



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE 8 COMPUESTOS
MORFOLÍNICOS (LQM301, LQM302, LQM308, LQM309,
LQM310, LQM312, LQM313, LQM314), 6 COMPUESTOS
TIOMORFOLÍNICOS (LQM318, LQM319, LQM320, LQM321,
LQM322, LQM324) Y 1 COMPUESTO DIPIPERIDÍNICO
(LQM335) SOBRE LA CONTRACCIÓN DE LA
AURÍCULA DERECHA DE RATA WISTAR”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ROSA ISELA HERNÁNDEZ REVUELTA

ASESORA: DRA. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE.



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Determinación del efecto de 8 compuestos morfólinicos (LQM301, LQM302, LQM308, LQM309, LQM310, LQM312, LQM313, LQM314), 6 compuestos tiorfólinicos (LQM318, LQM319, LQM320, LQM321, LQM322, LQM324) y 1 compuesto dipiperidínico (LQM335) sobre la contracción de la aurícula derecha de Rata Wistar.

Que presenta la pasante: Rosa Isela Hernández Revuelta
Con número de cuenta: 403015157 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 HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 9 de noviembre de 2011.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Luisa Martínez Aguilar	
VOCAL	Dr. Enrique R. Angeles Anguiano	
SECRETARIO	M.E. Ma. Esther Revuelta Miranda	
1er SUPLENTE	Q. Sonia Rincón Arce	
2do SUPLENTE	Q. Lidia Elena Ballesteros Hernández	

NOTA: los ciudadanos suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120) HIA/pm

A G R A D E C I M I E N T O S

DIOS:

Gracias señor por permitir que este momento llegara, gracias por todo lo recibido y aprendido, gracias porque en los momentos difíciles me diste fortaleza, te pido bendigas a todas las personas que pusiste en mi camino y que ayudaron a que este logro fuera posible. Bendice a nuestras autoridades, dales sabiduría para que siga habiendo educación gratuita y de excelencia, que en nuestro país se sigan teniendo oportunidades para que más personas sean profesionistas y tengamos un México próspero y culto. Amén.

Madre:

Gracias, mil gracias, porque cuando tuviste que elegir elegiste darme la vida, te debo todo lo que soy, este es un pequeño agradecimiento y reconocimiento por todos los sacrificios y desvelos que pasaste para que este momento se hiciera realidad, gracias por tu infinito apoyo, gracias por estar conmigo siempre, en todo momento. Gracias a Dios por tu vida. Dios te bendiga.

Lili, Juan, Victor y Cristóbal:

Les agradezco todos los momentos vividos, les agradezco su manera tan especial de hacerme ver que no había razón para dejar los estudios, sé que comparten mi felicidad y la hacen suya, gracias por el apoyo que cada uno me brindó para que yo pudiera estudiar. No puedo más que pedirle a Dios que los bendiga. Sirva el presente como ejemplo de que no importa la situación que estemos viviendo, la unidad que tenemos como familia nos va a permitir apoyarnos e impulsarnos para ir cumpliendo nuestros sueños. Los amo.

Karla y Paula:

Ustedes son lo más bello y mis dos grandes bendiciones que Dios me ha dado, gracias porque con su existencia dan vida a la mía, gracias por aguantarme el paso, gracias por su paciencia y comprensión cuando por estudiar no estaba con ustedes, nunca se den por vencidas, la vida tiene tropiezos y momentos duros, pero ahí es cuando hay que tener el coraje y la determinación para alcanzar nuestras metas. Mis niñas: la vida es bella pero cuando estamos con el Señor es maravillosa. Este logro es de las tres.

Familia Quintanar Montalvo:

Por sus oraciones y apoyo cuando los necesitaba, por su sincera amistad, por acercarme a Jesucristo, muchas gracias.

Enrique Velázquez:

Amigo ¿qué te digo?, sabes que eres la respuesta de lo que algún día al cielo pedí. Gracias por tu sincera amistad, gracias por toda la ayuda brindada que me ha llevado a lo que ahora soy, gracias por haber dado el banderazo de salida... *hoy hemos llegado a la meta.*

Lucy (Luca):

Siempre recuerda: las mandarinas no solo te mantienen viva, también hacen florecer una amistad.

Familia Aguiñiga Martínez:

No hay palabras suficientes ni manera de pagar su apoyo incondicional, lucharon día a día conmigo y en los momentos más difíciles duplicaron su ayuda sosteniéndome para no desfallecer haciendo tuyas mis penas y alegrías. Lo único que puedo decirles es: Gracias por ser mi segunda familia. Pido a Dios bendiga sus vidas y sigamos unidos como siempre. Los amo.

José Luis Gutierrez:

A pesar del tiempo y la distancia aquí estamos y siempre estaremos, eres hombre de pocas palabras y muy a tu estilo siempre utilizaste las adecuadas para motivarme a terminar este proyecto de vida. Gracias.

Israel Torres:

Muñeco: por siempre escuchar mis patoaventuras, por siempre estar cuando te busco, gracias. Que nuestra amistad siempre perdure.

Lety Sánchez:

Mi niña, hemos pasado tantos momentos inolvidables, y aunque te rías de mis locuras, gracias por apoyarlas.

Martin Miranda:

A veces las palabras de apoyo no vienen de quien las quieres escuchar, pero esa circunstancia también te motiva a alcanzar lo que te propones... gracias por ayudar a sacar lo mejor de mi.

Dra. Luisa Martínez:

Gracias por haberme invitado a realizar este trabajo y ser participe de este proyecto. Ha sido un gusto y privilegio haber trabajado a su lado. Gracias por su amistad, paciencia y confianza mostrada.

Comunidad de la baraja:

Y ya solo quedan las anécdotas dignas de recordar y de hacer charlas interminables. Cecy: por aceptar dignamente tu misión en esta vida: hacerme entender la Química Orgánica, Gracias. Dany: por hacer uso del humor negro cuando alguien quería saber de mi vida, por prestarme tu hombro en aquellos días tan difíciles, gracias. Y recuerda: malditos Thundercats!. Mona, Lucia y Mariana: gracias porque con todas las locuras que se les ocurrían me hacían reír y ver la importancia de disfrutar cada momento de la vida. Gracias John, por las apasionantes charlas sobre Caballo de Troya. Gracias Jimmy, por la paciencia que me mostrabas (sé que no fue fácil). Gracias Mark, porque con tan solo decir "esta papita" me enseñaste que no importa lo difícil que parezcan las cosas, nosotros siempre podemos; gracias porque no importando lo que hiciera tu amistad fue incondicional.

Gracias: Nely, Rocio, Jacky, Aline, Jazmin (more), Oli, Araceli, Grisel, Arianna, Danna, Eva, Jazz (guera), Iván, Mauricio, Hugo, Agustín, Oscar, Pablo, Joel, Quetza, Edgar, Cristian y hermanos Montalvo, por su amistad y momentos compartidos.

Alejandra González:

Ale bonita, gracias por la sincera amistad que sin conocerme me ofreciste, por tu confianza, por las palabras de apoyo y fe que siempre tienes para mí.

Erika González y Faby Monterrubio:

Gracias chicas por su amistad y sus sabios consejos, por las confidencias, por las risas y llantos, y por todo lo que venga...

Octavio Chavarria:

Ocpa, la vida es una locura, nos ha atrapado y ha llenado nuestras vidas de coincidencias y solo Dios sabe la razón de todo eso, gracias por interesarte en nuestras vidas, por compartir, apoyar e impulsar todas nuestras ideas y disfrutar cada logro alcanzado. Sé que este momento lo disfrutas tanto como yo.



ÍNDICE GENERAL

➤ ÍNDICE GENERAL	VII
➤ ÍNDICE DE ABREVIATURAS	X
➤ ÍNDICE DE FIGURAS	XII
➤ ÍNDICE DE TABLAS	XIII
➤ GRÁFICAS	XV
1.0 INTRODUCCIÓN	1
2.0 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general.	3
2.2 Objetivos particulares	3
3.0 HIPÓTESIS	5
4.0 MARCO TEÓRICO	6
4.1 Introducción de nuevos fármacos	6
4.2 Pruebas de Screening	7
4.3 Soluciones Salinas fisiológicas	7
4.4 Receptores	9
4.4.1 Receptores de fármacos	10
4.5 Clasificación de receptores	11
4.5.1 Receptores adrenérgicos: adrenoreceptores	11
4.5.2 Mecanismos moleculares en respuesta a la activación B-Adrenérgica	12
4.5.3 Subtipos de Adrenoreceptores β	14
4.5.4 Receptores β_1	15
4.6 Mecanismos de señalización	15
4.6.1 Segundos mensajeros	17



4.6.2	Proteínas G	17
4.6.3	Receptores acoplados a proteína G	18
4.7	Agonismo y Antagonismo	18
4.8	Aspectos cuantitativos de la acción farmacológica	20
4.8.1	Gráficas dosis-respuesta graduales	21
4.8.2	Análisis de K_D	24
4.8.3	Gráfica doble recíproca	24
4.9	Aspectos generales y organización del Sistema Cardiovascular	25
4.9.1	El corazón	25
4.9.2	Músculo cardíaco	27
4.9.3	El latido cardíaco	27
4.10	Catecolaminas	29
4.10.1	Efectos de las catecolaminas	30
4.10.2	Isoproterenol	30
4.11	Compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos.	32
4.11.1	Compuestos LQM.	34
5.0	MATERIAL Y MÉTODOS	38
5.1	Soluciones y reactivos	38
5.2	Equipo	38
5.3	Material	38
5.4	Material biológico	39
5.5	Compuestos a evaluar.	39
5.6	Preparación de la solución fisiológica de Krebs	39
5.7	Preparación de la solución de Isoproterenol	40
5.8	Preparación de la solución de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos	40
5.9	Preparación del equipo.	41
5.10	Desarrollo de la Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en ausencia de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínico	41



5.11 Desarrollo de la Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en presencia de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos.	42
6.0 RESULTADOS.	45
6.1 Curvas concentración-respuesta y dobles recíprocas	45
6.2 Compuestos LQM300 's que presentaron sinergismo	57
6.3 Curvas concentración-% respuesta a Isoproterenol en presencia de los compuestos LQM300 's	60
7.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS	70
8.0 CONCLUSIONES	77
9.0 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
10.0 ANEXOS	83



ÍNDICE DE ABREVIATURAS

α	Alfa
ACE	Enzima convertidora de angiotensina
AC	Adenilciclasa
AMP	Adenosin monofosfato
AMP _c	Monofosfato de adenosina ciclico
Atm	Atmósferas
ATP	Adenosin trifosfato
ATP _{asa}	Adenosin trifosfatasa
β	Beta
°C	Grado Celsius
C	Carbono
Ca ²⁺	Ión calcio
CO ₂	Dióxido de carbono
COOH	Grupo carboxilo
cm	Centímetros
DE ₅₀	Dosis efectiva cincuenta
DL ₅₀	Dosis letal cincuenta
DT ₅₀	Dosis tóxica cincuenta
E _{max}	Eficacia máxima
g	Gramos
G _s	Proteína G estimuladora
GDP	Guanosindifosfato
GMP _c	Guanosinmonofosfato ciclico
GTP	Guanosintrifosfato
HCl	Acido clorhídrico
K ⁺	Ión potasio
K _a	Constante de asociación
KD	Kilodaltos
K _D	Constante de afinidad
Kg	Kilogramo
LQM	Laboratorio de Química Medicinal
m	Metros
mseg	Milisegundos
mg	Miligramo
mmHg	Milímetros de mercurio
mL	Mililitros
mV	Milivolts
M	Molar
min	Minuto

ÍNDICE DE ABREVIATURAS



Na ⁺	Ión sodio
nM	Nanomolar
N	Normalidad
NH ₂	Grupo amino
PO ₄ ⁻²	Ión fosfato
OMS	Organización mundial de la salud
ONS	Sintetasa del oxido nítrico
PKA	Proteincinasa A
PKA _a	Proteincinasa A activada
PAD	Presión arterial diastólica
pH	Potencial de hidrógeno
PL	Fosfolamban
PM	Peso molecular
SA	Senoauricular
seg	Segundo
SNS	Sistema Nervioso Simpático
RS	Retículo sarcoplásmico
O ₂	Oxígeno
VA	Auriculoventricular
μL	Microlitros
μM	Micromolar
[H ⁺]	Iones de hidrógeno
[OH ⁻]	Iones oxidrilo
>	Mayor que
%	Por ciento



ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Mecanismo molecular de la activación B-adrenérgica
- Figura 2** Efecto de los antagonistas de un fármaco
- Figura 3** Curva teórica log Dosis-Respuesta
- Figura 4** Efecto antagónico competitivo
- Figura 5** Efecto antagónico no competitivo
- Figura 6** Diagrama esquemático del corazón
- Figura 7** Localización del nodo AS y Nodo AV
- Figura 8** Esquemización de la fase de Diástole
- Figura 9** Esquemización de la fase de sístole
- Figura 10** Representación gráfica del mecanismo de acción de una catecolamina
- Figura 11** Estructura química del Isoproterenol
- Figura 12** Mecanismo de acción del Isoproterenol
- Figura 13** División por regiones de la molécula Changrolina
- Figura 14** Reacción química de síntesis de la serie de compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos
- Figura 15** Esquema de una cámara de tejidos aislados
- Figura 16** Esquema general de trabajo



ÍNDICE DE TABLAS

- TABLA 1** Clave y estructura de los compuestos LQM300 ´s evaluados.
- TABLA 2** Determinación del % de efecto de los compuestos LQM300 ´s evaluados en aurícula derecha de rata Wistar tomando al Isoproterenol como referencia.
- TABLA 3** Determinación de la constante de afinidad (k_D) de los compuestos LQM300 ´s evaluados por el método de doble recíproca en aurícula derecha de rata Wistar.
- TABLA 4** Comparación del efecto entre distintos compuestos LQM300 ´s en aurícula derecha tomando a la Fenilefrina e Isoproterenol como referencia.
- TABLA 5** Comparación del efecto entre distintos compuestos LQM300 ´s en aurícula derecha y aorta tomando a la Fenilefrina y al Isoproterenol como referencia.
- TABLA 6** Anova de un factor LQM-301.
- TABLA 7** Anova de un factor LQM-302.
- TABLA 8** Anova de un factor LQM-308.
- TABLA 9** Anova de un factor LQM-309.
- TABLA 10** Anova de un factor LQM-310.
- TABLA 11** Anova de un factor LQM-312.
- TABLA 12** Anova de un factor LQM-313.
- TABLA 13** Anova de un factor LQM-314.
- TABLA 14** Anova de un factor LQM-318.
- TABLA 15** Anova de un factor LQM-319.
- TABLA 16** Anova de un factor LQM-320.



TABLA 17 Anova de un factor LQM-321.

TABLA 18 Anova de un factor LQM-322.

TABLA 19 Anova de un factor LQM-324.

TABLA 20 Anova de un factor LQM-335.



GRÁFICAS

- Gráfica 1A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol de aurícula derecha. Compuesto LQM-301.
- Gráfica 1B.** Representación grafica doble recíproca del Isoproterenol de aurícula derecha. Compuesto LQM-301.
- Gráfica 2A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-309.
- Gráfica 2B.** Representación grafica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-309.
- Gráfica 3A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-312.
- Gráfica 3B.** Representación grafica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-312.
- Gráfica 4A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-313.
- Gráfica 4B.** Representación grafica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-313.
- Gráfica 5A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-314.
- Gráfica 5B.** Representación gráfica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-314.
- Gráfica 6A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-318.
- Gráfica 6B.** Representación gráfica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-318.
- Gráfica 7A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-319.



- Gráfica 7B.** Representación gráfica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-319.
- Gráfica 8A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-320.
- Gráfica 8B.** Representación gráfica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-320.
- Gráfica 9A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-322.
- Gráfica 9B.** Representación gráfica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-322.
- Gráfica 10A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-324.
- Gráfica 10B.** Representación gráfica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-324.
- Gráfica 11A.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-335.
- Gráfica 11B.** Representación gráfica doble recíproca del Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-335.
- Gráfica 12.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-302.
- Gráfica 13.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-308.
- Gráfica 14.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-310.
- Gráfica 15.** Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-321.
- Gráfica 16.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-301.



- Gráfica 17.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-302.
- Gráfica 18.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-308.
- Gráfica 19.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-309.
- Gráfica 20.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-310.
- Gráfica 21.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-312.
- Gráfica 22.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-313.
- Gráfica 23.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-314.
- Gráfica 24.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-318.
- Gráfica 25.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-319.
- Gráfica 26.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-320.
- Gráfica 27.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-321.
- Gráfica 28.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-322.
- Gráfica 29.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-324.
- Gráfica 30.** Curva Concentración -%Respuesta a Isoproterenol en aurícula derecha. Compuesto LQM-335.



1.0 INTRODUCCIÓN

El edificio de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1 alberga laboratorios en los que se desarrollan líneas de investigación de interés del área de las ciencias de la salud, en este edificio se encuentran el laboratorio de Química Medicinal y el laboratorio de Farmacología del Miocardio a cargo del Dr. Enrique Ángeles y la Dra. Luisa Martínez respectivamente; estos investigadores retoman la investigación de Stout y sintetizan una nueva serie de compuestos LQM300's de origen morfolínico, tiomorfolínico y piperidínico, se pretende que estas moléculas presenten actividad biológica como antihipertensivos y menor toxicidad, ya que se realizó el modelaje molecular de los derivados piperidínicos encontrándose que estos compuestos tienen propiedades fisicoquímicas similares a la changrolina y sus derivados (Islas, J; 2009).

El presente es un reporte del trabajo realizado en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio del Edificio de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1 UNAM bajo la asesoría de la Dra. Luisa Martínez con el propósito de determinar bajo el modelo experimental *In Vitro* el efecto de los compuestos morfolínicos (LQM-301, LQM-302, LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314), los compuestos tiomorfolínicos (LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-322, LQM-324) y el compuesto piperidínico LQM-335 sobre los receptores β adrenérgicos en la contracción cardíaca de aurícula derecha de rata Wistar macho. Para poder determinar si estos compuestos poseen actividad agonista o antagonista sobre los receptores β se utilizó Isoproterenol que de acuerdo a su naturaleza química se clasifica como una catecolamina sintética de acción directa que posee un grupo N-isopropilo en la cadena lateral y de acuerdo a su mecanismo de acción se clasifica como amina simpaticomimética que administrada como fármaco estimula directamente los adrenergicos β_1 y β_2 en el músculo cardíaco, siendo su acción sobre los receptores α insignificante (Matthew, L; Bruce, M; et al; 2006).



Los compuestos LQM300's sintetizados en el Laboratorio de Química Medicinal de esta misma Facultad poseen en su estructura un fenol sustituido y se clasifican de acuerdo al tipo de sustituyente que contengan (si el sustituyente es un átomo de oxígeno se les da el prefijo *morfo*, si el sustituyente es un átomo de azufre se le da el prefijo *tio* y si el sustituyente es una molécula de piperidina se le da el nombre Piperidina), los correspondientes sustituyentes les confieren distintas propiedades mismas que pueden analizarse mediante la relación gráfica entre la magnitud de la respuesta y la concentración que la produce y así evaluar cuales de estos compuestos presentan una disminución en la contracción cardíaca en aurícula derecha de rata Wistar macho^(Castillo, G; 2008).

Al comparar su desempeño con los fármacos que se encuentran en el mercado estos compuestos LQM300's mostraron una mayor efectividad, por lo que el potencial de estos compuestos es significativo en lo comercial y científico^(Islas, J; 2009). Una consecuencia de gran relevancia para estos compuestos LQM300's es que al haber sido sintetizados en México van a ser probados en población mexicana; "todos los fármacos que vienen del extranjero se prueban en población extranjera", por lo que la variación genética puede restarles efectividad^(Islas, J; 2009).

La infraestructura ha permitido establecer cinco modelos distintos, cuyos recursos provienen de proyectos de cátedra PACIVE (mecanismo interno de la FESC en apoyo a su investigación) PAPIME y PAPIIT^(Islas, J; 2009).

Lo anterior se realiza con la ayuda de estudiantes de esta misma facultad quienes bajo el concepto de servicio social colaboran en esta fase preclínica del desarrollo de un nuevo fármaco y así al mismo tiempo la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán fomenta el espíritu de investigación en su alumnado permitiéndoles aplicar los conocimientos adquiridos durante la carrera además de tener la oportunidad de ser participes en el desarrollo de fármacos enfocados a la población mexicana.



2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto sobre la contracción muscular cardíaca de 8 compuestos de origen Morfolínico (LQM301, LQM302, LQM308, LQM309, LQM310, LQM312, LQM313, LQM314), 6 compuestos de origen Tiomorfolínico (LQM318, LQM319, LQM320, LQM321, LQM 322 y LQM324) y 1 compuesto Dipiperídínico LQM335 en el modelo *In Vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho para determinar que compuestos disminuyen la contracción cardíaca.

2.2 Objetivos particulares

- Realizar las curvas Concentración-Respuesta a Isoproterenol en ausencia y presencia de los compuestos Morfolínicos (LQM301, LQM302, LQM308, LQM309, LQM310, LQM312, LQM313, LQM314), los compuestos Tiomorfolínicos (LQM318, LQM319, LQM320, LQM321, LQM322 y LQM324) y 1 compuesto Dipiperidínico LQM335 en el modelo *In Vitro* de aurícula derecha de rata Wistar macho para determinar su efecto sobre la contracción de aurícula derecha de rata Wistar.
- Realizar las curvas Concentración-%Respuesta a Isoproterenol en ausencia y presencia de los compuestos Morfolínicos (LQM301, LQM302, LQM308, LQM309, LQM310, LQM312, LQM313, LQM314), de los compuestos Tiomorfolínicos (LQM318, LQM319, LQM320, LQM321, LQM322 y LQM324) y el compuesto Dipiperidínico LQM335 para determinar el % de efecto sobre la contracción de aurícula derecha de rata Wistar.



OBJETIVOS

- Calcular las constantes de afinidad (K_D) de las curvas Concentración-Respuesta a Isoproterenol en ausencia y presencia de los compuestos Morfolínicos (LQM301, LQM-309, LQM-312, LQM313, LQM314), de los compuestos Tiomorfolínicos (LQM318, LQM319, LQM320, LQM322, LQM324) y el compuesto Dipiperidínico LQM335 mediante el método de doble recíproca con la finalidad de determinar el tipo de antagonismo que presentan.
- Ser participe de la investigación realizada por esta Facultad en el desarrollo de un nuevo fármaco antihipertensivo dirigido a la población mexicana, aportando a este trabajo los conocimientos adquiridos durante la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo.

3.0 HIPÓTESIS

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se han sintetizado un grupo de compuestos Morfolínicos, Tiomorfolínicos y Piperidínicos llamados LQM. De acuerdo a esta línea de investigación sabemos que los compuestos LQM300 ´s han mostrado un antagonismo no competitivo sobre receptores α_1 adrenérgicos, podemos decir entonces que estos compuestos pueden presentar un antagonismo *no competitivo* sobre los receptores β adrenérgicos en aurícula derecha del corazón de rata, por lo que se espera que estos compuestos LQM300 ´s disminuyan la contracción muscular cardiaca.



4.0 MARCO TEÓRICO

4.1 INTRODUCCIÓN DE NUEVOS FÁRMACOS

En algunas series de sustancias químicas la actividad farmacológica está íntimamente relacionada con su estructura química. Con frecuencia, pequeños cambios en la estructura de un fármaco modifican su eficacia: por esta razón dentro de una familia farmacológica, unos pueden tener propiedades agonistas y otros antagonistas (Bowman, W; Band, J; et al; 1970).

Antes de que se pueda administrar una sustancia a seres humanos, debe someterse a pruebas para demostrar su actividad farmacológica y toxicológica *In Vitro* y en animales (Kalant, H; Walter, H; Roschlau, E; 2002). Se piensa generalmente que en el caso más sencillo de experimento farmacológico "el tejido aislado", la concentración en la biofase es aproximadamente igual a la concentración a la que se ha administrado pues el fármaco no se combina ni se metaboliza (Bowman, W; et al; 1970).

Para comprender el mecanismo de acción de un fármaco es necesario considerar los efectos producidos sobre los sistemas biológicos en varios niveles de complejidad de su organización: acción sobre los sistemas enzimáticos, sobre las estructuras subcelulares; en las células; en órganos aislados o en sistemas de órganos, y finalmente en el animal intacto o en el hombre, ambos en estado de enfermedad y de salud (Bowman, W; et al; 1970).

Muchos medicamentos son extremadamente activos, siendo suficientes unos pocos microgramos o miligramos para producir cambios notables en las funciones humanas. Los farmacólogos que estudian los efectos de los fármacos sobre varios tejidos aislados a veces utilizan cantidades tan diminutas como son unos pocos picogramos por mililitro de solución (Bowman, W; et al; 1970).



4.2 PRUEBAS DE SCREENING

En la valoración preclínica de nuevos fármacos existen dos fases: primeramente se han de seleccionar las sustancias químicas potencialmente útiles mediante las pruebas farmacológicas adecuadas y en segundo lugar hay que investigar las que son peligrosas para rechazarlas ^(Kalant, H; Walter, H; et al; 2002). El papel del farmacólogo es desarrollar métodos que permitan distinguir todos los compuestos que posean una acción particular deseada. Las pruebas de screening están seleccionadas en primer lugar por su capacidad para detectar la acción de todos los fármacos de los cuales ya se conoce una acción particular ^(Bowman, W; et al; 1970).

