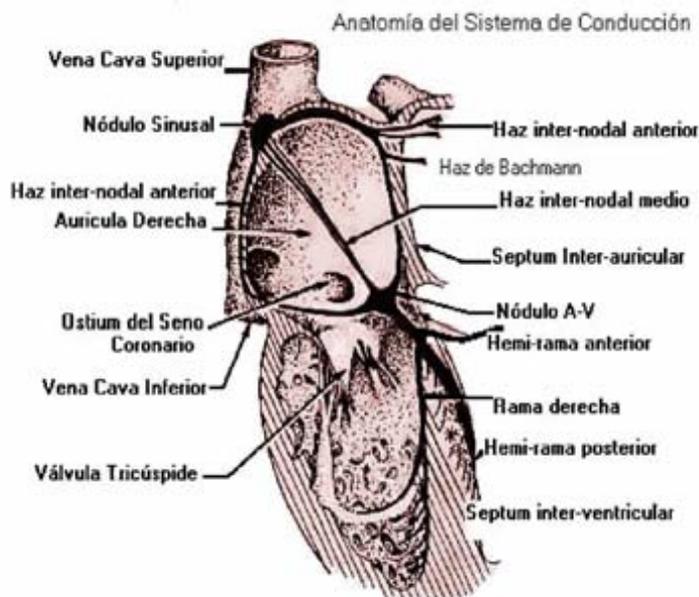


Fig. 8 Sistema de conducción

7.3 Compuestos Morfolinicos y tiomorfolinicos

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se sintetizaron una serie de compuestos mediante un sistema asistido por computadora. Esto se realizó continuando la investigación hecha en la Republica de China, donde utilizan la Changrolina como molécula base ya que posee efecto antiarrítmico, la cual puede ser útil para el tratamiento de las cardiopatías.

La molécula fue dividida en tres regiones, determinaron que la región 1 es la que posee la actividad antiarrítmica, además que la región 2 y 3 podían ser reemplazadas por una gran variedad de sustituyentes.

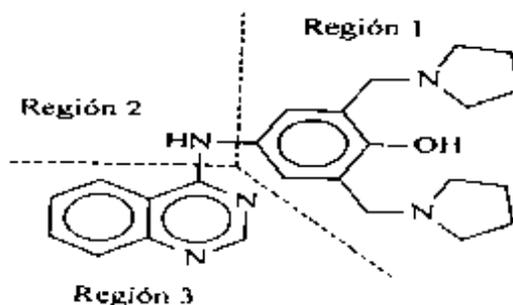


Fig. 9 Molécula Changrolina dividida en tres regiones

Los Investigadores pioneros no concluyeron el estudio por lo cual el grupo de investigadores del Laboratorio de Química Medicinal a cargo del Dr. Enrique Angeles Anguiano retomo la investigación de estos compuestos, procediendo a su síntesis utilizando como sustituyentes una molécula de morfolina y/o tiomorfolína (ver figura 10), obteniéndose así los compuestos morfolínicos, dimorfolínicos y tiomorfolínicos denominados LQM¹⁷.

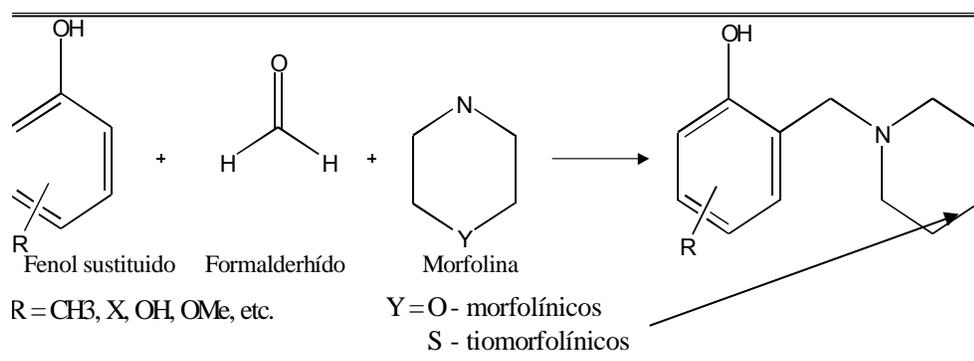
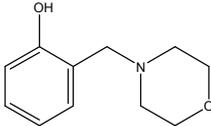
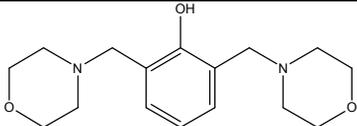
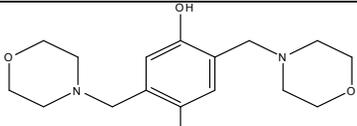
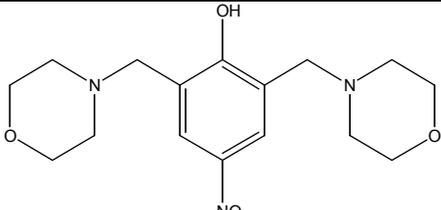
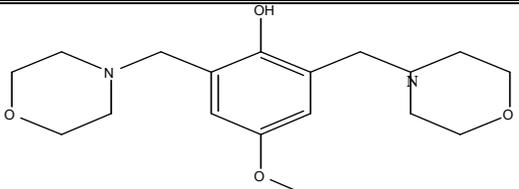
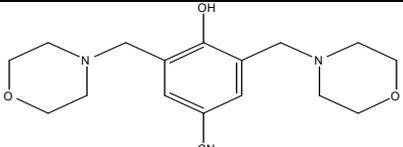
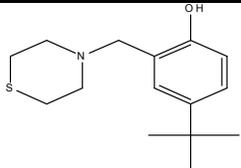
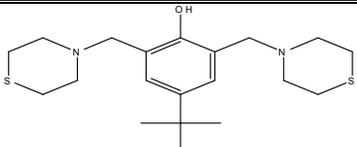
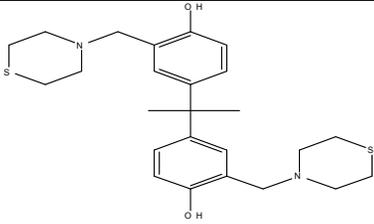
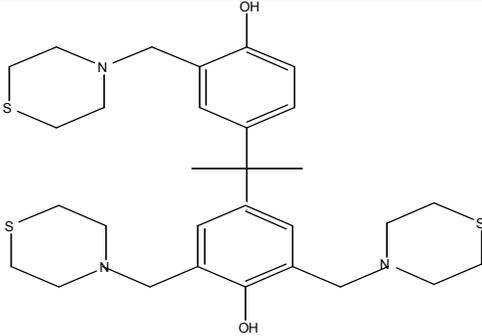
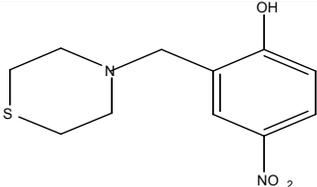
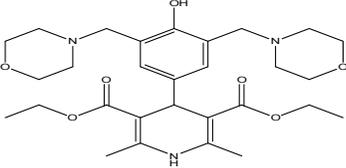
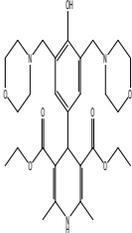


Figura 10: Reacción química de síntesis de la serie de compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos

De esta serie de compuesto con clave LQM se seleccionaron algunos como : LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314, LQM 318, LQM-319, LQM-320, LQM 321, LQM-324, Y LQM 332, (ver tabla 1 Estructuras de los compuestos) a los cuales se les realizó un estudio de actividad biológica dentro del Laboratorio de Farmacología del Miocardio a cargo de la Doctora Luisa Martínez Aguilar.

Tabla 1. Estructuras químicas de los compuestos evaluados en la aurícula derecha de rata Wistar.

FÁRMACO/COMPUESTO	Estructura
LQM-308	
LQM-309	
LQM-310	
LQM-312	
LQM-313	
LQM-314	
LQM-318	
LQM-319	

<p>LQM-320</p>	
<p>LQM-321</p>	
<p>LQM-324</p>	
<p>LQM-332</p>	
<p>FENILEFRINA</p>	

8) FASE EXPERIMENTAL

8.1 Material

Material Biológico

Ø 66 ratas Wistar macho joven con un peso entre 250-400g, animales proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Medicina-UNAM.

Compuestos a evaluar:

- Ø Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314)
- Ø Tiomorfolínicos LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM-332)

Soluciones y Reactivos

- Ø Solución de Krebs (1.5L)
- Ø Carbógeno (PAXAIR: 95% O₂ Y 5% CO₂)
- Ø Pentobarbital sodico de uso veterinario SEPHORTEDAL (0.063g/ml)
- Ø Ácido clorhídrico HCl 0.01M Reactivo analítico MONTERREY®

Equipo

- Ø Computadora integrada con el software ACQ 381 NOWELEDGE
- Ø Baño PolyScience® 801 (0-150°C)
- Ø Termómetro Widder®, (-20 a +110°C)
- Ø Balanza analítica (Sartorius®, BL60S 0.1mg-60g)
- Ø Balanza granataria para animales (OHAUS® 0.1-2610g)

Material de laboratorio:

- Ø Piseta
- Ø Caja petri
- Ø Micropipetas Wilson Pipetman® de 100 y 1000µl
- Ø Viales ámbar
- Ø Hilo seda 4/0
- Ø Estuche de disección
- Ø Micropipetas Transferpette® de 100 y 1000µL
- Ø Jeringas de insulina 1 mL

8.2 Métodos.

Preparación de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos. Se pesó de cada compuesto lo necesario para poder obtener una concentración de 10^{-5} M. Todos los compuestos evaluados fueron disueltos con la cantidad mínima necesaria de HCl (0.01N) y se llevó a un volumen total de 1mL con solución de Krebs.

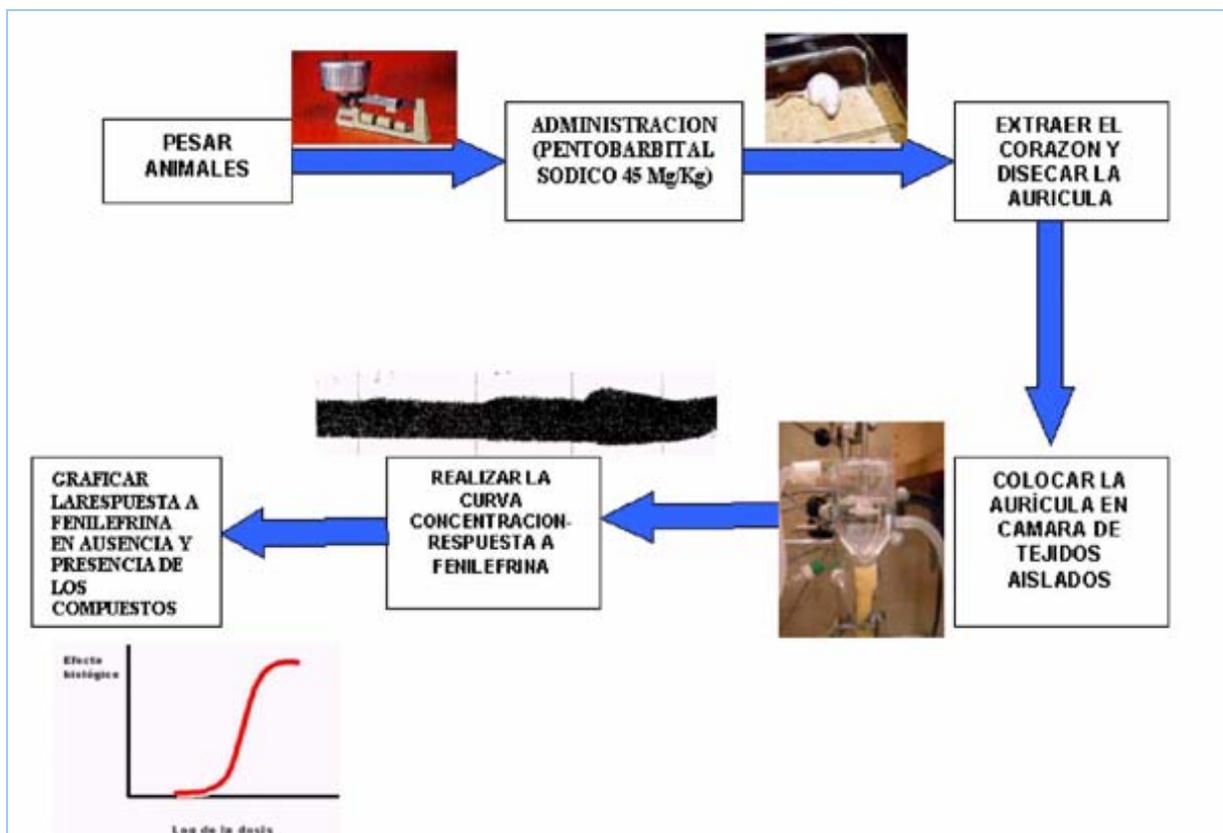
Preparación de la Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina en ausencia de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos Se pesó 0.2g de fenilefrina la cual era disuelta con solución de Krebs hasta llegar a un volumen de 1 mL (concentración 10^{-3} M), de esta solución se hicieron diluciones obteniendo las siguientes concentraciones (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9} M).