El objetivo de un ensayo biológico es la medida de la cantidad de un fármaco en términos de actividad biológica. La comparación de la potencia de fármacos diferentes y que producen la misma acción tiene interés por diversas razones, como por ejemplo determinar la relación existente entre estructura química y actividad farmacológica y en el "screening" de compuestos que están siendo ensayados para estudiar su capacidad para producir una acción determinada. Además de las diferencias cuantitativas es necesario hallar las diferencias cualitativas; esto es particularmente interesante en el screening de posibles agentes terapéuticos, siendo necesario en ocasiones rechazar compuestos que tienen acciones colaterales o peligrosas además de la acción deseada ^(Bowman, W; et al; 1970).

4.3 SOLUCIONES SALINAS FISIOLÓGICAS

Los tejidos orgánicos pueden ser aislados del cuerpo y mantenidos en soluciones sencillas, permaneciendo intactas muchas de sus funciones. Se conoce con el nombre de solución de Ringer (nombre del investigador que la utilizó por primera vez) a la solución utilizada habitualmente para mantener aislados tejidos de rana, posteriormente se describieron por Locke y Tyrode soluciones que mantenían el funcionamiento de los tejidos de mamífero ^(Bowman, W; et al; 1970).



La solución desarrollada por Krebs se basó en el resultado del análisis de los constituyentes del plasma de mamífero. Una solución salina fisiológica debe tener las siguientes características:

Presión osmótica. Cuando dos soluciones están separadas por una membrana semipermeable, el agua tiende a moverse a través de la membrana desde la solución menos concentrada a la más concentrada; a este fenómeno se le denomina ósmosis. La presión aplicada en dirección opuesta, exactamente la necesaria para impedir la ósmosis se llama presión osmótica. Para la solución de Krebs a 37 °C, la presión osmótica es de 8.2 atm, la del plasma sanguíneo humano es de 6.6 atm (Bowman, W; et al; 1970).

Composición iónica. Las proporciones relativas entre las cantidades de los diversos iones en las soluciones salinas fisiológicas son similares a las que existen en el plasma (Bowman, 1970).

Aireación de la solución. Los tejidos aislados necesitan suministro de oxígeno para mantener su funcionamiento. La práctica usual es burbujearlo continuamente, ya que el oxígeno es muy poco soluble en el agua, pero la corriente gaseosa arrastra el dióxido de carbono y la solución se alcaliniza. En las soluciones salinas fisiológicas que tienen un bajo contenido de bicarbonato sódico, el pH después de la oxigenación puede llegar a cifras tan altas como pH 8. Aunque un pH tan alto en la sangre sería letal para el organismo, muchos tejidos aislados pueden continuar funcionando satisfactoriamente. Así, por ejemplo, se puede mantener un pH de 7.4 burbujearlo la solución de Krebs con una mezcla de 5% de CO₂ y 95% de O₂, mezcla de la que se dispone en el mercado (Bowman, W; et al; 1970).

Concentración de hidrogeniones (pH). El pH es mantenido a 7.4 mediante el funcionamiento de diversos mecanismos fisiológicos relacionados entre sí, pero depende en alto grado de la acción amortiguadora del sistema ión bicarbonato/ácido carbónico (Bowman, W; et al; 1970).



En la mayoría de las soluciones salinas fisiológicas, este es el único determinante del pH. La aireación con una mezcla de oxígeno y dióxido de carbono en las proporciones correctas proporciona un control mejor del pH (Bowman, W; et al; 1970).

Valor nutritivo. La glucosa en las soluciones sirve como fuente de energía para los tejidos aislados. El corazón, aislado del cuerpo y mantenido en un medio adecuado continúa latiendo durante horas y células cardíacas separadas del corazón y cultivadas en medio apropiado muestran también contracciones rítmicas. Si se impide que los impulsos del marcapasos senoauricular se extiendan por el corazón, éste permanece parado durante un rato pero comienza a latir de nuevo aunque a un ritmo más lento. Esto se debe a que otras partes del corazón han asumido las funciones del marcapasos (Bowman, W; et al; 1970).

4.4 RECEPTORES

Los receptores son componentes moleculares de naturaleza proteica específicos de un sistema biológico con los cuales los medicamentos interactúan para producir cambios en la función del organismo asociadas a veces a radicales lipídicos o hidrocarbonatos que se encuentran localizados en gran número en las membranas externas de las células, en el citoplasma y en el núcleo celular. Los receptores deben ser selectivos en sus características de fijación a ligandos (de tal modo que respondan a la señal química apropiada y no a otras sin significado) (Floréz, J; 2001).

El sitio receptor o sitio de reconocimiento para un fármaco es la región específica de la macromolécula que tiene una afinidad elevada y selectiva por la molécula farmacológica (Floréz, J; 2001). La interacción de un medicamento con su receptor es el suceso fundamental que inicia la acción del fármaco. El receptor presenta, por lo tanto, dos funciones fundamentales: unir al ligando específico y promover la respuesta efectora (Vargas, J; 2006).



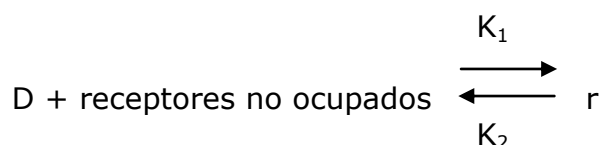
4.4.1 Receptores de fármacos

Casi todos los receptores de fármacos están formados por proteínas, muchas de las cuales fijan ligandos endógenos, como neurotransmisores, hormonas y factores de crecimiento. También hay muchos blancos no proteínicos para los efectos farmacológicos; entre estos figuran los componentes con fármacos lípidos, iones y agua. Sin importar la vía por la que se administren, los fármacos interactúan con múltiples componentes del cuerpo, pero no todas las interacciones causan un efecto (Vargas, J; 2006).

El modelo cerradura-llave para referirse a la acción de un fármaco nos da a veces una guía útil respecto a la posible actividad farmacológica de un compuesto químico nuevo; si existe semejanza química con un compuesto de acción farmacológica conocida es de esperar que exista semejanza de acción, puesto que se puede combinar con el mismo receptor. Una visión más real de la combinación fármaco-receptor surge de la consideración de las fuerzas de interacción existentes entre moléculas pequeñas (fármacos) y las superficies de proteínas (Bowman, W; et al; 1970). Hay ejemplos de fármacos que forman uniones covalentes con receptores muy poderosos (los cuales generalmente causan un efecto irreversible), pero la mayoría establece enlaces reversibles con sus receptores mediante una combinación de fuerzas electrostáticas, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. Para que estas fuerzas de fijación débiles y de corta duración puedan actuar, el ligando y el receptor deben acoplarse mutuamente, ligeras alteraciones en la molécula del fármaco ocasionarán cambios drásticos en la capacidad para unirse al receptor, lo cual se refleja en las potencias relativas de algunos fármacos (Matthew, L; et al; 2006). De igual manera, los receptores específicos también son estereoselectivos y tienen preferencia por alguno de los isómeros ópticos de un fármaco. Existen dos teorías principales de la acción de los fármacos, la teoría más antigua sostiene que la respuesta depende de la proporción de los receptores ocupados, conocida como teoría de la ocupación (Bowman, W; et al; 1970).



La otra teoría, inducida por Paton, parte de la suposición de que la respuesta depende de la velocidad de combinación del fármaco con sus receptores, y se conoce como teoría de la velocidad. La respuesta depende no solamente de la proporción de receptores ocupados, sino también de otra propiedad del agonista, la cual determina la efectividad del complejo receptor para originar una respuesta; a esta propiedad se le llama actividad intrínseca (según Ariens) o eficacia (según Stephenson) ((Bowman, W; et al; 1970). (Kalant, H; et al; 2002). La combinación del fármaco con su receptor (para producir la respuesta farmacológica) es de carácter reversible y se puede expresar como sigue:



Donde: D= concentración del fármaco.

r= proporción de receptores combinados con el fármaco.

k_1 y k_2 son las constantes de asociación y disociación del complejo.

El número total (o concentración) de los receptores no se puede determinar, pero se puede considerar como la unidad, entonces la proporción no ocupada durante la acción del fármaco es $1 - r$, se supone que la concentración del fármaco está en gran exceso, por lo cual la cantidad captada por el complejo no altera apreciablemente D.

4.5 CLASIFICACIÓN DE RECEPTORES

4.5.1 Receptores adrenérgicos: adrenoreceptores

Los adrenorreceptores son glucoproteínas de membrana de 64-68 kD, cuyas cadenas polipeptídicas (402-425 aminoácidos) poseen secuencias fuera de la célula (terminal NH_2), en la membrana celular (siete hélices transmembrana) y en el citoplasma (terminal COOH) (Kalant, H; et al; 2002).



Estas estructuras son las encargadas de activar la transducción de señales a través de proteínas G, en las células del organismo reciben selectivamente las señales de adrenalina y noradrenalina, y responden transformándola en una respuesta celular específica (Kalant, H; et al; 2002).

Ahlquist (1949) fue el primero que dedujo que había dos tipos de adrenerreceptores (alfa y beta) de acuerdo con las capacidades de la adrenalina, noradrenalina e isoproterenol para regular distintos procesos fisiológicos (Mycek, M; et al; 2006).

La potencia de los agonistas de adrenerreceptores alfa varía así:

adrenalina > noradrenalina > dopamina > isoproterenol.

En el caso de los adrenerreceptores beta la variación es:

isoproterenol > adrenalina > noradrenalina > dopamina.

La distribución del receptor determina la respuesta característica debido a que la liberación endógena de noradrenalina y adrenalina estimula todos los adrenerreceptores y los efectos en un órgano dado dependen del equilibrio entre los receptores alfa, beta y sus respectivos subtipos.

4.5.2 Mecanismos moleculares en respuesta a la activación B-adrenérgica

El B-adrenoreceptor es uno de los receptores asociados al sistema de la adenilciclase situado en la membrana celular. Cuando un agonista B ocupa su sitio de reconocimiento acoplado a una proteína G_s , inicia un proceso que termina en la activación de la adenilciclase, enzima que estimula la formación de adenosinmonofosfato cíclico (AMPC) y la consiguiente activación de la protein-cinasa AMPC-dependiente (protein-cinasa A, PKA), la cual se encargará de fosforilar.



En el miocardio, la estimulación B-adrenérgica provoca un aumento del AMPc y de la PKA. Esto explica claramente el incremento de la glucenolisis, pero no se conocen los pasos precisos a través de los cuales el AMPc estimula la actividad miotropa y cronotropa (Floréz, J; 2001). Se han propuesto las siguientes hipótesis:

- a) La PKA provoca la fosforilación de una proteína perteneciente al canal de Ca^{2+} dependiente del voltaje; como consecuencia se favorece la apertura del canal y la entrada de Ca^{2+} en la célula; la acción adrenérgica consistiría, pues, en aumentar el número de canales de Ca^{2+} que se abre, o bien en aumentar la probabilidad de que se encuentren abiertos en un momento determinado. El aumento de la corriente de Ca^{2+} favorece posteriormente la movilización de Ca^{2+} intracelular, por ejemplo, en el retículo sarcoplásmico. La proteína G_s de la adenilciclase es capaz, asimismo, de estimular directamente el canal de Ca^{2+} dependiente del voltaje.
- b) El AMPc produce la fosforilación de una proteína del retículo sarcoplásmico, el fosfolambano, y con ello estimula la velocidad inicial de transporte de Ca^{2+} al retículo sarcoplásmico, quedando más Ca^{2+} disponible para la siguiente contracción, ello explicaría porque los agonistas B-adrenergicos no sólo aumentan la velocidad de contracción sino también la de relajación.
- c) El AMPc produce asimismo la fosforilación de una fracción de troponina (Tn I) que reduce la afinidad por el Ca^{2+} y favorece también con ello la relajación del miocardio. En cuanto a la actividad cronotropa, se considera que el aumento de la corriente de Ca^{2+} generado por el AMPc es el responsable del incremento de la pendiente de la fase 4 en los nodos sinusal y auriculoventricular, explicándose así el aumento de la automaticidad y de la velocidad de conducción cardíaca.