Se anestesió la rata con pentobarbital sódico con una dosis de 45mg/Kg vía i.p. Se colocó sobre la tabla de disección, se realizó una toracotomía con la finalidad de exponer al corazón, se extrajo el corazón y se colocó en un vaso de precipitados con solución de Krebs (32-35°C) y oxigenación. Posteriormente se coloca el corazón en una caja petri para disecar la aurícula derecha. Ésta se sujeta en la parte inferior a un anillo de acero inoxidable y del otro extremo fue sujeta con hilo seda 4/0 al transductor de tensión. Se coloca en la cámara de tejidos aislados con solución Krebs, oxígeno y temperatura (32-35°C) el anillo se coloca en la parte inferior de la cámara y el hilo del otro extremo se sujeta al transductor. A la preparación se le aplica una tensión de 0.5g la cual se deja por una hora con intervalos de 15 minutos para lavar la preparación, al terminar este tiempo de estabilización se procede a realizar la Curva Concentración-Respuesta a Fenilefrina iniciando con la adición de 0.1 mL a la cámara de la concentración de 10^{-9} M, una vez que se observa el efecto a esta concentración se procede a adicionar 0.1 mL de Fenilefrina 10^{-8} M. De esta manera se realizó para todas las concentraciones.

Determinación de las Curvas Concentración-Respuesta a Fenilefrina en presencia de los compuestos morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-3.13,

LQM-314) y Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324 y LQM-332) a una concentración de 10^{-7} M. Para este caso, una vez montada la aurícula en la cámara después del tiempo de estabilización se adiciona 0.1 mL del compuesto Morfolínico o Tiomorfolínico en una concentración de 10^{-7} M y se dejó incubar por 30 minutos. Posteriormente se realiza la Curva Concentración-Respuesta acumulativa a Fenilefrina.

8. 3 Diagrama de la fase experimental



9) RESULTADOS

Las Curvas Concentración-Respuesta se realizaron con la finalidad de determinar que compuesto ya sea Morfolínico (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-3.13, LQM-314) o Tiomorfolínico (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324 y LQM-332) presenta efecto sobre la contracción auricular por la Fenilefrina en presencia de los compuestos LQM 300's.

De los compuestos morfolínicos evaluados LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-3.13, LQM-314 obsérvese que la disminución de la contracción auricular esta dada por el compuesto LQM-314 el cual inhibe por completo el efecto contráctil de la fenilefrina sobre la aurícula derecha desde la primera concentración 10^{-10} a 10^{-3} M, seguido por el compuesto LQM-313, LQM-308, LQM-309 mientras que para los compuestos LQM-310 y LQM-312 el efecto producido es totalmente diferente, es decir en estos casos se potencia el efecto contráctil de la fenilefrina sobre la aurícula derecha.

De los compuestos Tiomorfolínicos evaluados LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324 y LQM-332, obsérvese en las figuras correspondientes que la disminución de la respuesta contráctil esta dada por el compuesto LQM-321 el cual inhibe por completo la respuesta contráctil de la fenilefrina sobre la aurícula derecha, seguido por el LQM-320, LQM-318, LQM-319, LQM-332 y el compuesto LQM-324 tiene un efecto contrario, este compuesto presenta potencia de efecto, es decir el efecto contráctil de la fenilefrina se ve aumentado por la presencia del compuesto LQM.

Además se realizo un análisis empleando el método doble reciproca para determinar sus constantes de afinidad y así poder evaluar el tipo de antagonismo que presentaron los compuestos evaluados tanto Morfolínicos como Tiomorfolínicos. Véase esto en las figuras 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 21 y 22.

Los compuestos LQM-308, LQM-309, LQM-313, LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321 y LQM-332, presentan efecto antagónico de tipo no competitivo. En el caso del compuesto LQM-308 presenta un efecto antagónico de tipo competitivo. Los compuestos LQM-314 y LQM-321 inhiben completamente el efecto contráctil a la Fenilefrina por lo que no se

grafico sus correspondientes dobles recíprocas. Los compuestos LQM-310, LQM-312 y LQM-324 promueven a que la Fenilefrina presente un efecto contráctil mayor.

Tabla 2. Clasificación de la respuesta obtenida para los compuestos LQM 300's evaluados

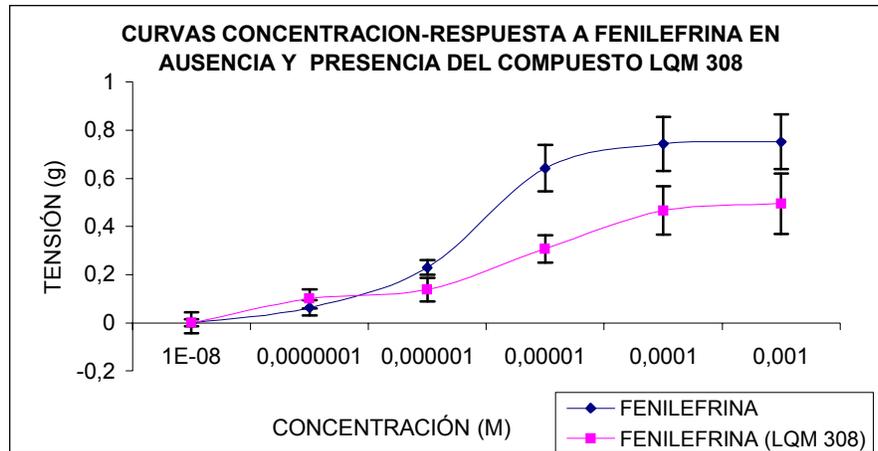
DISMINUCIÓN DE LA RESPUESTA	AUMENTO DE LA RESPUESTA	DISMINUCIÓN TOTAL DE LA RESPUESTA
LQM-308 (Morfolínico)	LQM-310 (Morfolínico)	LQM-314 (Morfolínico)
LQM-309 (Morfolínico)	LQM-312 (Morfolínico)	LQM-321(Tiomorfolínico)
LQM-313 (Morfolínico)	LQM-324 (Tiomorfolínico)	
LQM-318 (Tiomorfolínico)		
LQM-319 (Tiomorfolínico)		
LQM-320 (Tiomorfolínico)		
LQM332 (Tiomorfolínico)		

Tabla 3. Efecto máximo y K_D (promedios) de cada compuesto LQM

COMPUESTO	%E_{MAX}	K_D PROMEDIO (M)*10⁻⁷

FENILEFRINA	100.00	1.1 ± 0.27
LQM-308	67.5	3± 1.4
LQM-309	111.66	1.4±1
LQM-310	156.41	0.36± 0.14
LQM-312	113.00	2.5± 2.1
LQM-313	50.34	0.85 ± .374
LQM-314	68.71	
LQM-318	75.63	1.2± .61
LQM-319	133.91	0.63± 0.23
LQM-320	60.89	1.3± 0.71
LQM-321	25.91	
LQM-324	99.59	0.4±.033
LQM 332	50.34	2.8±1.85

A



B

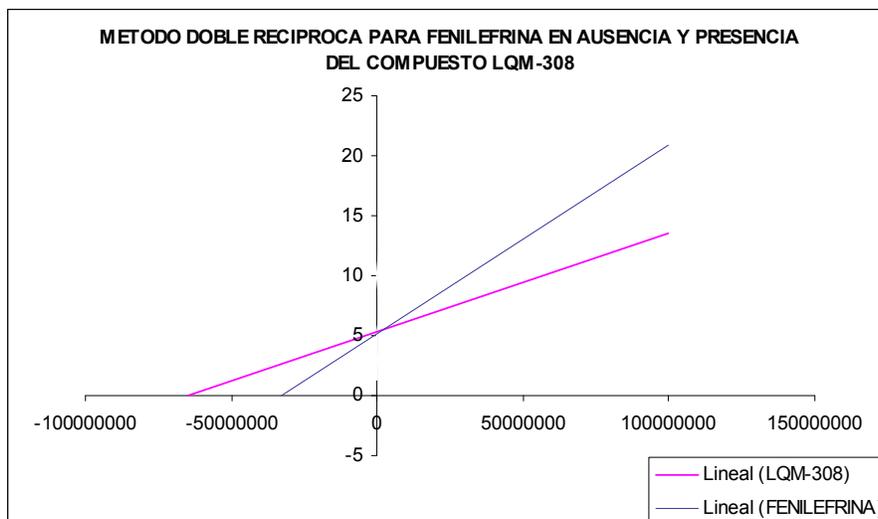
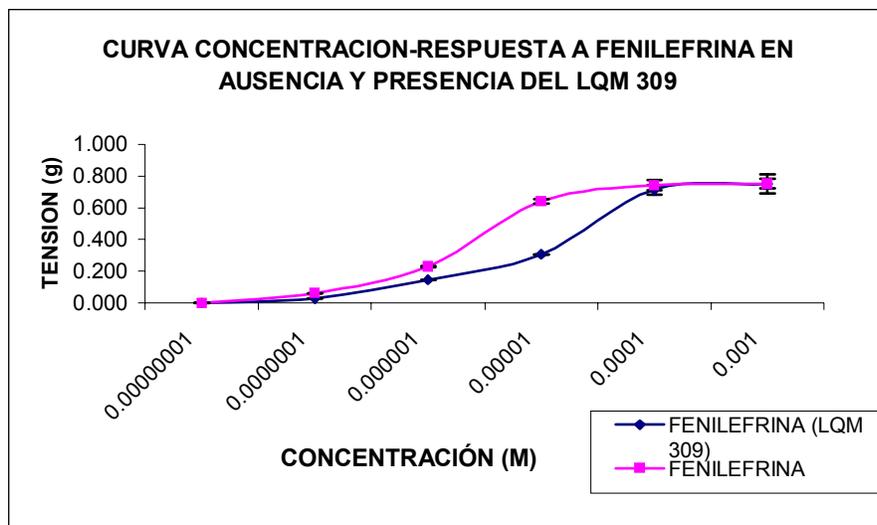


Figura 11. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea negra) y en presencia del LQM-308 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, F -Fisher. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-308. En este caso la constante de afinidad varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la t de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$

LQM-309

A



B

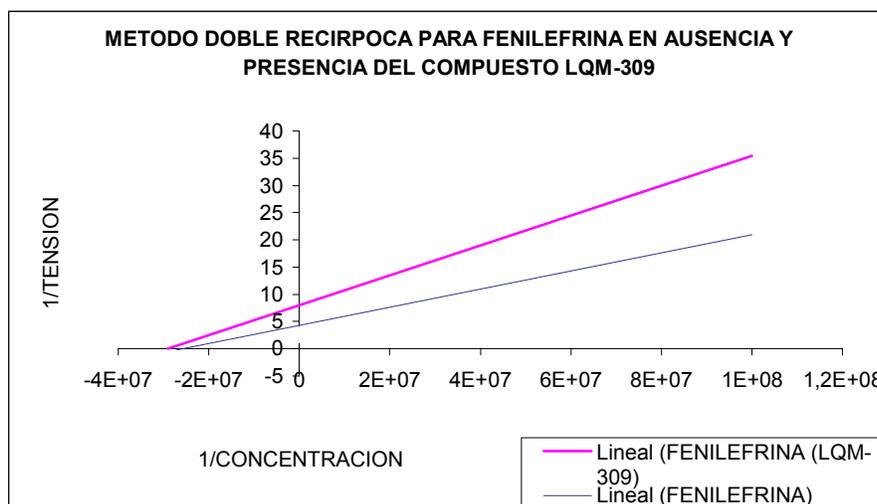
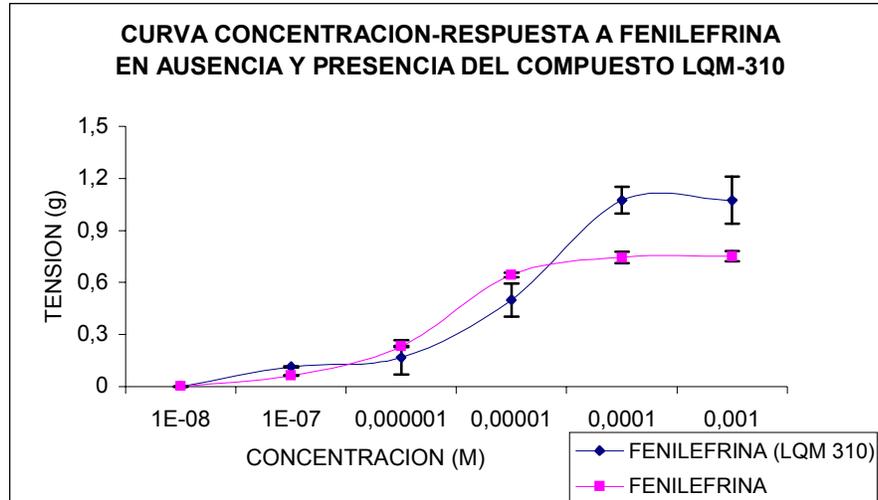


Figura 12. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea negra) y en presencia del LQM-309 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio + error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-309. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$



B

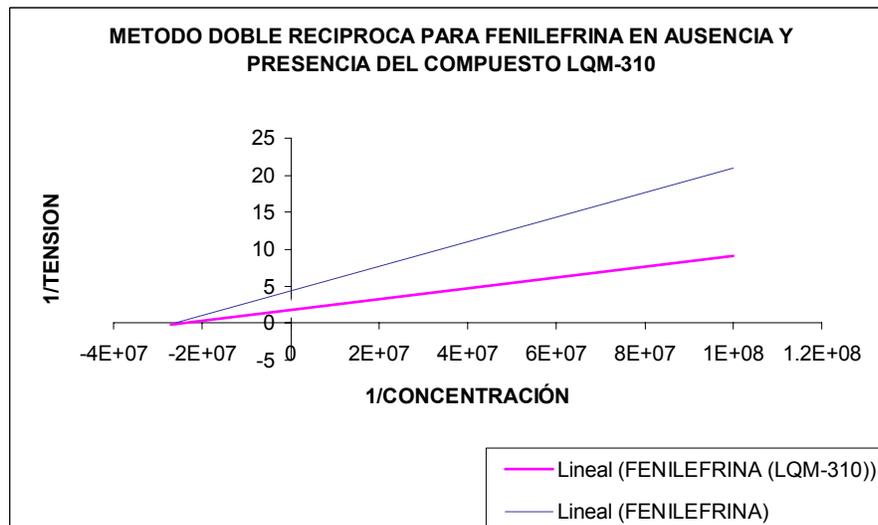
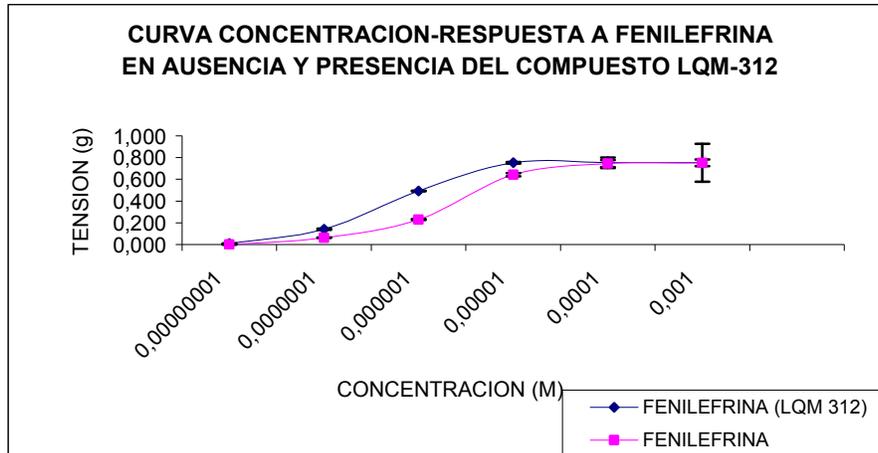


Figura 13. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea negra) y en presencia del LQM-310 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-310. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos que tiene una tendencia a presentar un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$



B

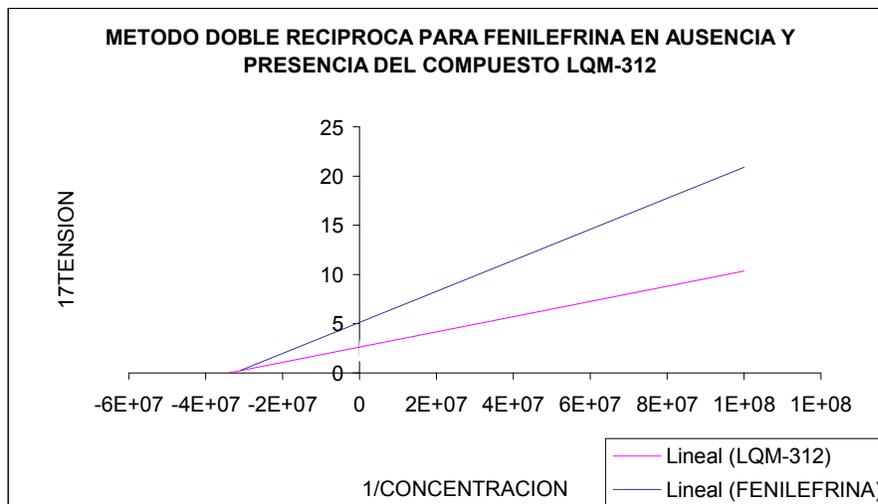
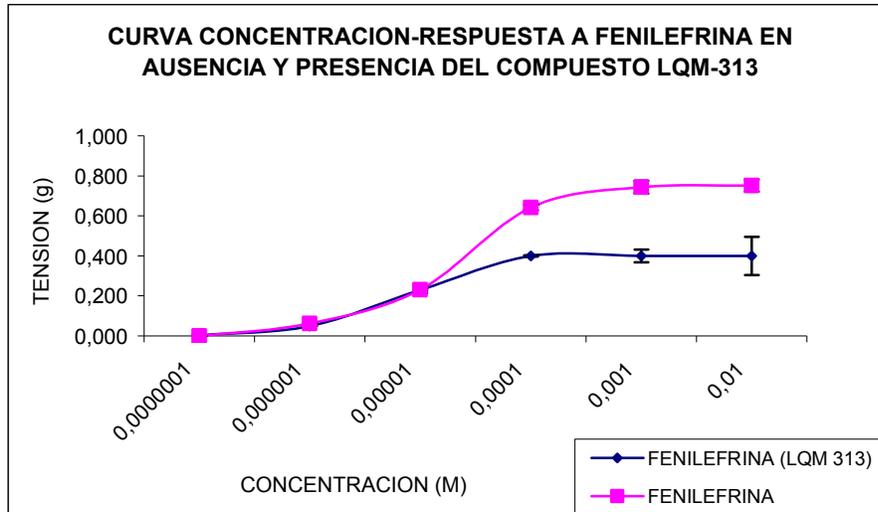


Figura 14. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-312 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-312. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$



B

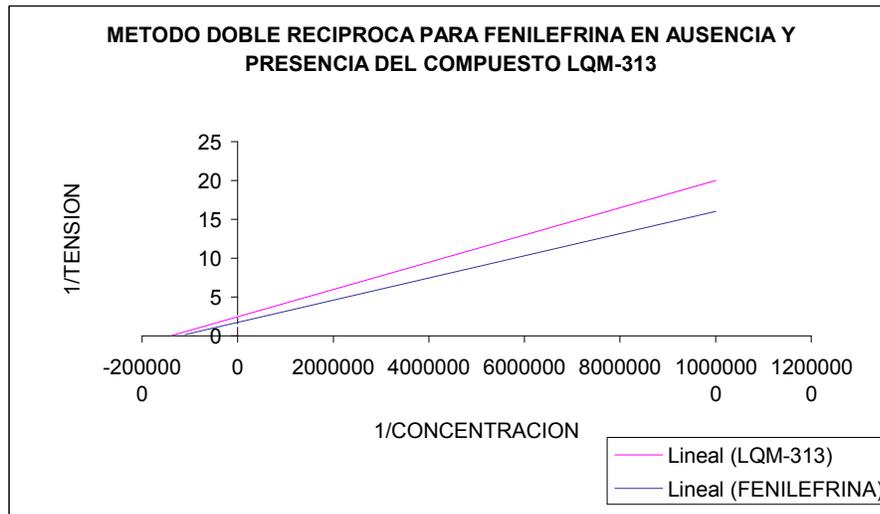


Figura 15. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-313 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-313. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$