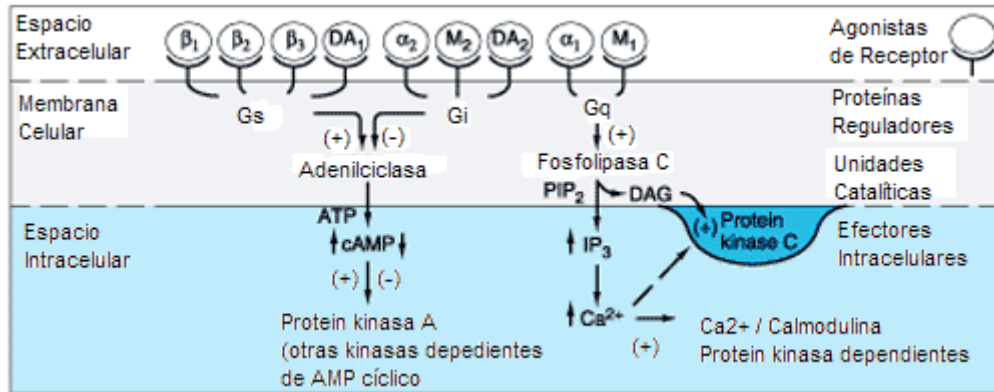


Fig. 1 Mecanismo molecular de la estimulación b-adrenérgica

<http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Medicina/fisiologia/nguias/sna.htm>

4.5.3 Subtipos de Adrenorreceptores β

Los receptores adrenérgicos β pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteína G y comparten las propiedades estructurales características de dicho grupo. Los receptores β -adrenérgicos son 7 prototipos acoplados a proteína G con una gran variedad de expresión génica y funciones cardiovasculares. Los 3 subtipos de receptores adrenérgicos (β_1 , β_2 , β_3) estimulan la adenilciclase y causan excitación de la célula postsináptica (Vargas, J; 2006).

La noradrenalina y adrenalina tienen la capacidad de activar a todos los adrenorreceptores β , pero es posible hacer una distinción primaria entre los receptores β_1 y β_2 por la potencia relativa que tienen entre ellos estas dos catecolaminas. La noradrenalina es ligeramente más potente en los adrenorreceptores β_1 , pero la adrenalina tiene una potencia casi 100 veces mayor en los receptores β_2 , aunque la primera es más potente que esta última en los β_3 (Vargas, J; 2006).

El Isoproterenol es equipotente en todos los subtipos de adrenorreceptores β ; además los tres utilizan la adenilciclase para la transacción de señales (Vargas, J; 2006).



4.5.4 Receptores β_1

Los receptores adrenérgicos β_1 son fundamentalmente postsinápticos que se encuentran en el miocardio, en el nodo sinoauricular y en el sistema de conducción ventricular, median efectos inotrópicos y cronotrópicos positivos, así como un aumento en la velocidad de conducción del impulso y relajación de arterias coronarias, se caracterizan por tener una afinidad alta y prácticamente idéntica por la adrenalina y noradrenalina^(Kalant, H; Walter, H; et al; 2002). En condiciones fisiológicas, la contractilidad cardíaca se regula por este receptor predominantemente en el cardiomiocito. La estimulación del receptor β_1 lleva a la activación de la proteína G estimuladora (Gs), de la adenilciclase (AC), a la acumulación de monofosfato cíclico de Adenosina (AMPC), a la estimulación de la proteincinasa A (PKA) y a la fosforilación de proteínas blanco principales en las que se incluyen los canales de calcio tipo L, el fosfolamban, los receptores rianodínicos y la troponina I^(Vargas, J; 2006).

4.6 MECANISMOS DE SEÑALIZACIÓN

Una vez que un fármaco agonista se ha unido a su receptor, activa un mecanismo efector. Para numerosos medicamentos el mecanismo efector reside dentro de la célula o modifica algún proceso intracelular. Se han definido cuatro tipos principales de mecanismos de señalización transmembranal^(Bowman, et al; 1970).

1. **Receptores que son intracelulares:** ligandos que tienen un grado de liposolubilidad que les permite atravesar la membrana pueden fijarse a receptores intracelulares; cuando eso sucede, el complejo receptor-ligando se fija a ciertas secuencias específicas del ADN en el interior del núcleo celular, además de regular la transcripción genética (ej, las hormonas esteroideas y el óxido nítrico) pueden atravesar la membrana y combinarse con un receptor intracelular que modifica a una molécula efectora también intracelular^(Bowman, W; et al; 1970).



2. **Receptores en enzimas que se extienden a través de la membrana:**

Los fármacos que producen cambios en estas enzimas se combinan con un receptor en la porción extracelular de la misma y modifican su actividad intracelular (Bowman, W; et al; 1970); (Kalant, H; et al; 2002).

3. **Receptores localizados en canales iónicos de la membrana:**

Los receptores que regulan canales iónicos de la membrana pueden indirectamente causar la apertura de un canal iónico (por ejemplo, la acetilcolina en el receptor nicotínico) o modificar la respuesta del canal iónico a otros medicamentos (por ejemplo, las benzodiazepinas en el conducto para GABA) (Bowman, W; et al; 1970); (Kalant, H; et al; 2002).

4. **Receptores enlazados a efectores por medio de proteínas G:**

Un número muy elevado de medicamentos se fija a receptores que son enlazados a efectores intracelulares o membranales por proteínas acopladoras. Los más complejos son los mecanismos de receptor acoplado a proteína G, constituidos por un receptor transmembrana que fija un ligando en su superficie extracelular y se acopla a una proteína fijadora de nucleotido de guanina (proteína G) en su superficie intracelular. A su vez la proteína G regula a una enzima efectora que genera un segundo mensajero intracelular o actúa sobre un canal iónico. Son utilizados por aminas, aminoácidos, péptidos y eicosanoides (Bowman, W; et al; 1970); (Kalant, H; et al; 2002).

Los fármacos van a actuar sobre muchos receptores propios de ligandos endógenos, pero sus posibilidades de interacción con moléculas del organismo se extienden a otras de gran importancia entre las que destacan (Florez, J; 2001).

- a) Canales iónicos en membranas celulares e intracelulares.
- b) Bombas de transporte activo de iones y moléculas transportadoras.
- c) Enzimas intracelulares y extracelulares.



4.6.1 Segundos mensajeros

Los primeros mensajeros (hormonas y neurotransmisores) que no pueden atravesar la capa de lípidos de la membrana plasmática estimulan las células para la regulación de diversos compuestos intracelulares (nucleótidos cíclicos, fosfolípidos, iones). La activación del receptor y la de su correspondiente sistema efector alterarán la concentración intracelular de compuestos fisiológicamente muy activos que se llaman segundos mensajeros. La unión de un agonista a su receptor en la superficie celular suele iniciar una secuencia de acontecimientos que conduce a un cambio en la concentración intracelular de un segundo mensajero que puede intervenir para aumentar la proactividad de una proteincinasa. Entre otros segundos mensajeros que regulan las actividades de las proteincinasas están: AMP_c, GMP_c, Ca²⁺, inositol 1,4,5-trifosfato(IP₃) y diacilglicerol (Matthew, L; et al; 2006).

4.6.2 Proteínas G

Se les llama proteínas G a las que se integran la familia de estos compuestos que translucen señales de los receptores de membrana a las enzimas efectoras y a los canales iónicos. Todas las proteínas G heterotriméricas poseen una estructura parecida que consiste en tres subunidades proteicas llamadas alfa (α), beta (β) y gama (γ) en orden decreciente de peso molecular (Kalant, H; 2002). La subunidad α se encuentra ligeramente unida con las subunidades β y γ , estando estas últimas unidas fuertemente al receptor (Vargas, J; 2006). La subunidad alfa es la mayor (39-52 KD), fija nucleótidos de guanina y es el principal mediador de los efectos de la proteína G sobre su efector, contiene el sitio al que se fija el GTP, posee la actividad GTPasa y desempeña un papel decisivo en la especificidad de todo el complejo. La función de las subunidades beta (no menos de seis subunidades (35kD) y gama (10 subunidades (5-10 kD)) del trímero consisten en servir de apoyo para interacciones de la subunidad alfa con la membrana plasmática y los receptores, aunque también pueden regular directamente a estos últimos, como lo hacen las subunidades α (Florez, J; 2001).



4.6.3 Receptores acoplados a proteína G

En el estado basal o de reposo, las tres subunidades de proteína G se mantiene unidas entre sí por medio del guanosindifosfato (GDP) fijo a la subunidad alfa. Cuando un agonista se une a su receptor la proteína G asociada se modifica de tal forma que provoca la liberación de GDP, por tanto, en la subunidad alfa queda vacío un sitio de fijación para nucleotido guanil el cual es ocupado por guanosintrifosfato (GTP), cuya concentración en el citoplasma es elevado. Esta fijación estimula a la proteína G; entonces la subunidad alfa se disocia del receptor y de las subunidades $\beta\gamma$ de la misma proteína para fijarse al efector. Después de unos cuantos segundos la actividad intrínseca de la GTPasa de la subunidad α hidroliza el enlace de GTP a GDP y se desactiva debido a que la subunidad alfa que actúa como ligando con el GDP es incapaz de activar efectores e inactiva al dímero uniéndose $\beta\gamma$ nuevamente a él. La subunidad α fija al GDP y se disocia del efector, se une de nuevo al complejo proteína G- $\beta\gamma$ y de este modo queda lista para otro ciclo de activación mediante receptores. La mayoría de las hormonas y unos cuantos neurotransmisores regulan a los segundos mensajeros intracelulares mediante receptores acoplados a proteína G (Kalant, H; et al; 2002).

4.7 AGONISMO Y ANTAGONISMO

Los fármacos que actúan sobre los receptores específicos se pueden clasificar según la acción sobre el receptor.

a) *Fármaco agonista*

Es posible considerar como agonistas a los fármacos capaces de activar en forma completa el sistema efector cuando éste se une al receptor. Un fármaco agonista puede alcanzar el efecto máximo sin necesidad de ocupar todos los receptores del sistema (Floréz, J. 2001).



b) *Fármaco antagonista*

Recibe este nombre una sustancia que suprime o reduce el efecto de un agonista, dificultando la formación del complejo fármaco-receptor (Bowman, W; et al; 1970). Distinguimos dos tipos de antagonismo: el competitivo y el no competitivo:

Antagonismo competitivo: si el antagonista se combina con los mismos receptores que el agonista, pero la formación del complejo antagonista-receptor es débil o resulta ineficaz en la promoción de la respuesta, el antagonismo es competitivo (Champe, P; 2004). Se comprueba este tipo de antagonismo aumentando la concentración del agonista, en cuyo caso se suprime el bloqueo. El bloqueo producido por un antagonista competitivo es reversible, aunque generalmente la inversión del bloqueo se realiza lentamente según se va disociando el complejo antagonista-receptor (Litter, M; 1992). Un antagonista competitivo desplaza la curva Concentración-Respuesta hacia la derecha, (es decir, hacia el uso de dosis más altas), lo que hace que el fármaco se manifieste como si fuera menos potente (Mycek, M; et al; 2006).

Antagonismo no competitivo: Cuando dos fármacos, A y B, poseen afinidad por un mismo receptor y actúan de forma simultánea, se interfieren mutuamente para ocupar el receptor. Cuando el antagonista β actúa sobre un sitio de fijación íntimamente relacionada con el receptor, pero diferente del de reconocimiento del agonista, se produce un fenómeno de antagonismo no competitivo (estos pueden evitar la unión del agonista o impedir que éste active al receptor). En este caso la acción del agonista queda anulada sin que el incremento de su concentración permita alcanzar una ocupación máxima de receptores. Las curvas dosis-respuesta obtenidas por un fármaco en presencia de otro fármaco pueden variar considerablemente en función del tejido utilizado debido a la distinta eficiencia del acoplamiento entre estímulo y respuesta. Sin embargo, a medida que se incrementa la concentración del antagonista, el desplazamiento hacia la derecha se acompaña de una progresiva reducción del efecto máximo (Floréz, J; 2001).



1. **Figura 2. 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 (Bowman, et al; 1970).

4.8 ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LA ACCIÓN FARMACOLÓGICA

Un problema fundamental en la farmacoterapia consiste en determinar cuál dosificación de un medicamento producirá la acción terapéutica deseada sin provocar efectos adversos. Para solucionar esta dificultad se requiere analizar la relación entre dosis-respuesta. Se acostumbra comparar estas cantidades (dosis y reacción) en gráficas donde se registra el efecto del medicamento en función del logaritmo de la dosis que lo causó. Este tipo de representación permite la observación de las curvas del log de dosis-respuesta (LDR) (Kalant, H; et al; 2002).

La cuantificación de la respuesta a los fármacos permite establecer las bases de la relación entre la dosis de un medicamento y el efecto terapéutico (Goodman & Gilman; 1996). La capacidad del fármaco para modificar el receptor e iniciar una acción es lo que se denomina *eficacia* a menudo llamada eficacia máxima, está determinada por la naturaleza del receptor y de su sistema efector asociado. Puede medirse con una curva de dosis-respuesta gradual (Kalant, H; et al; 2002).



4.8.1 Gráficas dosis-respuesta graduales

Cuando la respuesta de un sistema receptor-efector particular (un sistema *In Vitro*, un animal o un paciente) se mide respecto a concentraciones crecientes de un fármaco, la gráfica de la respuesta en relación con la concentración o dosis se conoce como curva dosis-respuesta gradual. Si se grafican los mismos datos sobre ejes logarítmicos, se obtiene una curva sigmoidea, lo que simplifica la manipulación matemática de estas curvas de dosis-respuesta (Bowman, W; et al; 1970).



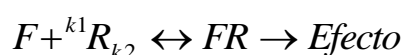
Figura 3. Curva teórica log Dosis-Respuesta que presenta la forma característica sigmoideal.
(Champe, P; 2004).

1. 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 permite formar un número adecuado de complejos fármaco-receptor y producir una acción farmacológica cuantal o gradual (Bowman, W; et al; 1970).
2. La **potencia** esta determinada en gran parte por la afinidad del receptor con el fármaco. En las mediciones cuánticas de dosis-respuesta, DE_{50} , DT_{50} y DL_{50} son mediciones típicas de potencia (dosis efectiva, tóxica y letal, respectivamente, en un 50% de una población). Por tanto, la potencia puede determinarse a partir de curvas de dosis-respuesta graduadas o cuánticas (Bowman, W; et al; 1970).



La **afinidad** del receptor para unirse a un fármaco determina la concentración necesaria de éste último para formar un número significativo de complejos fármaco-receptor y la especificidad por lo que puede discriminar una molécula de otra, aun cuando sean parecidas ^(Kalant, H; et al; 2002).

Se puede hacer la medición experimental de la afinidad que tiene un receptor hacia un compuesto; se llama *constante de asociación* (K_a) al índice de dicha asociación. De tal manera que cuando el receptor (R) sólo se halla en un estado su afinidad hacia un fármaco (F) queda determinada por la siguiente ecuación ^(Kalant, H; et al; 2002).



donde k_1 es la constante de velocidad al inicio, que refleja la velocidad de fijación del fármaco al receptor, y k_2 es la constante de velocidad de compensación, la cual refleja la velocidad de disociación del complejo fármaco-receptor; por tanto, la constante de asociación es la razón de la constante de velocidad de inicio dividida entre la constante de velocidad de compensación con unidades de concentración molar⁻¹.

$$K_a = \frac{k_1}{k_2}$$

Sabemos que los conceptos de cinética enzimática los podemos relacionar directamente con los conceptos de la interacción fármaco-receptor. Esta ecuación es muy similar a la descripción de Michaelis-Menten acerca de las reacciones enzimáticas simples, donde un complejo enzima-sustrato mantiene un estado estable dinámico entre los componentes y los productos de reacción, cuya velocidad es proporcional a la concentración del complejo ^(Kalant, H; et al; 2002). En consecuencia, no resulta sorprendente que las descripciones matemáticas de ambos procesos también sean semejantes. La ecuación de Michaelis-Menten aplicable a la cinética enzimática es ^(Castillo, G; 2008):



$$v = \frac{V_m (S)}{K_m + (S)}$$

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

Ecuación Michaelis-Menten**Análisis K_D**

<p>V= velocidad de cinética enzimática</p> <p>V_m=velocidad máxima</p> <p>(S)= concentración de substrato</p> <p>K_m= constante de Michaelis que se puede definir como la concentración molar de substrato con la cual la velocidad de reacción enzimática es el 50% de la velocidad máxima.</p>	<p>E= Efecto producido.</p> <p>E_m= Efecto máximo</p> <p>(F)= concentración de substrato</p> <p>K_D= constante de afinidad del fármaco por el receptor que se puede definir como la concentración molar de substrato con la cual la velocidad de reacción enzimática es el 50% de la velocidad máxima.</p>
--	--

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

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

En esta ecuación $Resp$ y $Resp_{m\acute{a}x}$ denotan la respuesta y su valor máximo obtenible, respectivamente. La recta resultante interseca el eje de las ordenadas en un punto que corresponde a $1/Resp_{m\acute{a}x}$ y tiene una pendiente igual a $K_D/Resp_{m\acute{a}x}$. Este tipo de transformación resulta especialmente útil en los análisis de antagonismo y más exacta. Cuando se obtiene una recta al ajustar la gráfica es posible calcular la constante de disociación o afinidad de un fármaco por su receptor y la eficacia representada por la respuesta máxima. A partir de estos registros es posible calcular la constante de disociación y la respuesta máxima (Castillo, G; 2008).



4.8.2 Análisis de K_D

Inicialmente, las fuerzas electroestáticas atraen al fármaco hacia el receptor, si la forma del fármaco corresponde con la del lugar de fijación del receptor, será retenido allí temporalmente por enlaces débiles, o bien, si se trata de antagonistas irreversibles, de forma 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 (Goodman & Gilman, 1996). La afinidad es definida por la constante de disociación que es el recíproco de la constante de asociación ($1/K_a$), a la cual se le asigna el símbolo K_D (donde K_D se define como la concentración molar de fármaco que produce una respuesta igual al 50% de la respuesta máxima) y constituye un índice de afinidad más utilizado. Cuanto menor es la K_D , mayor es la afinidad, cuando el valor de la K_D sea baja la afinidad será alta. Valores de la K_D de orden nanomolar representan a fármacos con una alta afinidad por su receptor. Así pues, en estas condiciones K_D es igual a la concentración del fármaco (Cortés, I; 2007).

4.8.3 Gráfica doble recíproca

Cuando se obtiene una recta al ajustar la gráfica "recíproca doble" a las observaciones registradas en ella, significa que puede aplicarse la teoría de la ocupación de receptores de la acción farmacológica. En la gráfica doble recíproca se grafican las recíprocas de la concentración y del efecto. En esta gráfica de doble recíproca se pueden calcular la eficacia de un fármaco ($E_{máx}$) y su constante de disociación (K_D). El punto en el que la recta interseca el eje de las ordenadas corresponde a $1/E_{máx}$, y la pendiente es igual a $K_D/E_{máx}$ (Kalant, H; et al; 2002). La gráfica 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 dicha 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, el efecto máximo se reduce y la K_D es igual (Litter, M; 1992).

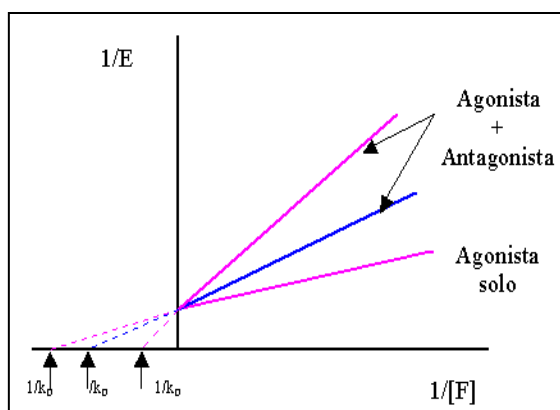


Figura 4. Efecto antagonístico competitivo (Castillo, G; 2008).

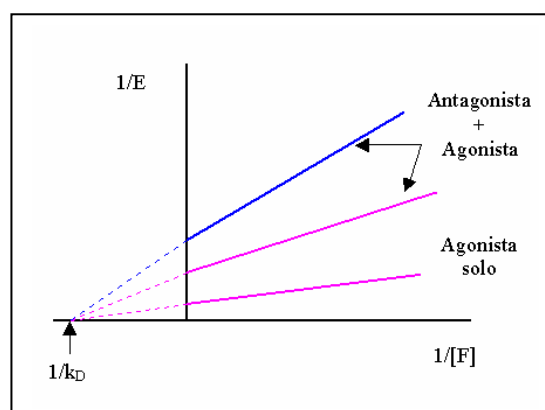


Figura 5. Efecto antagonístico no competitivo (Castillo, G; 2008).

4.9 ASPECTOS GENERALES Y ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA CARDIOVASCULAR

El sistema cardiovascular está constituido por una bomba de 4 cavidades: el corazón, así como una red de vasos que contribuyen el flujo sanguíneo. Sus dos funciones primarias consisten en aportar a los tejidos en todo momento los nutrientes que requieren para mantener su actividad metabólica y retirar de ellos los productos de esta actividad. La función cardíaca es impulsada por fenómenos eléctricos que ocurren en el corazón. Los procesos de acoplamiento de excitación-activación-contracción transforman la actividad eléctrica en acciones mecánicas que envían la sangre del ventrículo derecho a la arteria pulmonar y del ventrículo izquierdo a la aorta (Tortora, J; et al; 2003).

4.9.1 El corazón

El corazón se encuentra entre los pulmones en el centro del pecho, detrás y levemente a la izquierda del esternón. Una membrana de dos capas denominada «pericardio» envuelve el corazón como una bolsa (Tortora, J; et al; 2003).



El corazón pesa entre 200 a 425 gramos y es un poco más grande que una mano cerrada. Al final de una vida larga, el corazón de una persona puede haber latido más de 3,500 millones de veces. Cada día, el corazón late 100,000 veces, bombeando aproximadamente 7,571 litros de sangre (Tortora, J; et al; 2003).

El corazón se divide en dos mitades laterales, que son el corazón derecho, en la que circula la sangre venosa y el corazón izquierdo, en la que circula la sangre arterial. El corazón tiene cuatro cavidades. Las cavidades superiores se denominan «aurícula izquierda» y «aurícula derecha» y las cavidades inferiores se denominan «ventrículo izquierdo» y «ventrículo derecho». Una pared muscular denominada «tabique» separa las aurículas izquierda y derecha y los ventrículos izquierdo y derecho. El ventrículo izquierdo es la cavidad más grande y fuerte del corazón. Las paredes del ventrículo izquierdo tienen un grosor de sólo media pulgada (poco más de un centímetro), pero tienen la fuerza suficiente para impeler la sangre a través de la válvula aórtica hacia el resto del cuerpo. Cada aurícula comunica con el ventrículo por medio de un orificio llamado *orificio auriculoventricular*, que contiene una válvula derecha llamada tricúspide y una válvula izquierda llamada mitral (Tortora, J; et al; 2003).

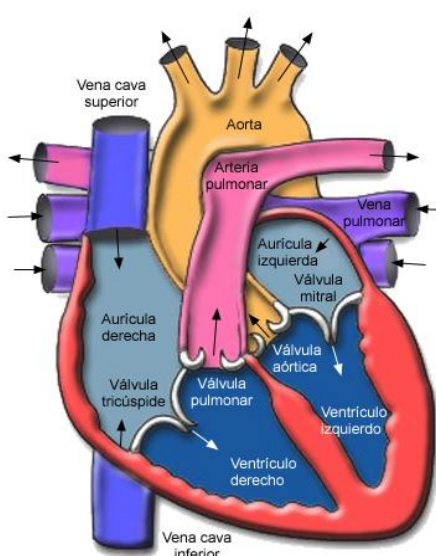


Figura 6. Diagrama esquemático del corazón

<http://www.frecuencia-cardiaca.com/images/corazon%20con%20detalles.jpg>



4.9.2 Músculo cardíaco

Algunas células musculares cardíacas tienen funciones especializadas, siendo responsables de la iniciación del latido cardíaco y de la conducción del impulso a través de diversas partes del corazón. En la pared de la aurícula derecha en la zona adyacente al orificio de la vena cava superior se encuentra el nódulo senoauricular (nódulo SA). En el lado derecho del tabique interauricular, las fibras miocárdicas convergen en otra estructura semejante al nódulo senoauricular, es el nódulo auriculoventricular (nódulo AV) (Philip A; et al; 2001).

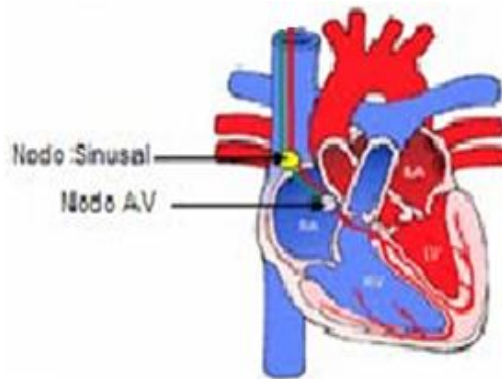


Figura 7. Localización del nodo AS y Nodo AV

<http://www.drscope.com/pac/cardiologia/c2/index.htm>

4.9.3 El latido cardíaco

Un latido cardíaco es una acción de bombeo en dos fases que toma aproximadamente un segundo. A medida que se va acumulando sangre en las cavidades superiores (la aurícula derecha e izquierda), el marcapasos natural del corazón (el nódulo SA) envía una señal eléctrica que estimula la contracción de las aurículas. Esta contracción impulsa sangre a través de las válvulas tricúspide y mitral hacia las cavidades inferiores que se encuentran en reposo (los ventrículos derecho e izquierdo). La señal pasa por el nódulo auriculoventricular (AV). El nódulo AV detiene la señal un breve instante y la envía por las fibras musculares de los ventrículos, estimulando su contracción. Esta fase de acción de bombeo (la más larga) se denomina **diástole** (Philip A; et al; 2001).