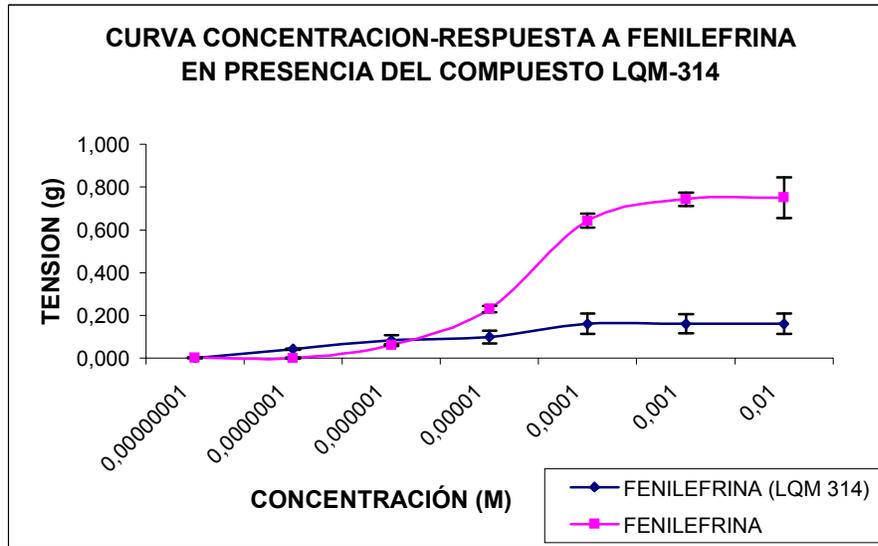
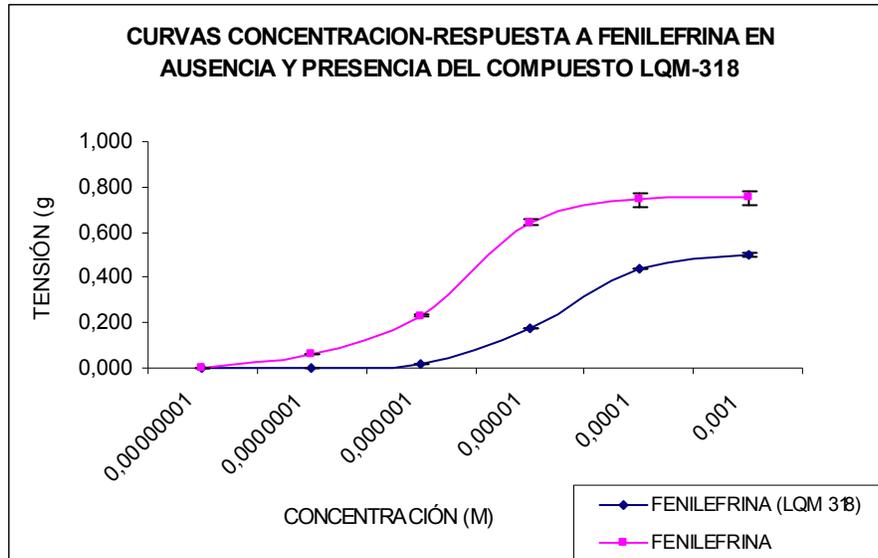


Figura 16. Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea negra) y en presencia del LQM-314 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. No se determinó el método doble recíproco debido a que el efecto de la fenilefrina es inhibido completamente.



B

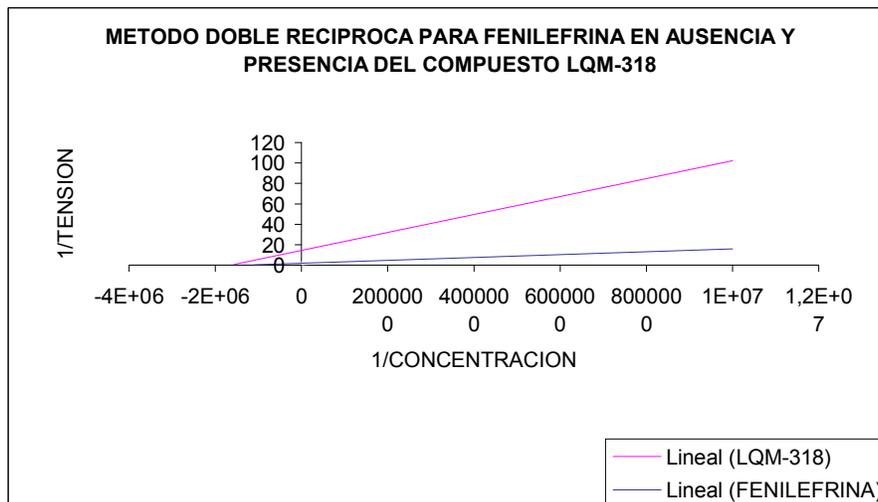
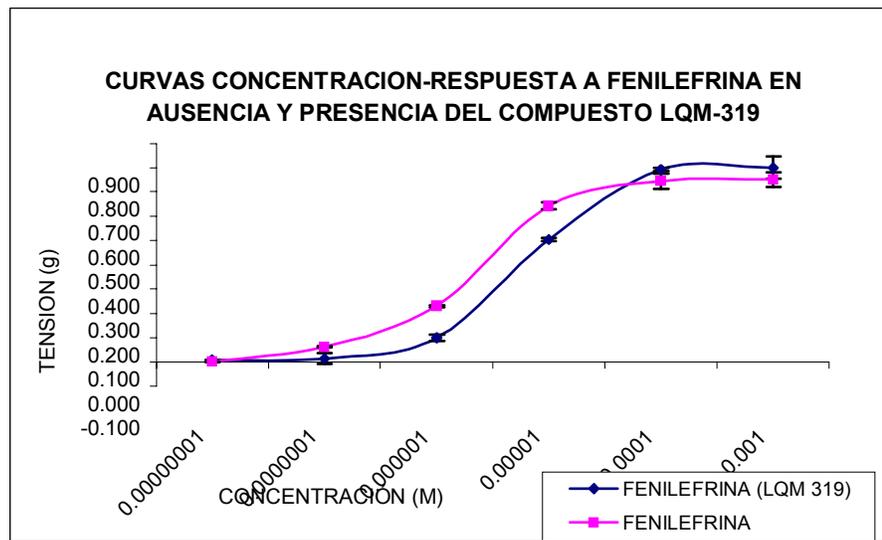


Figura 17. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-318 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-318. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$

A



B

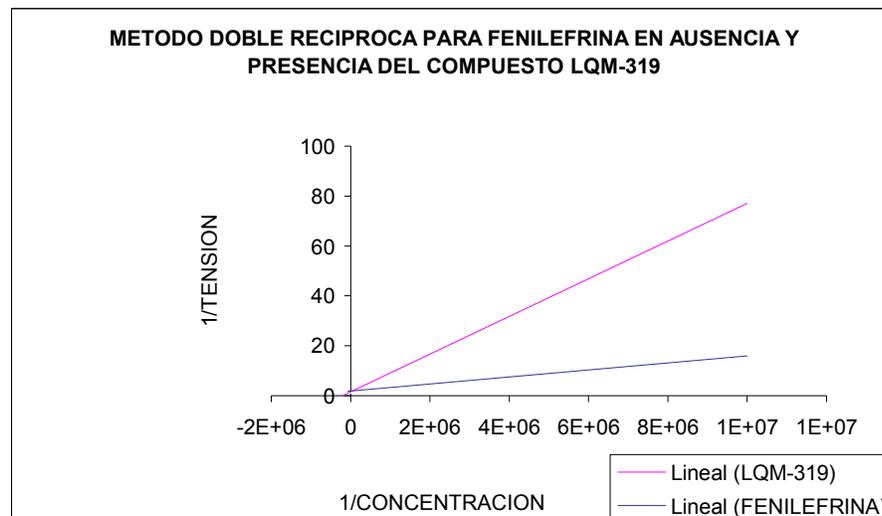
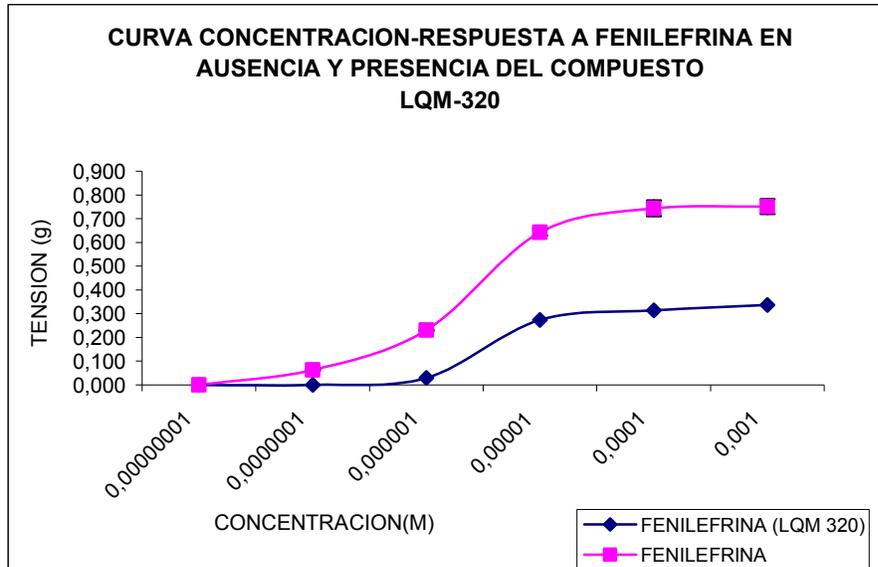


Figura 18. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-319 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-319. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$



B

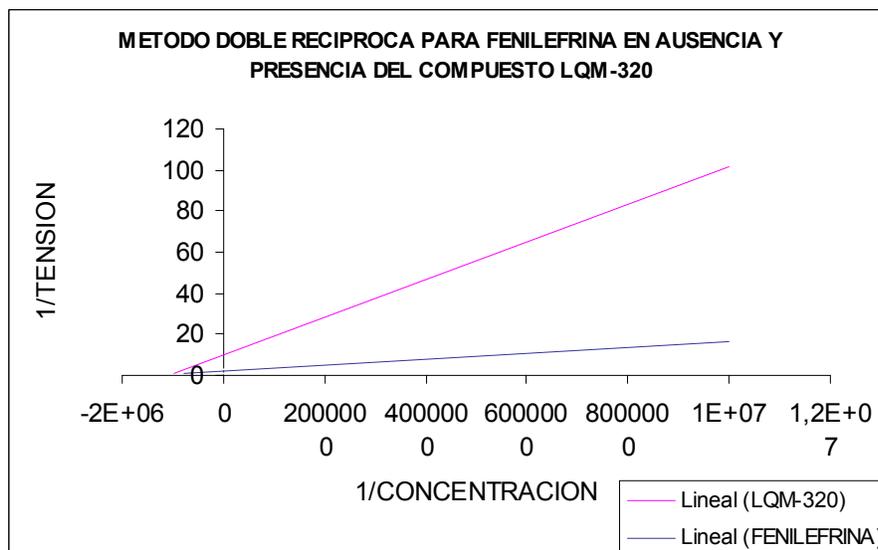


Figura 19. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-320 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-320. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$

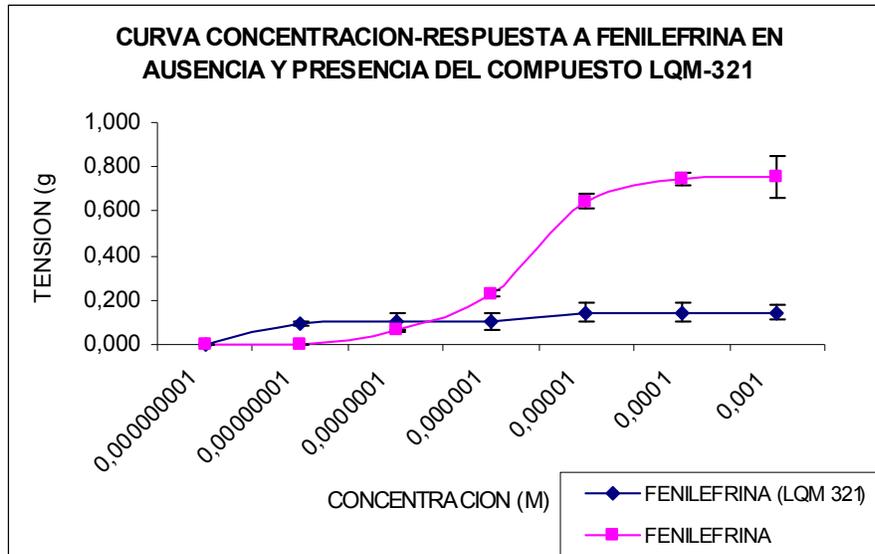


Figura 20. Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-320 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, F-Fisher. No se determinó el método doble recíproco debido a que el efecto de la fenilefrina es inhibido completamente.