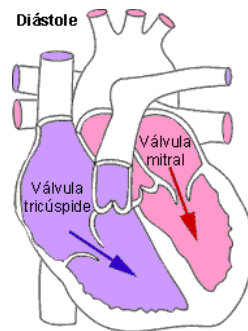


Figura 8. Esquematación de la fase de Diástole
<http://www.fitness.com.mx/graficos/corazon/sistole0.gif>

La segunda fase de acción de bombeo comienza cuando los ventrículos están llenos de sangre. Las señales eléctricas generadas por el nódulo SA se propagan por una vía de conducción eléctrica a los ventrículos estimulando su contracción. Esta fase se denomina **sístole** (Philip A; et al; 2001).

Al cerrarse firmemente las válvulas tricúspide y mitral para impedir el retorno de sangre, se abren las válvulas pulmonar y aórtica. Al mismo tiempo que el ventrículo derecho impulsa sangre a los pulmones para oxigenarla fluye sangre rica en oxígeno del ventrículo izquierdo al corazón y a otras partes del cuerpo. Cuando la sangre pasa a la arteria pulmonar y la aorta, los ventrículos se relajan y las válvulas pulmonar y aórtica se cierran. Al reducirse la presión en los ventrículos se abren las válvulas tricúspide y mitral y el ciclo comienza otra vez. Esta serie de contracciones se repite constantemente (Tortora, J; et al; 2003)

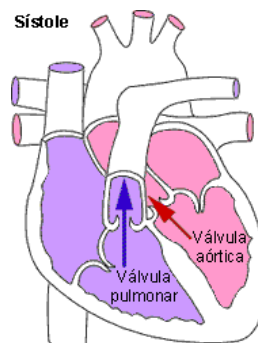


Figura 9. Esquematación de la fase de Sístole
<http://www.fitness.com.mx/graficos/corazon/sistole0.gif>



4.10 CATECOLAMINAS

Mediante la administración de fármacos con acciones muy similares a los que ejercen las catecolaminas endógenas (dopamina, noradrenalina y adrenalina) en órganos efectores resulta posible reproducir total o parcialmente los efectos de la estimulación del SNS. Estas mismas catecolaminas tienen el más amplio espectro de actividad simpaticomimética y administradas como fármacos estimulan directamente los adrenorreceptores (Kalant, H; et al; 2002).

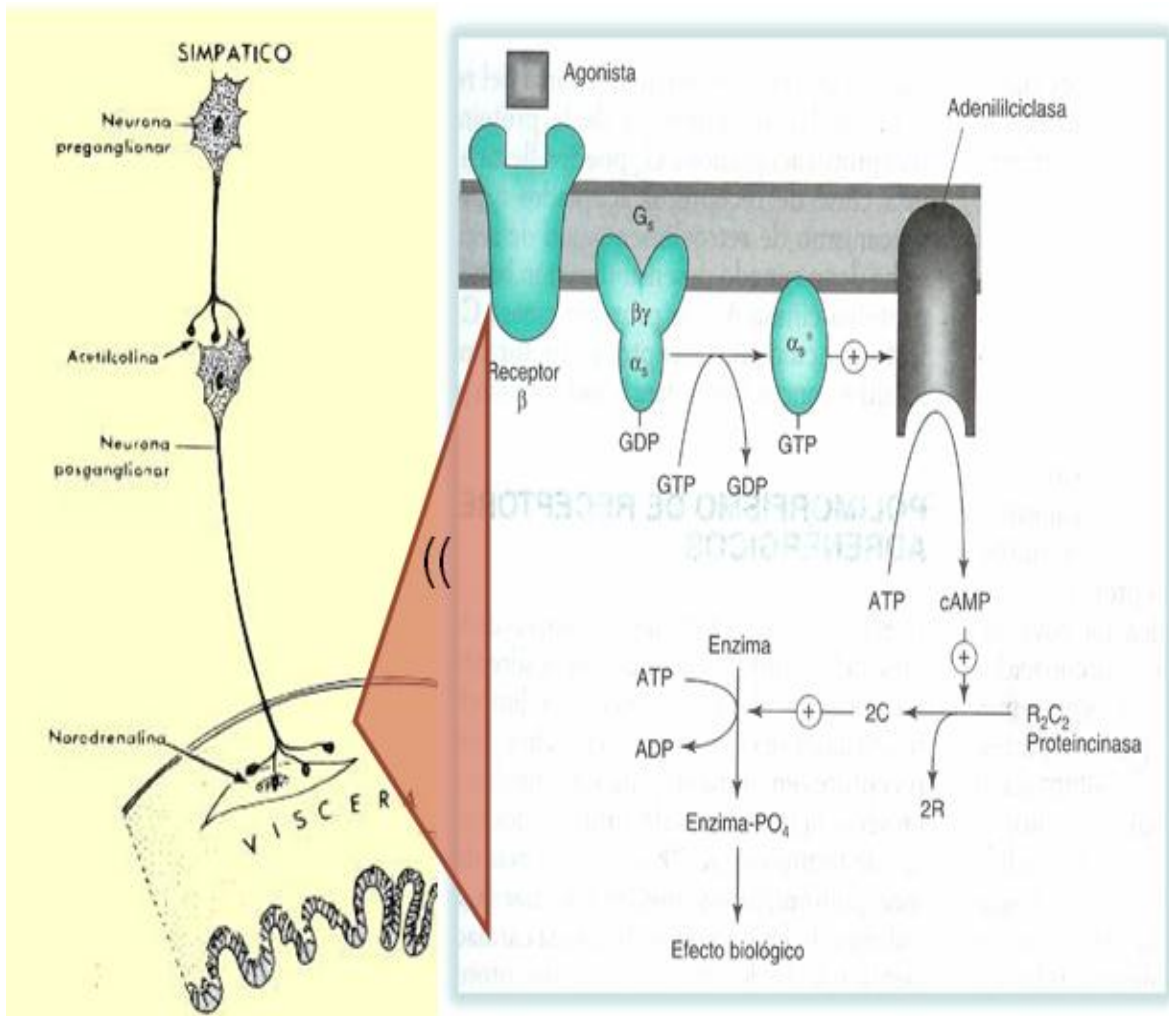


Figura 10. Representación gráfica del mecanismo de acción de una catecolamina
http://www.med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/clas4to/7_SNA_neurotransm.pdf



4.10.1 Efectos de las catecolaminas

La noradrenalina, adrenalina e Isoproterenol (Agonistas adrenérgicos de acción directa) estimulan los adrenerreceptores β_1 en el corazón y causan los siguientes efectos ^(Kalant, H; et al; 2002).

- a) Se produce taquicardia debido a que aumenta la velocidad de descarga de las células marcapasos en el nódulo sinoauricular; con esto aumenta la pendiente de la fase 4 del potencial de acción (es decir, la velocidad de despolarización diastólica) a causa del cambio de permeabilidad en la membrana celular que permite ingreso más rápido de Na^+ y Ca^{2+} . Se dice que el aumento de la frecuencia cardiaca es un efecto cronotrópico positivo.
- b) Se incrementa el automatismo de células marcapasos latentes, lo que puede ocasionar arritmias.
- c) Se acorta el periodo refractario del nódulo AV y, como resultado, se acelera la conducción de impulsos entre aurículas y ventrículos.
- d) La fuerza contráctil del corazón aumenta, es decir, hay un efecto inotrópico positivo.

4.10.2 Isoproterenol

De acuerdo a su naturaleza química se clasifica como una catecolamina sintética de acción directa que posee un grupo N-isopropilo en la cadena lateral, estimula en forma predominante los receptores adrenérgicos β_1 y β_2 . Su acción sobre los receptores α es insignificante ^(Pharmacology home page; 2007).

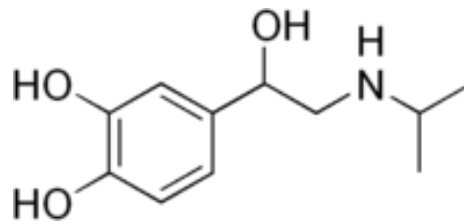


Figura 11. Estructura química del Isoproterenol
<http://www.templejc.edu/dept/ems/drugs/isoproterenol.html>

Según su mecanismo de acción se clasifica como amina simpaticomimética (sustancia que administrada al individuo provoca una respuesta fisiológica similar a la que produce la estimulación de las fibras simpáticas postganglionares) de acción directa con actividad β predominante (Mycek, M; etal; 2006).

Los receptores β_1 son los que se encuentran en mayor cantidad en el músculo cardíaco. La interacción entre el receptor que esta acoplado a una proteína G (proteína integral de membrana fijadora de nucleótidos de guanina) y el Isoproterenol provoca que la proteína G cambie su conformación e induzca la vía enzimática a través de su subunidad α , la vía enzimática que en este caso se estimula es la adenilato-ciclasa, enzima formadora de AMP_c , la activación de esta enzima incrementa los niveles de AMP_c intracelular, este nucleótido que actúa como segundo mensajero induce la activación de varios mecanismos en la célula por medio de la proteína cinasa A (PKA) que explican los efectos del Isoproterenol (Flórez, J; 2001).

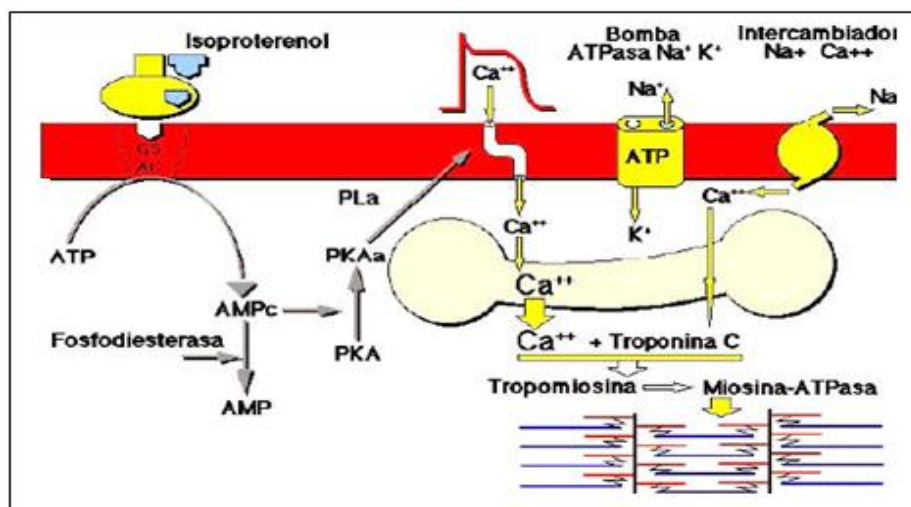


Figura 12. Mecanismo de acción del Isoproterenol
(Cabrera, L; Vargas, M. 2008).



4.11 COMPUESTOS MORFOLÍNICOS Y TIOMORFOLÍNICOS

En 1979 Liangquan *et al.* mientras examinaban las propiedades antimalariales de derivados de la febrifugina notaron al realizar pruebas clínicas que un compuesto, la changrolina, era efectiva como un agente antiarrítmico. Por otra parte en 1983 Stout *etal* mostraron gran interés en la changrolina, ya que su estructura era diferente a los productos existentes en el mercado. Así, retomaron la investigación de Liangquan *et al.*, modificando cada región para determinar las regiones de la changrolina que son necesarias para que la sustancia en cuestión muestre actividad antiarrítmica (Islas, M; 2009) y en 1985 Stout *etal* encontraron que la región I, la quinazolina, podía ser reemplazada por una variedad de heterociclos sin que ello disminuya la actividad antiarrítmica (incluyendo grupos cetona, amida y urea, de ésta manera encontraron que los anillos pirrolidínicos podían sustituirse por otros anillos heterocíclicos como la morfolina y la tiomorfolina), mientras que en la región II la estructura del 2,6-bis(pirrolidin-1-il-metil)fenol tetrasustituido presentó la mejor actividad y sin éste la actividad es nula, se observó que la región III, que une a las dos primeras, tiene una mayor actividad si se incluyen grupos carbonilo y una menor toxicidad (Sotero, S; 2009).

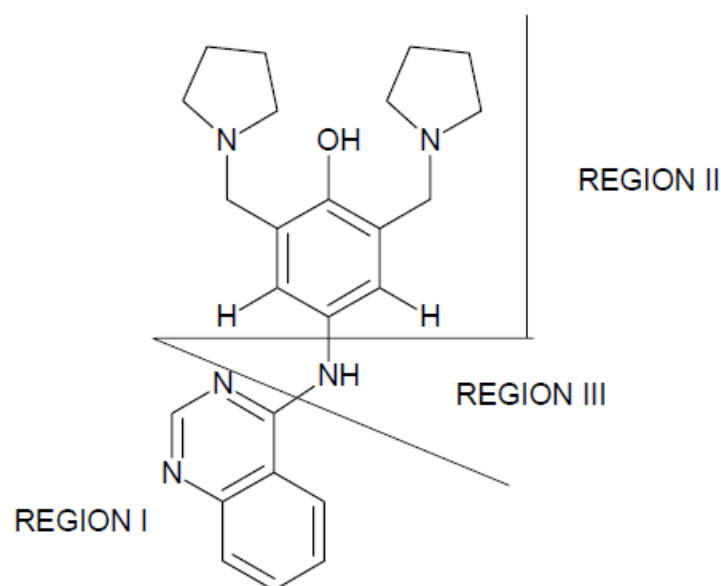


Figura 13. División por regiones de la molécula Changrolina

(Sotero, S;2009)



Estos estudios aportaron las bases para que investigadores del Laboratorio de Química Medicinal de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores "Cuautitlán" Campo-1, retomaran esta investigación e iniciaran el diseño y síntesis utilizando como sustituyentes una molécula de morfolina y/o tiomorfolina, obteniéndose así los compuestos morfolínicos, dimorfolínicos y tiomorfolínicos denominados LQM, encontrándose que estos compuestos derivados del fenol mostraban una respuesta hipotensora (Lugo, G; 2004). Dicha investigación esta a cargo del Dr. Enrique Ángeles Anguiano con el apoyo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar responsable del Laboratorio del Miocardio de esta misma institución, quienes eligieron una serie de estos compuestos LQM para realizar un estudio de actividad biológica y determinar su efecto hipotensor.

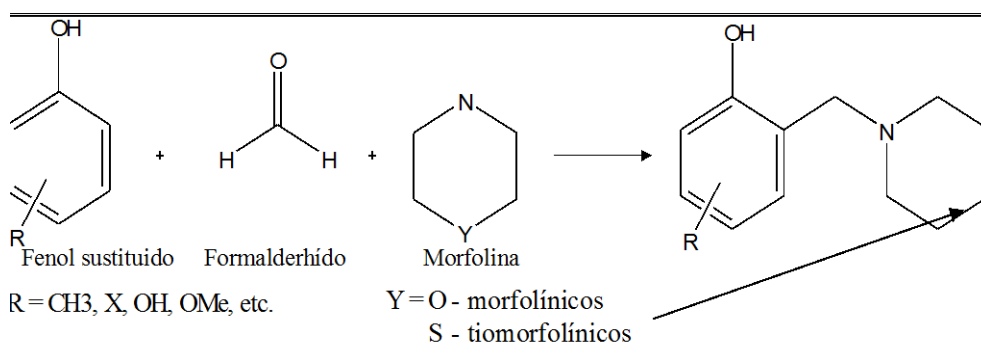
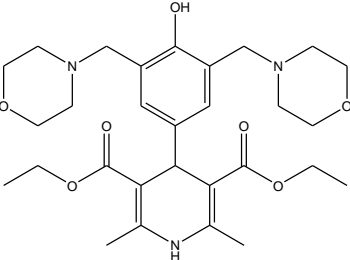
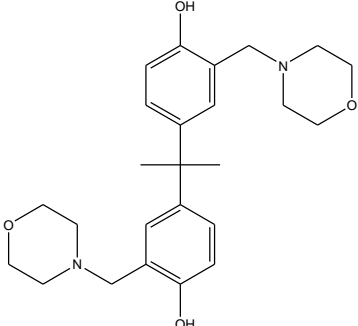
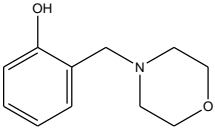
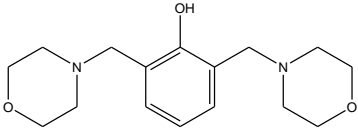


Figura 14. Reacción química de síntesis de la serie de compuestos (Sotero, S; 2009)

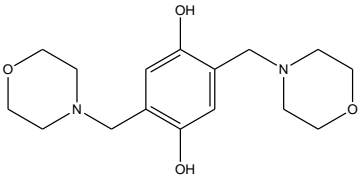
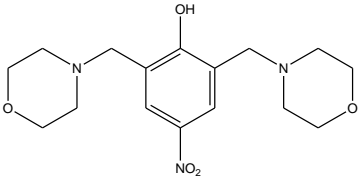
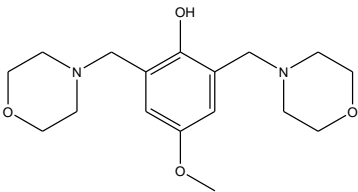
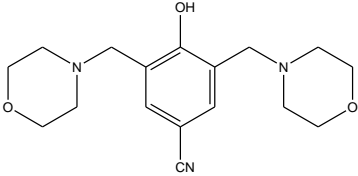


4.11.1 Compuestos LQM

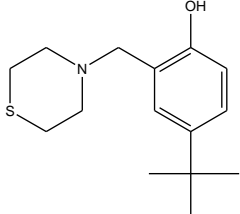
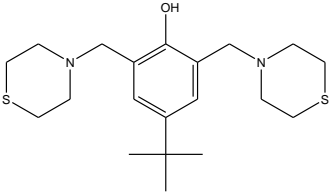
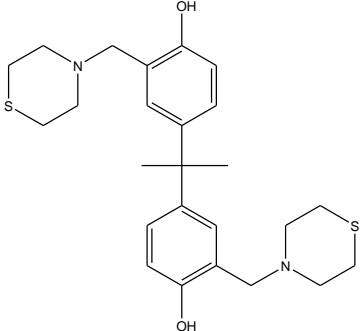
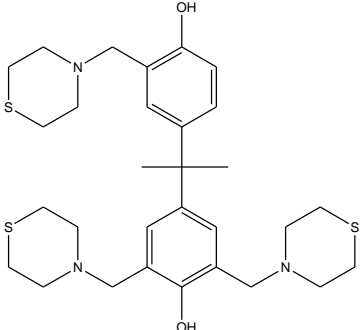
Tabla 1. Nombre y estructura química de los compuestos LQM300 's

Clave y Estructura del Compuesto	Reacción de Origen
LQM301 	4-(4-hidroxi-3, 5-bis(morfolin-4-ilmetilfenil)-2, 6- dimetil-1, 4-dihidropiridina-3, 5-dietiléster) del ácido dicarboxílico
LQM302 	4-(2-(4-hidroxi-3-(morfolin-4-ilmetil)fenil)propan-2-il)-2-(morfolin-4-ilmetil)fenol
LQM308 	2-(morfolin-4-ilmetil)fenol
LQM309 	2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)fenol

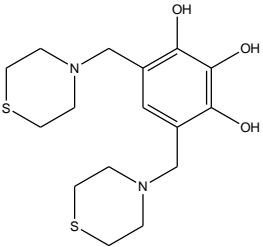
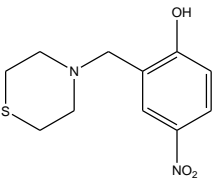
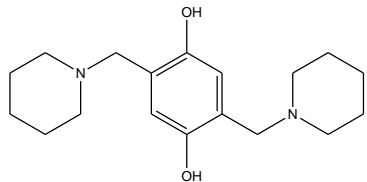
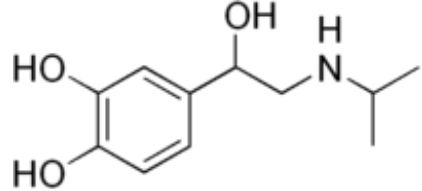


Clave y Estructura del Compuesto	Reacción de Origen
LQM310 	2,5-bis(morfolin-4-ilmetil)benzen-1,4-diol
LQM312 	2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol
LQM313 	4-metoxi-2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)fenol
LQM314 	4-hidroxi-3,5-bis(morfolin-4-ilmetil)benzonitrilo



Clave y Estructura del Compuesto	Reacción de Origen
<p>LQM318</p> 	4-tert-butil-2-(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol
<p>LQM319</p> 	4-tert-butil-2,6-bis(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol
<p>LQM320</p> 	4-(2-(4-hidroxi-3-(tiomorfolin-4-ilmetil)fenil)propan-2-il)-2-(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol
<p>LQM321</p> 	4(1-(4-hidroxi-3-tiomorfolin-4-ilmetilfenil)-1-metiletil)-2,6-bis(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol



Clave y Estructura del Compuesto	Reacción de Origen
<p>LQM322</p>  <p>The structure shows a central benzene ring with three hydroxyl groups at positions 1, 2, and 3. At positions 4 and 6, there are methylene groups connected to the nitrogen atoms of two thiomorpholine rings.</p>	<p>1,2,3-trihidroxi-4,6-bis(tiomorfolin-4-ilmetil)benzeno</p>
<p>LQM324</p>  <p>The structure shows a benzene ring with a hydroxyl group at position 1 and a nitro group at position 2. At position 2, there is also a methylene group connected to the nitrogen atom of a thiomorpholine ring.</p>	<p>2-nitro-2-(tiomorfolin-4-ilmetil)fenol</p>
<p>LQM-335</p>  <p>The structure shows a benzene ring with hydroxyl groups at positions 1 and 4. At positions 2 and 5, there are methylene groups connected to the nitrogen atoms of two piperidine rings.</p>	<p>2,5-bis(piperidin-1-ilmetil)-4-hidroxi-fenol</p>
 <p>The structure shows a benzene ring with hydroxyl groups at positions 3 and 4. At position 1, there is a hydroxyl group and a side chain consisting of a methylene group, a chiral carbon atom bonded to a hydroxyl group, and another methylene group bonded to a secondary amine group with an isopropyl substituent.</p>	<p>Isoproterenol</p>



5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Soluciones y reactivos

- Solución de Krebs.
- Carbógeno Praxair[®] (95% O₂; 5% CO₂).
- Pentobital sódico de uso veterinario.
- HCl 0.01 N (reactivo analítico).

5.2 Equipos

- Balanza analítica Sartorius[®] (0.01 mg – 60 g).
- Balanza granataria para animales Orinos[®] (0.1 g – 2610 g).
- Agitador magnético.
- Parrilla eléctrica.
- Termómetro Widder[®] (-10 °C – +110 °C).
- Baño Poliscience[®] 801 (0° C – 150 °C).
- Aparato Byopac[®].
- Cámaras de tejido aislado.
- Computadora con software ACQ 381 NOWELEDGE[®] integrado.

5.3 Material

- Micropipeta Wilson Pipetman[®] de 100 µL.
- Micropipeta Wilson Pipetman[®] de 1000 µL.
- Frascos viales de vidrio color ámbar de 5 mL.
- Hilo seda (5/0).
- Jeringa para insulina (1 mL).
- Estuche de disección.
- Cajas petri de vidrio.
- Matraz volumétrico (1500 mL).



5.4 Material biológico

- 75 ratas Wistar macho joven con un peso que oscilaba entre los 250 y 500 g, donados por el bioterio FACULTAD DE MEDICINA UNAM, y CINVESTAD-IPN (sede sur).

5.5 Compuestos a evaluar

- Compuestos LQM de origen morfólico (301, 302, 308, 309, 310, 312, 313, 314).
- Compuestos LQM de origen tiomorfólico (318, 319, 320, 321, 322, 324).
- Compuestos LQM de origen piperidínico LQM 335.

5.6 Preparación de la solución fisiológica de Krebs

Sobre la platina de un agitador magnético colocar un vaso de precipitados de 100 mL de volumen conteniendo 50 mL de agua destilada una barra magnética. Observar que la burbuja de la balanza se encuentre centrada. Encender la balanza analítica y sobre su platina colocar un vidrio de reloj limpio, seco y tarar. Con ayuda de una espátula pesar NaCl, vaciar al vaso de precipitados y agitar hasta su completa disolución. Una vez disuelto vaciar esta solución a un matraz volumétrico de 1000 mL de volumen, enjuagar el vaso de precipitados con agua destilada adicionando el agua de enjuague en el matraz volumétrico de 1000 mL. Volver a adicionar 50 mL de agua destilada al vaso de precipitados y repetir los pasos anteriores al pesar cada uno de los siguientes reactivos en este orden: Dextrosa, NaHCO₃, KCl, MgSO₄·7H₂O, KH₂PO₄, Ca-Na-EDTA y CaCl₂·2H₂O. Llevar al aforo con agua destilada, introducir una barra magnética, homogenizar e identificar el matraz.