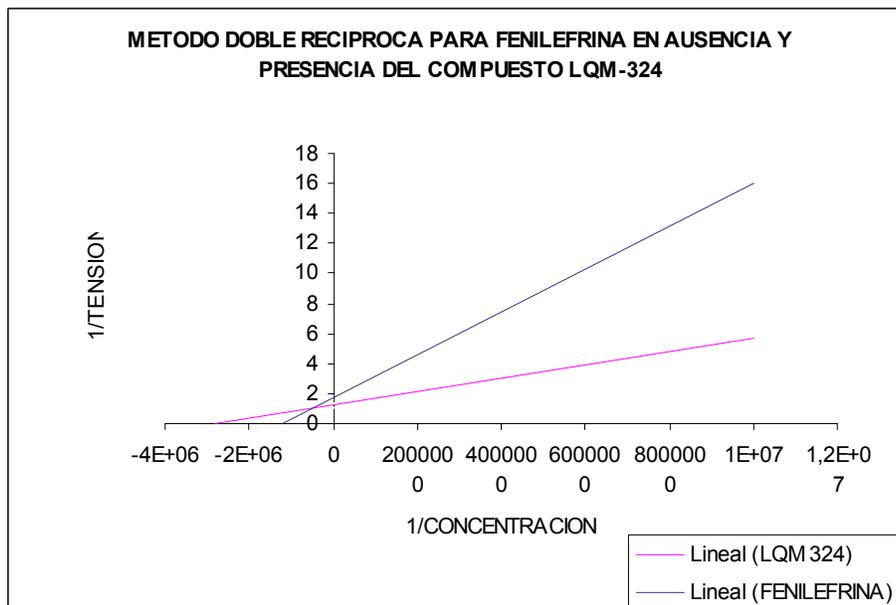
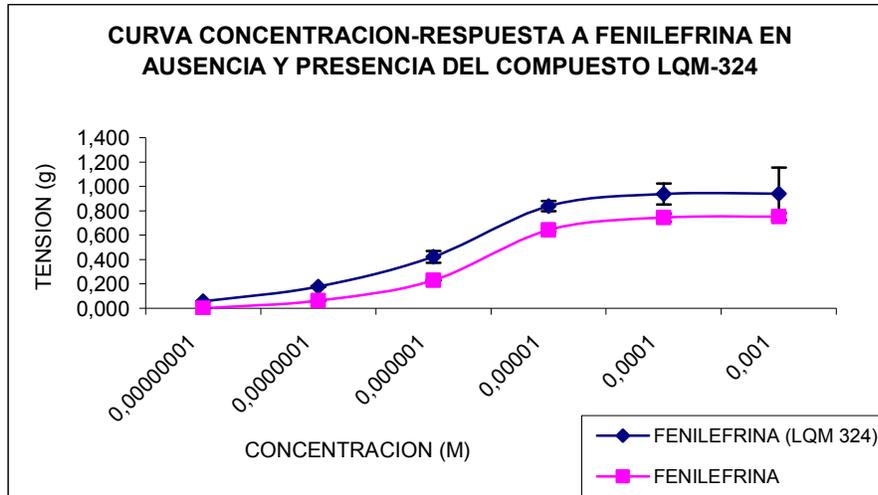
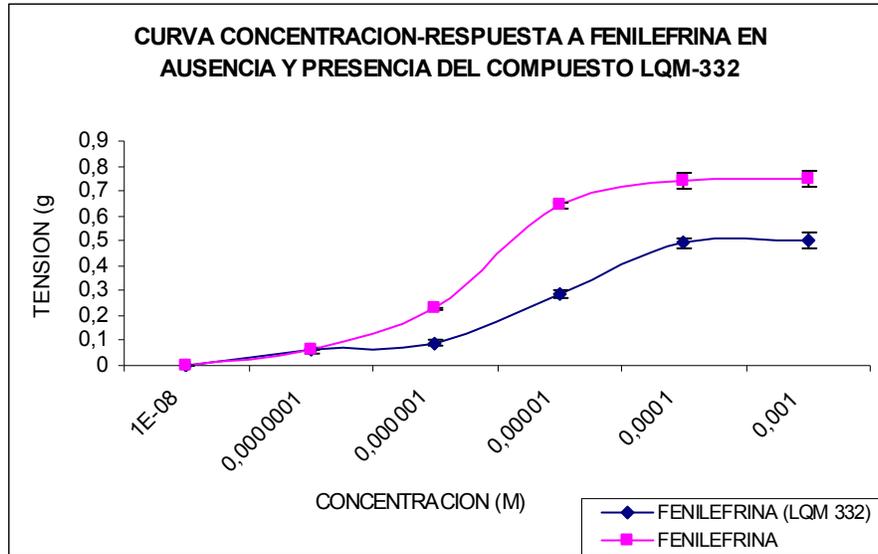


Figura 21. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-324 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-324. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$.



B

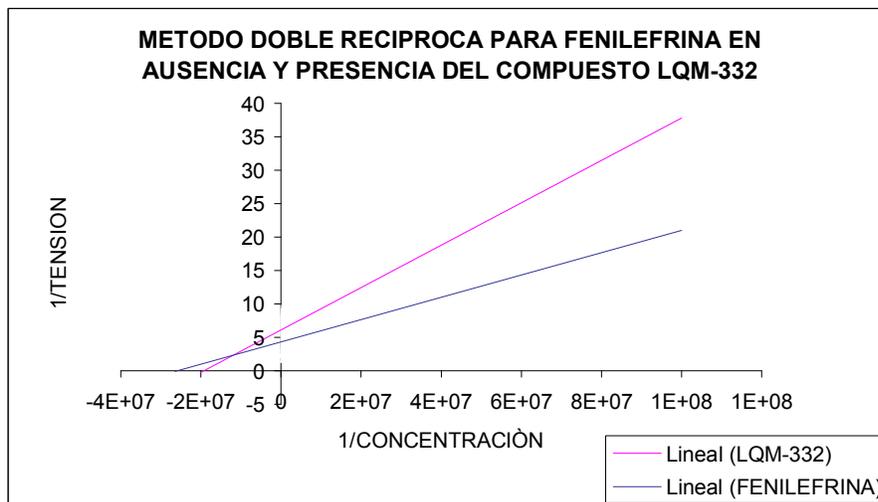


Figura 22. **A)** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM-332 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. **B)** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM-332. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la K_D se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de $*p<0.05$

CURVAS CONCENTRACIÓN-% RESPUESTA A FENILEFRINA EN PRESENCIA DE LOS COMPUESTOS LQM 300'S

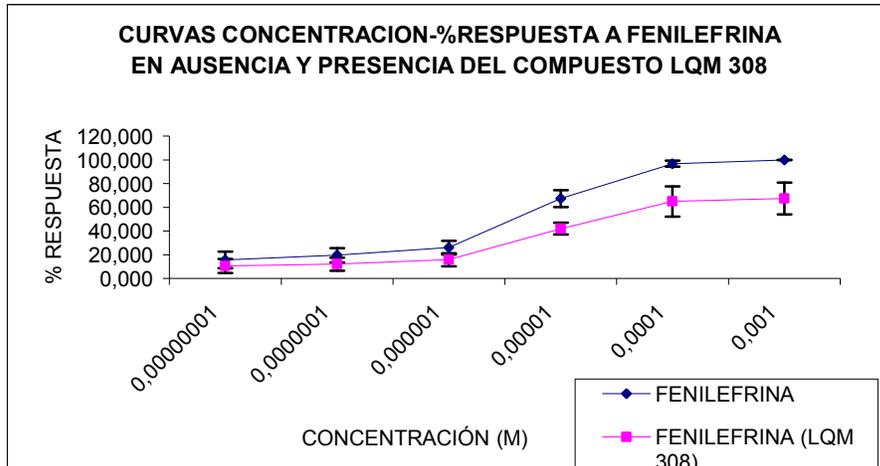


Figura 23. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-308 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-308 en la cual se aprecia una disminución considerable del porcentaje de respuesta.

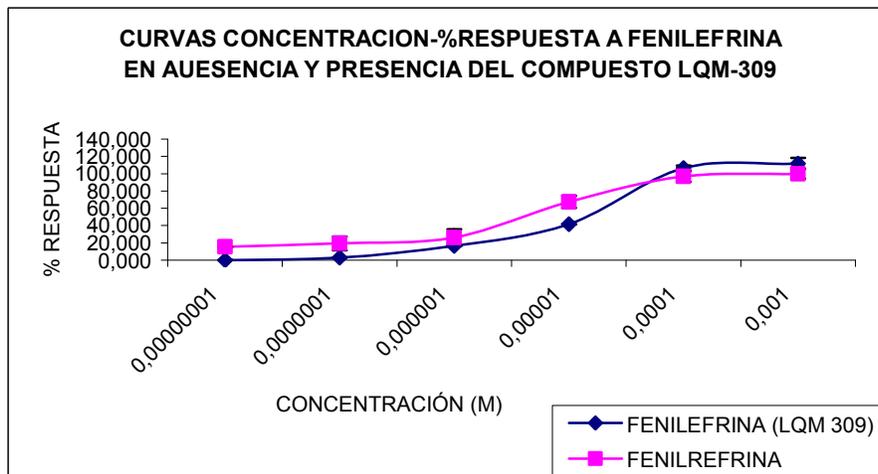


Figura 24. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-309 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-309 en la cual se aprecia una disminución significativa del porcentaje de respuesta.

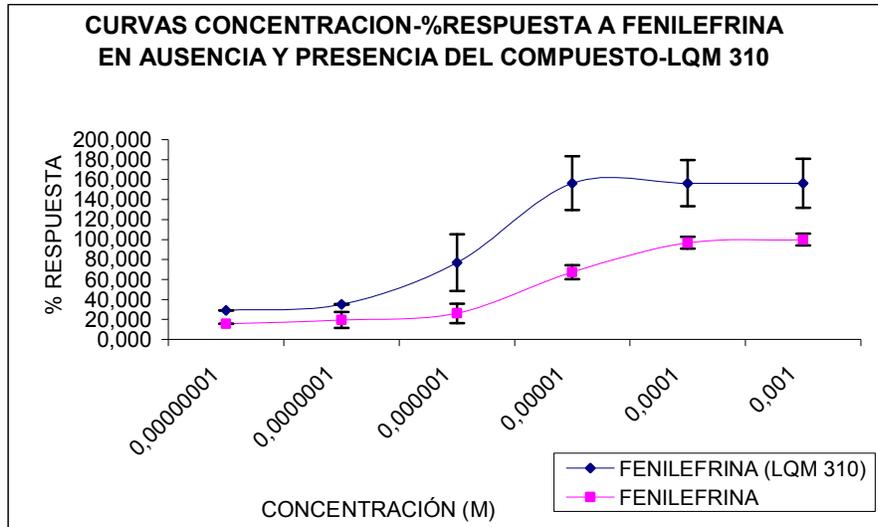


Figura 25. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-310 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una $n = 5$ Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-310 en la cual se aprecia un aumento considerable del porcentaje de respuesta.

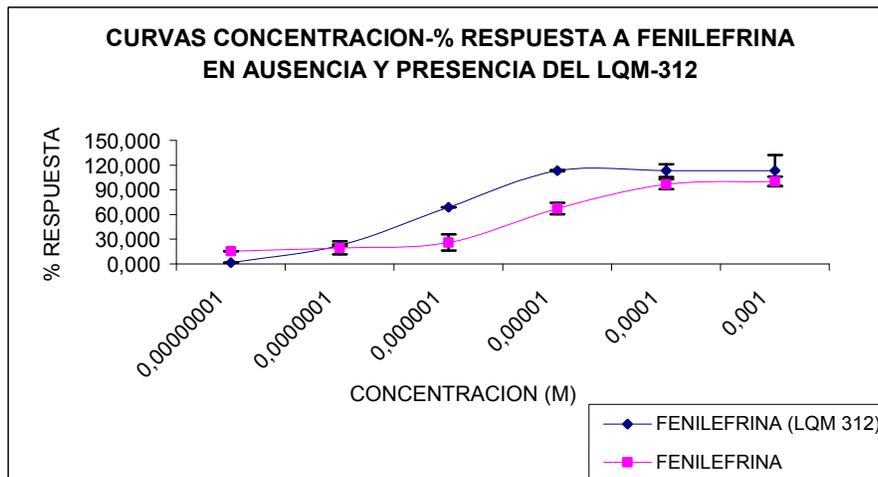


Figura 26. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-312 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una $n = 5$ Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-312 en la cual se aprecia un aumento significativo del porcentaje de respuesta.

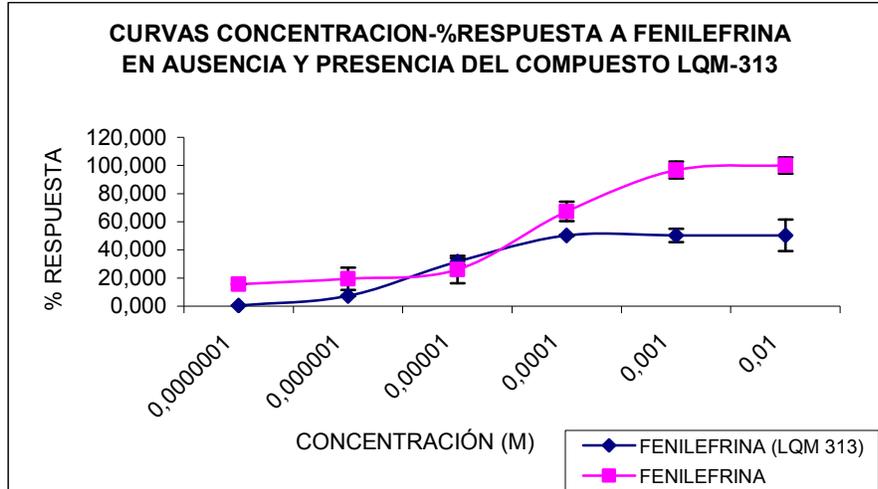


Figura 27. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-313 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-313 en la cual se aprecia una disminución considerable del porcentaje de respuesta.

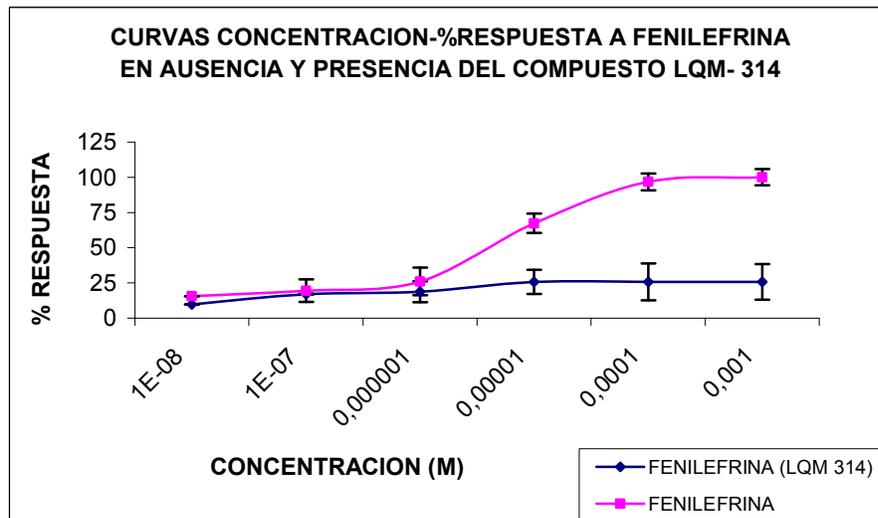


Figura 28. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-314 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-314 en la cual se aprecia una disminución total del porcentaje de respuesta .

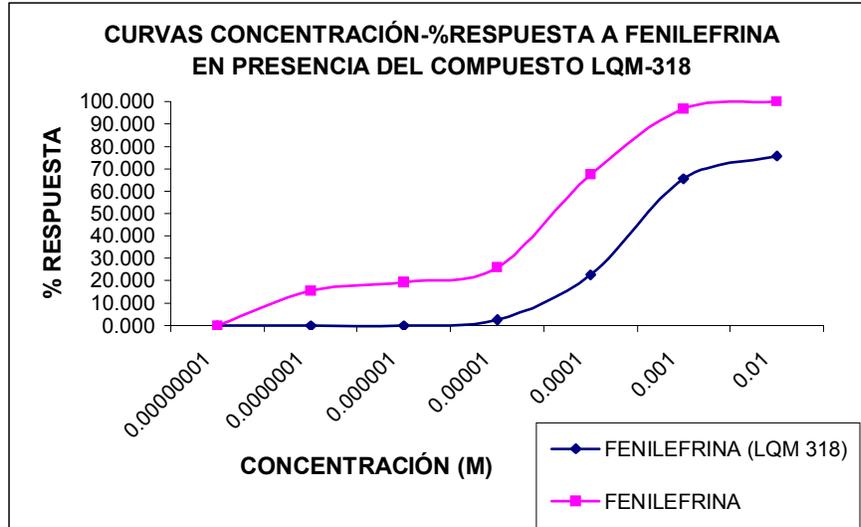


Figura 29. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-318 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una $n = 5$ Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-318 en la cual se aprecia una disminución considerable del porcentaje de respuesta.

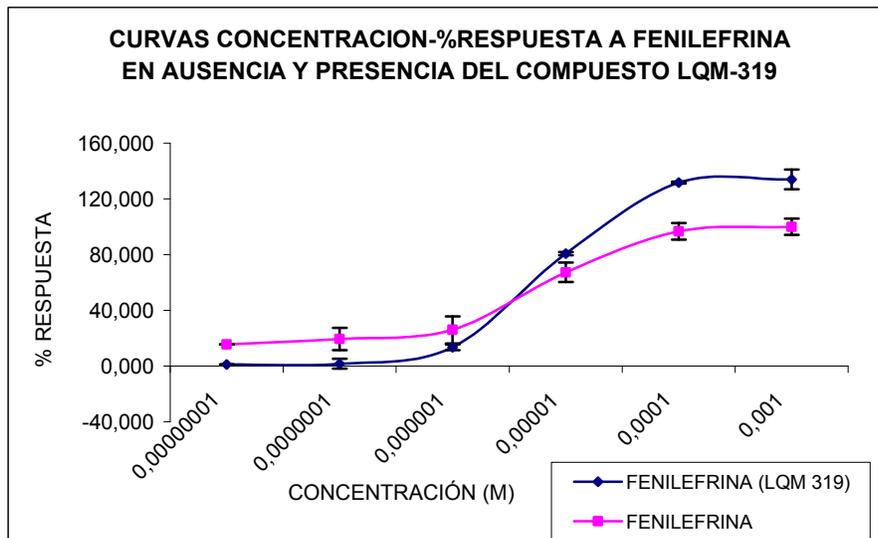


Figura 30. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-319 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una $n = 5$ Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-319 en la cual se aprecia una disminución considerable del porcentaje de respuesta en las primeras concentraciones y en las concentraciones mas altas hay un aumento del porcentaje de respuesta .

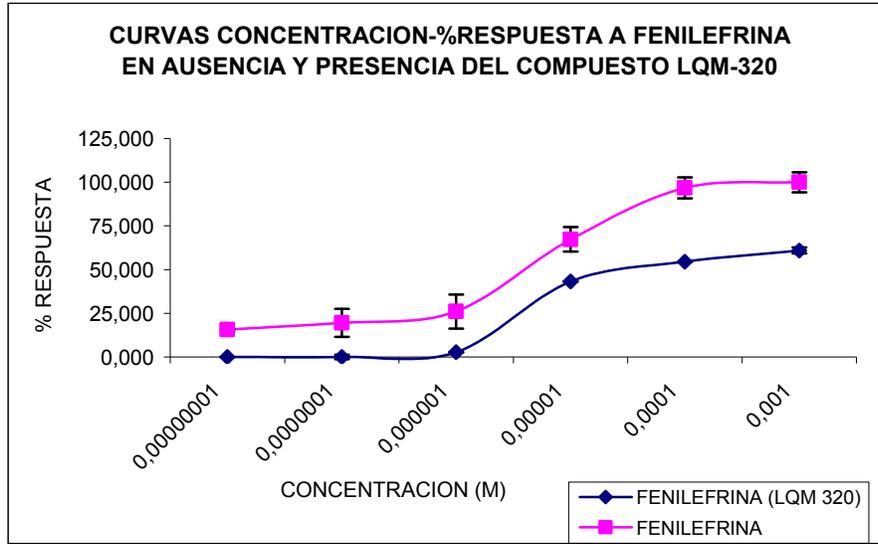


Figura 31. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-320 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-320 en la cual se aprecia una disminución considerable del porcentaje de respuesta en las primeras concentraciones y en las concentraciones mas altas hay un aumento del porcentaje de respuesta.

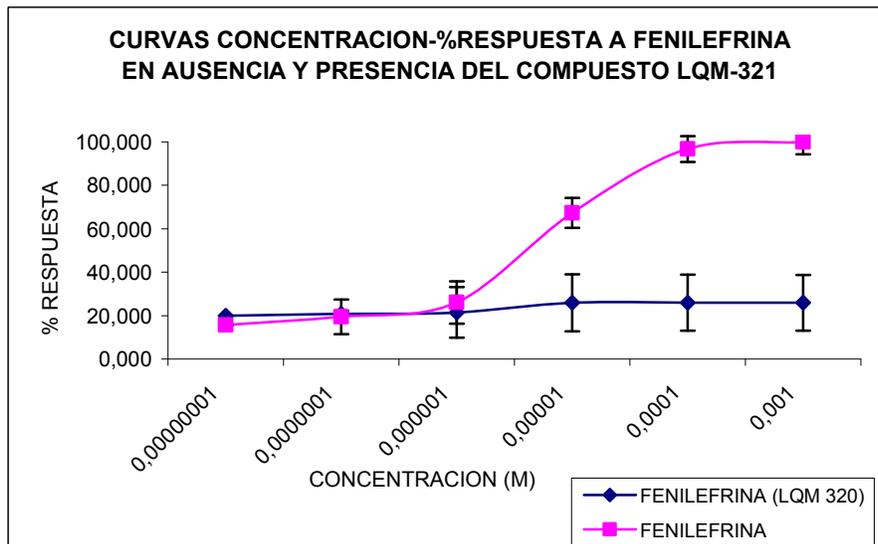


Figura 32. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-321 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-321 en la cual se aprecia una disminución considerable en todas las concentraciones.

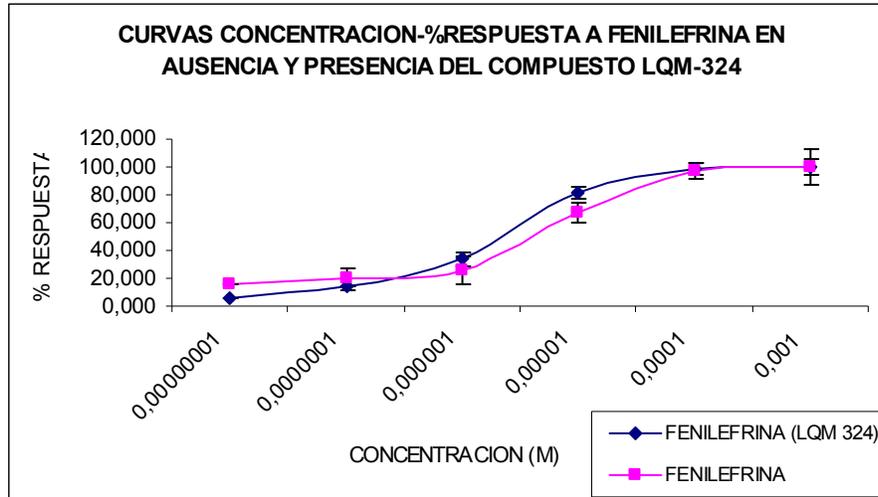


Figura 33. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-324 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-324 en la cual se presenta un ligero aumento en el porcentaje de respuesta y en color negro el error estándar.

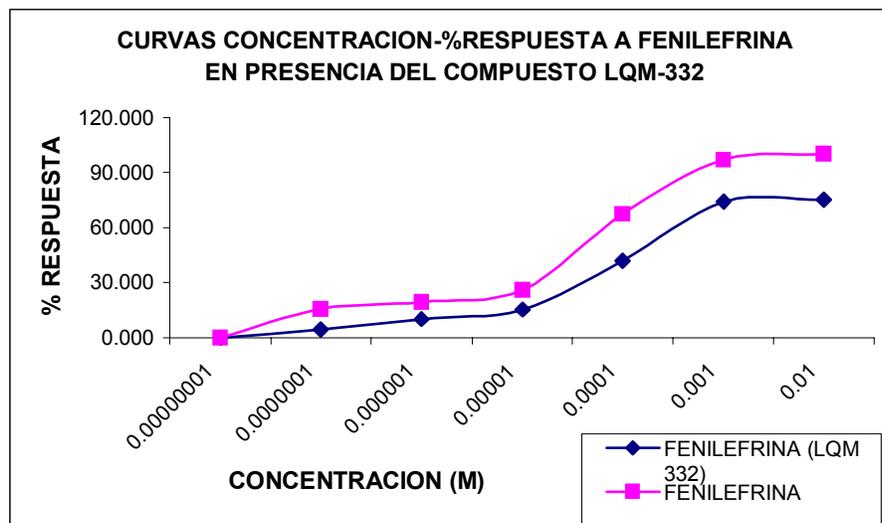


Figura 34. Curva Concentración -% Respuesta a Fenilefrina con el compuesto LQM-332 en un modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho joven. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n = 5 Mostrando en línea rosa la curva correspondiente a la fenilefrina, en color azul la curva de Fenilefrina con LQM-332 en la cual se presenta una ligera disminución del porcentaje de respuesta y en color negro el error estándar.

10) ANÁLISIS DE RESULTADOS

Sabemos que México forma parte de los países en vías de desarrollo, debido a esto en nuestro país es difícil que se realicen investigaciones para el desarrollo de nuevos fármacos debido al alto costo que esto implica,⁶ por tal motivo los investigadores de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán en la Unidad de Posgrado, han decidido crear nuevos fármacos con la finalidad de ayudar a la población mexicana en el tratamiento de las cardiopatías esto resulta muy prometedor, aunque no será una tarea fácil; los profesionales que laboran en ella están comprometidos para lograr que este proyecto sea todo un éxito. El proyecto comprende el diseño asistido por computadora, desarrollo, síntesis y evaluación de una serie de compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos además el de determinar si estos compuestos posee alguna actividad farmacológica, por lo cual en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar, se emplean métodos *In Vivo*, esto métodos se basan en la utilización de diferentes tejidos de animales ya que poseen una gran cantidad de receptores por lo que se puede determinar su mecanismo de acción mediante la relación grafica entre la magnitud de la respuesta y la concentración que la produce. Para poder determinar que estos compuestos poseen actividad sobre los receptores α_1 localizados en el músculo cardiaco, se utilizo un agonista específico para estos receptores, como lo es la Fenilefrina, su estructura posee ciertas características que lo hace selectivo para este tipo de receptores, como lo es el grupo etilamina localizado en la posición 3 del fenol.

Los compuestos evaluados fueron los siguientes: Morfolínicos (LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314, y Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM 332), químicamente constituidos por dos anillos de morfolina (los primeros) y dos anillos tiomorfolina (para los segundos) con sus correspondientes sustituyentes que les dan ciertas propiedades diferentes lo cual se puede corroborar ya que los compuestos presentaron diferente actividad sobre la contracción de la aurícula derecha.

Como ya se menciono se utilizo la fenilefrina como un agonista alfa adrenergico, el cual actúa sobre la activación de la proteína G en específico G_q las cuales a su vez activan a la fosfolipasa C la cual hidroliza los polifosfoinositidos dando como resultado que se

formen segundos mensajeros como el IP_3 y el DG. Los cuales provocan el aumento de la concentración intracelular de Ca^{2+} por lo cual se presenta una respuesta celular, en nuestro caso de la contracción de la aurícula, por el aumento de dicho ion.

Para los compuestos evaluados LQM-309, LQM-313, LQM-318, LQM-319, LQM-320 Y LQM-332, se puede ver claramente que el efecto contráctil de la fenilefrina se ve disminuido por la presencia de estos compuesto (figura: 12, 15, 17, 18, 19 y 22 respectivamente). Para realizar un análisis completo se determino el método doble recíproca el cual ayuda a determinar el tipo de antagonismo que presentan dichos compuestos, el efecto antagónico que presenta es de tipo no competitivo entendiéndose por este efecto antagónico como aquel que se lleva a cabo en aquellos fármacos que pueden evitar la unión del agonista o impedir que este active al receptor, al ver sus figuras correspondientes (Panel B),se puede ver claramente que se cumple con lo que el método menciona; para que posean un efecto antagónico de tipo no competitivo es necesario que su efecto máximo se vea disminuido, pero su constante de afinidad sea la misma, por lo cual se realizó un análisis estadístico de t de student para datos no apareados y se determino que no hay diferencia significativa entre las K_D con lo cual se cumple con este punto.

La potencia del efecto para disminuir la contracción dada por la Fenilefrina de estos compuestos queda en el orden siguiente: LQM-313> LQM-320>LQM-318> LQM-332> LQM-309> LQM-319.

Los compuestos evaluados que poseen una total disminución de la contracción muscular dada por la Fenilefrina fueron: el compuesto LQM-321 y LQM-314 desde la primera concentración de 10^{-10} hasta $10^{-3}M$, con lo cual podemos ver claramente (figura 16 y 20) que a estos compuesto no se les realizó el análisis del método doble recíproca. Por lo que se propone disminuir a un mas la concentración del compuesto LQM-314 y LQM-321 ($10^{-9}M$) con la finalidad de determinar cual es la concentración necesaria para poder

determinar que tipo de efecto antagónico presenta en presencia de Fenilefrina (antagonismo competitivo o no competitivo).

Para el compuesto LQM-308 se puede ver que tiene una tendencia a disminuir la respuesta contráctil de la fenilefrina sobre la aurícula derecha, al realiza el análisis mediante el empleo del método doble reciproca se aprecia que posee un efecto antagónico de tipo competitivo, ya que su valor de efecto máximo es semejante al de la fenilefrina sola y su constate de afinidad es diferente.

Para los compuestos LQM-310, LQM-312 y LQM-324 se puede observar que en las figuras 13, 14 y 21 aumentan el efecto contráctil de la Fenilefrina en presencia de estos, es decir hay un sinergismo de potenciación de efectos, entendiéndose por esto el incremento del efecto dela Fenilefrina. Esto podría estar sucediendo debido a que estos compuesto se pueden combinar muy firmemente con un sitio alostérico en el receptor (no es un sitio de Fenilefrina); por lo tanto, induce a cambios de conformación que reducen la afinidad del agonista por su sitio, pero en concentraciones mas altas de agonista se puede producir una respuesta máxima a pesar de la existencia de la firme unión del agonista.

11) CONCLUSIÓN

- ∅ Se aplicó el modelo experimental *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho, para evaluar el efecto de 6 compuestos Morfolínicos (QM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314) y 6 compuestos Tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-324, LQM-332) con respecto a la contracción ejercida por la fenilefrina.
- ∅ Los compuestos LQM-309, LQM-313, LQM-314, LQM-318, LQM-319, LQM-320 y LQM-332 mostraron un efecto antagónico de tipo no competitivo sobre la contracción de la aurícula derecha.
- ∅ El compuesto LQM-308 presentó un efecto antagónico de tipo competitivo sobre la contracción auricular.
- ∅ Los compuestos LQM-310, LQM-312 y LQM-324 presentaron una tendencia a generar sinergismo de potenciación sobre la contracción de la aurícula derecha de rata.
- ∅ En base a los resultados obtenidos se sugiere utilizar concentraciones más bajas de los compuestos LQM-314 y LQM-321 para determinar la concentración necesaria para antagonizar el efecto contráctil de la fenilefrina de una manera que no se genere un abatimiento total de la respuesta contráctil de la fenilefrina y así poder determinar el tipo de efecto antagónico que presentan dichos compuestos.

COMENTARIOS

Inicialmente estos compuestos han demostrado en modelos *in vitro* una respuesta hipotensora y antihipertensiva ya que se han evaluado en ratas Wistar anestesiada e Hipertensa Espontánea. Estos compuestos han sido capaces de disminuir la presión arterial. La finalidad de la evaluación de los compuestos LQM 300's sobre la contracción de la aurícula derecha fue importante porque se determinó que estos compuestos actúan sobre los receptores adrenérgicos α_1 . Por otro lado se determinó que son capaces de afectar la contracción del músculo cardíaco. Por los resultados obtenidos podemos decir que requerimos de compuestos que disminuyan la presión arterial sin la modificación de la función contráctil del corazón en el tratamiento de la hipertensión arterial. Por lo que sugerimos dar seguimiento a aquellos compuestos LQM 300's que no modifiquen esta actividad como en el caso de los compuestos LQM-310, LQM-312 y LQM-324.

Se sugiere que se continúen con los estudios sobre la actividad adrenérgica α_1 sobre la musculatura lisa vascular, utilizando anillos de aorta de rata normotensa e hipertensa espontánea con el propósito de conocer si la vasodilatación estará dada por el antagonismo a la Fenilefrina.

12) REFERENCIAS

1. Avendaño, López Carmen, 2001. Introducción a la química Farmacéutica. 2ª Ed. Mc Graw-Hill Interamericana, España, S.A. Madrid España. Pp. 39, 40.
2. Champe, Pamela. 2004 "Farmacología". 2ª. Ed. Mc. Graw-Hill. México. Pp. 23-27.
3. Dawson, James S. 2003 "Lo esencial en Farmacología" 2ª Ed. El Sevier. España. Pp.8 y 9.
4. Flores Monrroy, Jazmín. "Efecto del LQM-301, LQM-304, LQM-308, LQM-310, LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM 323 sobre la frecuencia cardíaca y el intervalo P-R en Rata anestesiada. QFB. FESC-UNAM
5. Florez, Jesús, Armijo, Juan Antonio y Mediavilla, África. 1998. Farmacología humana. 3ª ED. Masson S.A. Pamplona, España. 7-17, 36-38, 240-246pp.
6. Galbis Pérez Juan Antonio. 2004. "Panorama Actual de la Química Farmacéutica". 2ª ED. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Sevilla, España. 125-298pp.
7. Ganong, F. William, 2004. Fisiología Médica. 19ª ED. El Manual Moderno. México D.F. 595-598pp
8. Gennaro Alfonso. 2003. Farmacia. Remington. Tomo I 20ª ED. Panamericana. Madrid España. 99, 527,pp.
9. Goldstein, 1979 "Farmacología". Editorial Limusa. México. Pp. 97-124.
10. Hardman, Limbird & Gilman, 2002. Goodman & Gilman, las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Vol. I, 10ª ed. Mac Graw-hill, México, D.F. 13-16, 229pp

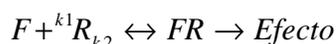
11. Harold Kalant 2002 "Principios de Farmacología Medica". 6ª Ed. Oxford México. Pp. 84-88.
12. Herbert, Charles. 1964. "Bases Fisiológicas de la Practica Medica". Hispano-Americana. Barcelona pp. 143-15
13. Higashida Berta. 2001. "Ciencias de la Salud" 4ª. Ed. Mc Graw-HillMexico. Pp.157-164.
14. Mandrazo Ríos, José Manuel. 2005. "Actuales factores de riesgo aterogenico en la genesis de la cardiopatía isquemica problemática epidemiológica mundial". Revista Cubana Invest Biomed 24(2).
15. Posada Galarza Ma. Eugenia. "Recopilación Propiedades fisicoquímicas de los Fármacos".FESC-UNAM. Pp1-31
16. Rangel Serrano, Angeles. 1999 "Función y propiedades bioquímicas de las proteínas G". Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Pp.5358.
17. Tapia López, M. Elizabeth, 2006. Determinación del efecto hipotensor de la serie de compuestos diseñados por computadora Dimorfolinicos y Tiomorfolinico UNAM, México. 38-43pp.
18. Tortora, J. Gerard, Grabowsky, Reynolds Sandra, 2003. Principios de Anatomía y Fisiología. 9ª ED. Oxford University Press, México S.A. de C.V. México D.F. 657-659pp
19. Velasco, Alfonso. 2001. "Compendio de Farmacología". Editorial Santos. Madrid. Pp. 90-200.
20. Velázquez. 2005. "Farmacología Básica y Clínica" 17ª ED. Panamericana pp. 61, 64-71.

21. Vidrio, Horacio, Rojas, José 1987 "Principios de Farmacología General". Consejo Nacional de Fomento Educativo Sep, Depto Farmacología Facultad de Medicina UNAM.
22. <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/f007.htm>. Clasificación de los receptores alfa.
23. <http://www.revespcardiol.org> el 05/06/2007. La vía de señalización Rho/Rho-cinasa en la enfermedad y el remodelado cardiovascular Jorge Jalila, Sergio Lavanderob,c, Mario Chiongb,c y María Paz Ocaranza
22. http://www.skillstat.com/heartscape/chambers_esp.htm Aurícula derecha.
23. http://texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/cond_sp.cfm Sistema de conducción.

ANEXO I

METODO DE RECIPROCO DOBLE ^{9, 11, 21.}

Según la teoría Ocupacional, postulada por Clark dice que el efecto de un fármaco es proporcional a la acción de receptores que ocupa, presentándose el efecto máximo cuando se ocupan todos los receptores. Si se supone que un agonista se une a su receptor en forma irreversible, la ecuación que describe esta reacción sería:



En la que F representa al fármaco, R a los receptores y FR al complejo fármaco-receptor; k_a y k_2 son las constantes que rigen respectivamente al *asociación* y la *disociación* de F y R. Esta reacción es semejante a la interacción de una enzima con su sustrato, en donde la magnitud del efecto correspondería a la formación del producto. Ordenando los elementos de acuerdo con la *ecuación de Michelis Menten* para enzimas y sustratos se tendría:

$$E = \frac{E_m(F)}{K_D + (F)}$$

En donde (F) es la concentración del fármaco libre (no unido al receptor) y K_D (que corresponde a k_2 y k_1 ,) es la *constante de disociación* del complejo fármaco-receptor.

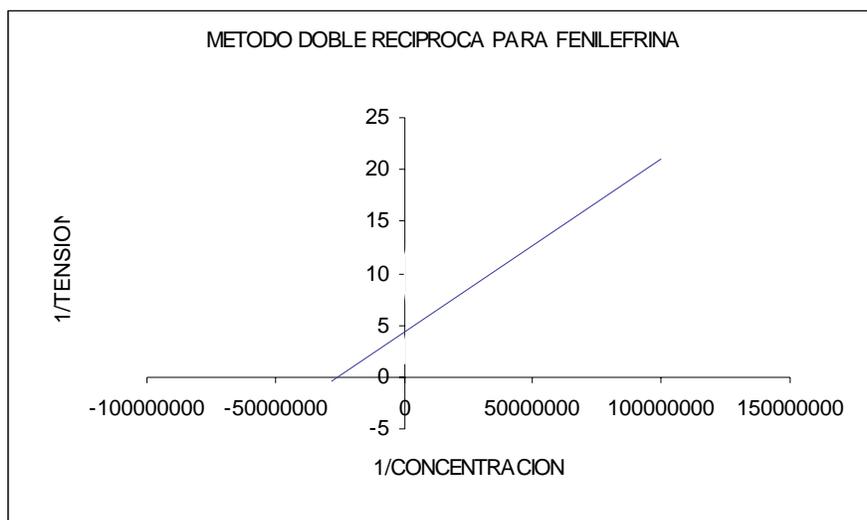
La teoría ocupacional ha sido bastante útil porque permite explicar como actúa un fármaco y también permite hacer representaciones graficas de la relación concentración-respuesta. Por lo tanto si empleamos la expresión doble reciproca, la ecuación de Michaelis-Menten se transforma en una recta cuya ecuación es la siguiente:

$$\frac{1}{E} = \frac{K_d}{E_m} * \frac{1}{(F)} + \frac{1}{E_{\max}}$$

Si la relación del efecto es la mitad del efecto máximo, resulta que $K_D = (F)$ que produce el 50% del efecto máximo. Si la relación entre el efecto y el efecto máximo es el inverso (1/2), resulta que K_D es igual a la concentración del fármaco que produce el 50% del efecto máximo, lo que se conoce también con DE_{50} .

La grafica doble reciproca se ha empleado para analizar los antagonismos, ya sea de tipo **competitivo** (fármaco que tiene la capacidad de unirse al receptor, pero incapaz de producir una respuesta) donde se puede apreciar en dicha grafica que el Efecto máximo es el mismo pero su constante de afinidad es diferente. En el caso de ser un antagonismo del tipo **no competitivo** (estos fármacos pueden evitar la unión del agonista o impedir que este active al receptor), el efecto máximo se reduce y la K_d es igual.

GRAFICA DEL RECIPROCA DOBLE DE LOS COMPUESTOS PROBADOS QUE DISMINUYERON LA RESPUESTA A LA FENILEFRINA.



. Reciproco doble para Fenilefrina, extrapolando en el eje de las X obtenemos el valor de su K_d .

OBTENIENDO UNA k_D POR MEDIO DE LA ECUACIÓN DE LA RECTA

K_d promedio = $1.1 \cdot 10^{-7}$

Kd extrapolada = $9 \cdot 10^{-7}$

ANEXO II

TABLAS DE ANOVA

En el siguiente anexo se presenta el análisis estadístico de varianza (ANOVA) para cada compuesto, de los datos obtenidos del método doble recíproca el cual nos permite determinar si hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos.

Para ello se plantean las siguientes hipótesis:

Ho: las medias de las Gráficas de doble recíproco son iguales a las medias de las medias de la curva concentración-respuesta.

Hi: al menos un par de ellas son diferentes.

Si $F_{exp} < F_{tab}$ = no se rechaza Ho si $F_{exp} > F_{tab}$ = se rechaza Ho

2.1 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-308

	FENILEFRINA	LQM 308
100000000	20	13.15
10000000	15.9	10
1000000	4.4	7.24
100000	1.55	3.24
10000	1.34	2.14
1000	1.32	2.02

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.418333333	69.5840967
Columna 2	6	37.79	6.298333333	21.2967367

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.7632	1	3.7632	0.08281614	0.77939255	4.96459052
Dentro de los grupos	454.4041667	10	45.4404167			

Total	458.1673667	11			
-------	-------------	----	--	--	--

Se acepta Ho, para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-308.

2.2 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-309

	FENILEFRINA	LQM 309
100000000	20	33.3
10000000	15.9	32.3
1000000	4.4	6.8
100000	1.55	3.3
10000	1.34	1.4
1000	1.32	1.3

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	78.3340651	13.0556775	237.795742

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	95.3389481	1	95.3389481	0.62033313	0.44918899	4.96459052
Dentro de los grupos	1536.89919	10	153.689919			
Total	1632.23814	11				

2.3 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-310

	FENILEFRINA	LQM-310
100000000	20	8.8
10000000	15.9	5.1
1000000	4.4	2.0
100000	1.55	0.9
10000	1.34	0.9
1000	1.32	0.9

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	18.6571421	3.10952369	10.2821664

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	55.6975217	1	55.6975217	1.39476969	0.26492772	4.96459052
Dentro de los grupos	399.331316	10	39.9331316			
Total	455.028837	11				

Se acepta Ho, para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-310

2.4 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-312

	FENILEFRINA	LQM-312
100000000	20	10.0
10000000	15.9	7.1
1000000	4.4	2.0
100000	1.55	1.3
10000	1.34	1.3
1000	1.32	1.3

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	23.1058518	3.8509753	14.1443949

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	38.1781301	1	38.1781301	0.91195074	0.36211203	4.96459052

Se acepta Ho, para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-312

2.5
en

	FENILEFRINA	LQM-313
100000000	20	33.3
10000000	15.9	20.0
1000000	4.4	4.3
100000	1.55	2.5
10000	1.34	2.5
1000	1.32	2.5

**Análisis de ANOVA para Fenilefrina
presencia del compuesto LQM-313**

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	65.1811594	10.8635266	168.133489

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	35.6080693	1	35.6080693	0.29958296	0.59614717	4.96459052
Dentro de los grupos	1188.58793	10	118.858793			
Total	1224.196	11				

Se acepta Ho, para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-313

2.5 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-318

CONCENTRACION	FENILEFRINA	LQM-318
100000000	20	100
10000000	15.9	100
1000000	4.4	47.6
100000	1.55	5.7
10000	1.34	2.3
1000	1.32	2.0

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.4	69.5
Columna 2	6	257.6	42.9	2249.78

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3784.30327	1	3784.3032	3.263220101	0.1009870869	4.964590516
Dentro de los grupos	11596.83733	10	1159.68373			
Total	15381.140606	11				

Se acepta H_0 , para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-318

2.6 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-319

	FENILEFRINA	LQM-319
100000000	20	142.9
10000000	15.9	76.9
1000000	4.4	10.0
100000	1.55	2.0
10000	1.34	1.3
1000	1.32	1.3

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	234.276945	39.0461575	3456.96038

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio d De los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3000.95779	1	3000.95779	1.70192539	0.22126046	4.96459052
Dentro de los grupos	17632.7224	10	1763.27224			
Total	20633.6802	11				

Se acepta H_0 , para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-319

2.7 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-320

	FENILEFRINA	LQM-320
100000000	20	100.0
10000000	15.9	100.0
1000000	4.4	33.3
100000	1.55	3.6
10000	1.34	3.2
1000	1.32	3.0

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	243.135041	40.5225068	2258.18744

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3287.6589	1	3287.6589	2.82472643	0.12374094	4.96459052
Dentro de los grupos	11638.8577	10	1163.88577			
Total	14926.5166	11				

Se acepta H_0 , para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-320

2.8 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-324

	FENILEFRINA	LQM-324
100000000	20	17.5
10000000	15.9	5.6
1000000	4.4	2.4
100000	1.55	1.2
10000	1.34	1.1
1000	1.32	1.1

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	28.81521047	4.80253508	41.9772564

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	20.5272015	1	20.5272015	0.36799843	0.55761745	4.96459052
Dentro de los grupos	557.806766	10	55.7806766			

Se acepta H_0 , para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-324

2.9 Análisis de ANOVA para Fenilefrina en presencia del compuesto LQM-332

	FENILEFRINA	LQM-332
100000000	20	37.0
10000000	15.9	16.4
1000000	4.4	11.0
100000	1.55	3.5
10000	1.34	2.0
1000	1.32	2.0

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	6	44.51	7.41833333	69.5840967
Columna 2	6	71.9161184	11.9860197	183.882439

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	62.5912772	1	62.5912772	0.49388198	0.49823385	4.96459052
Dentro de los grupos	1267.33268	10	126.733268			
Total	1329.92395	11				

Se acepta H_0 , para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-332