5.7 Preparación de la solución de Isoproterenol

Observar que la burbuja de la balanza se encuentre centrada. Encender la balanza analítica y sobre su platina colocar un vial de 5 mL de volumen limpio y seco. Tarar. Con ayuda de una espátula pesar 0.0003 g de Isoproterenol. Con una micropipeta de 1 mL tomar una alícuota de solución de Krebs y adicionarla al frasco vial conteniendo el Isoproterenol y tapar. Rotar el frasco vial sobre su propio eje con la yema de los dedos hasta su completa disolución e identificarlo como Solución de Isoproterenol 10^{-3} M. En un vial de 5 mL de volumen adicionar con ayuda de una micropipeta una alícuota de 0.1 mL de la solución de Isoproterenol 10^{-3} M más una alícuota de 0.9 mL de solución de Krebs para obtener 1 mL de solución de Isoproterenol 10^{-4} M. Homogenizar e identificar. En un vial de 5 mL de volumen adicionar con ayuda de una micropipeta una alícuota de 0.1 mL de la solución de Isoproterenol 10^{-4} M más una alícuota de 0.9 mL de solución de Krebs para obtener 1 mL de solución de Isoproterenol 10^{-5} M. Homogenizar e identificar. De la forma antes descrita hacer diluciones para obtener soluciones de Isoproterenol 10^{-6} M y 10^{-7} M.

5.8 Preparación de la solución de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos

Observar que la burbuja de la balanza se encuentre centrada. Encender la balanza analítica y sobre su platina colocar un vial de 5 mL de volumen limpio y seco. Tarar. Con ayuda de una espátula pesar el compuesto LQM. Con una micropipeta ir adicionando alícuotas de 0.1 mL en 0.1 mL de HCl 0.01 N hasta su total disolución. Una vez disuelto el compuesto LQM agregar las alícuotas necesarias de solución de Krebs hasta llegar a un volumen de 1 mL y obtener así una solución LQM 10^{-3} M. Homogenizar e identificar. En un vial de 5 mL de volumen adicionar con ayuda de una micropipeta una alícuota de 0.1 mL de la solución LQM 10^{-3} M más una alícuota de 0.9 mL de solución de Krebs para obtener 1 mL de solución LQM 10^{-4} M. Homogenizar e identificar.



En un vial de 5 mL de volumen adicionar con ayuda de una micropipeta una alícuota de 0.1 mL de la solución LQM 10^{-4} M más una alícuota de 0.9 mL de solución de Krebs para obtener 1 mL de solución de Isoproterenol 10^{-5} M. Homogenizar e identificar. De esta solución tomar una alícuota de 0.1 mL con ayuda de una micropipeta e ir adicionando éste volumen a cada una de las cámaras de tejidos aislados y dejar incubar por 30 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación realizar la curva Dosis-respuesta a Isoproterenol de una solución de Isoproterenol concentración 10^{-13} M a 10^{-7} M.

5.9 Preparación del equipo

Encender el aparato Byopac y el termostato del baño de recirculación manteniendo una temperatura de 32 – 35 °C. Llenar las cámaras de tejidos aislados con la solución de Krebs dejando que alcance la temperatura antes mencionada. Abrir la llave del carbógeno para permitir la oxigenación de la solución.

5.10 Desarrollo de la Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en ausencia de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos

Se utilizaron 5 ratas Wistar macho las cuales se anestesiaron con pentobarbital sódico en una dosificación de 45 mg/Kg de peso vía intraperitoneal, ya anestesiadas se colocaron en la cama de disección donde se les realizó una traqueotomía para poder extraer el corazón, mismo que fue enjuagado con la solución de Krebs (temperatura de 32 – 35 °C y oxigenada) arriba mencionada. El corazón enjuagado se colocó en una caja Petri conteniendo solución de Krebs (temperatura de 32 – 35 °C y oxigenada) en donde se realizó la disección de la aurícula derecha. Una vez disecada la aurícula se tomó una pequeña parte de la orejuela con hilo seda del número 5/0 haciendo un amarre resistente, (se cortó un extremo del hilo y el otro se conservó). De la parte inferior de la orejuela se hizo un amarre primero al tejido y luego a un arillo metálico y se cortaron los sobrantes de hilo.



La aurícula derecha se pasa de la caja Petri a la cámara de tejido aislado, insertando el arillo metálico en el interior de la cámara y el hilo del extremo superior se amarra a un tensor dando una tensión de 0.5 g. Dicho tensor esta conectado a una computadora que por medio del programa ACQ KNOWLEDGE® 3.8.1 va registrando las contracciones de la aurícula. Lo anterior se repitió con cada una de las ratas (n=5). Una vez montadas cada una de las aurículas en su respectiva cámara se dejaron estabilizar por espacio de 1 hora, dentro de este tiempo se realizaron lavados con solución fisiológica de Krebs cada 15 min.

Transcurrido el tiempo de estabilización a cada cámara se les agregó 0.1 mL de la solución de Isoproterenol 10^{-13} M, se fué visualizando en la pantalla de la computadora y al observar el efecto producido se adicionó a cada cámara 0.1 mL de la solución 10^{-12} M y así sucesivamente para obtener una gráfica concentración - respuesta Isoproterenol de 10^{-13} M a 10^{-7} M. Se registraron los resultados obtenidos y se graficaron los deltas de tensión en función de la concentración para poder observar el efecto del Isoproterenol sobre la contracción de la aurícula derecha de rata Wistar macho joven.

5.11 Desarrollo de la Curva Concentración-Respuesta a Isoproterenol en presencia de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos.

Por cada compuesto LQM evaluado se utilizaron 5 ratas Wistar macho las cuales se anestesiaron con pentobarbital sódico en una dosificación de 45 mg/Kg de peso vía intraperitoneal, ya anestesiadas se colocaron en la cama de disección donde se les realizó una traqueotomía para poder extraer el corazón, mismo que fue enjuagado con la solución de Krebs (temperatura de 32 – 35 °C y oxigenada) arriba mencionada. El corazón enjuagado se colocó en una caja Petri conteniendo solución de Krebs (temperatura de 32 – 35 °C y oxigenada) en donde se realizó la disección de la aurícula derecha.



Una vez diseccionada la aurícula se tomó una pequeña parte de la orejuela con hilo seda del número 5/0 haciendo un amarre resistente, se cortó un extremo del hilo y el otro se conservó. De la parte inferior de la orejuela se hizo un amarre primero al tejido y luego a un arillo metálico y se cortaron los sobrantes de hilo. La aurícula derecha se pasa de la caja Petri a la cámara de tejido aislado, insertando el arillo metálico en el interior de la cámara y el hilo del extremo superior se amarra a un tensor dando una tensión de 0.5 g. Dicho tensor esta conectado a una computadora que por medio del programa ACQ KNOWLEDGE[®] 3.8.1 va registrando las contracciones de la aurícula. Lo anterior se repite con cada una de las ratas (n=5). Una vez montadas cada una de las aurículas en su respectiva cámara se dejaron estabilizar por espacio de 1 hora, dentro de este tiempo se realizaron lavados con solución fisiológica de Krebs cada 15 min.

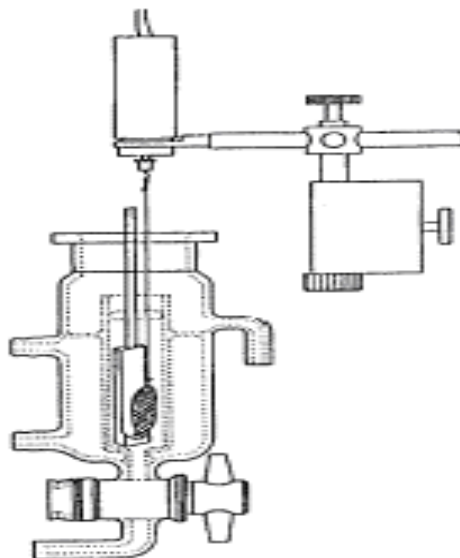


Figura 15. Cámara de tejido aislado compuesta de una cámara interna que aloja al tejido en un medio líquido en condiciones fisiológicas. El tejido se halla sujeto en ambos extremos, uno fijo y otro móvil unido a un tensor, un transductor de fuerza, un amplificador y un dispositivo de registro. Existe una doble cámara que permite la circulación de agua a 32 - 35 °C para mantener la temperatura constante (Cortés, I; 2007).



Transcurrido el tiempo de estabilización a cada cámara se le agregó 0.1 mL de la solución LQM 10^{-5} M correspondiente y se dejó incubar por 30 min. Transcurrido el tiempo de incubación con el compuesto LQM correspondiente a cada una de las cámaras se les agregó 0.1 mL de la solución de Isoproterenol 10^{-13} M, al observar el efecto producido se adicionó a cada cámara 0.1 mL de la solución 10^{-12} M y así sucesivamente para obtener una gráfica concentración - respuesta LQM 10^{-5} M vs Isoproterenol de 10^{-13} M a 10^{-7} M.

Se registraron los resultados obtenidos y se graficaron los deltas de tensión en función de la concentración, se observó el efecto del compuesto LQM correspondiente para determinar la concentración efectiva del compuesto LQM evaluado sobre la contracción de la aurícula derecha de rata Wistar macho.

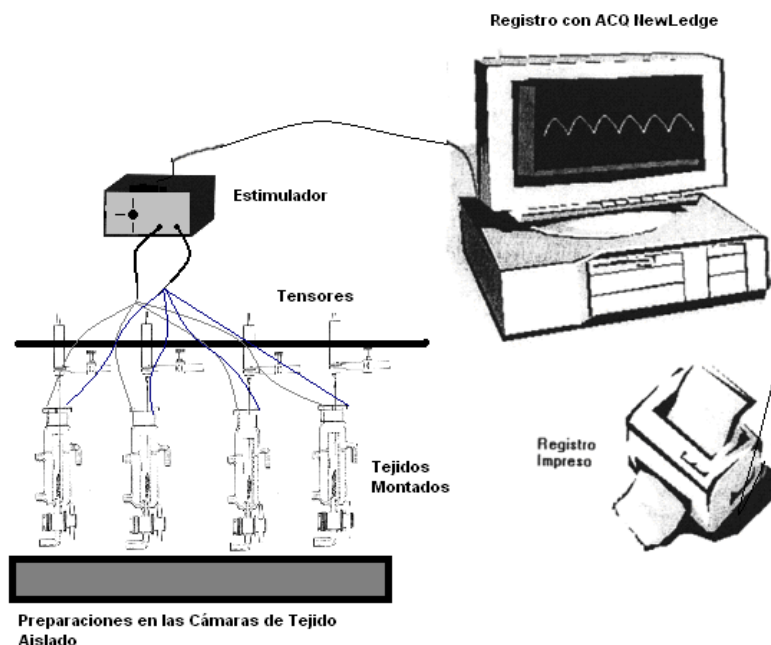


Figura 16. Esquema general de trabajo. Se muestran las cámaras, el sistema de tensión, un transductor de fuerza y el dispositivo de registro (Cortés, I; 2007).



6.0 RESULTADOS

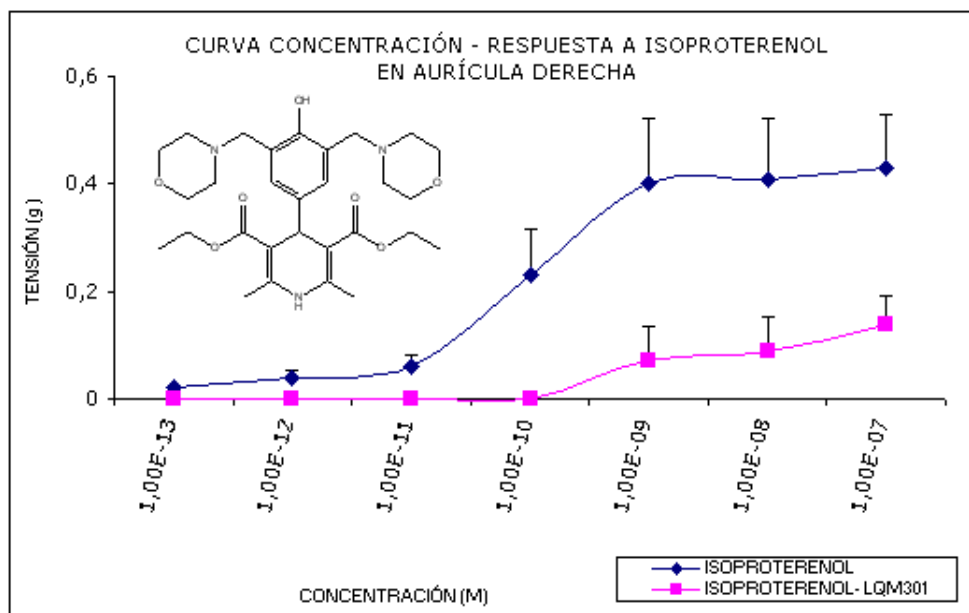
6.1 Curvas concentración-respuesta y doble recíprocas

Los estudios de competición repetidos para una serie de fármacos, permiten elaborar el *perfil de afinidades farmacológicas* por un receptor determinado, lo que le confiere una identidad propia. Este tipo de análisis tiene especial interés para confirmar que un nuevo producto, que en estudios funcionales parece actuar mediante un receptor determinado, se fija de manera específica a él ⁽²⁾.

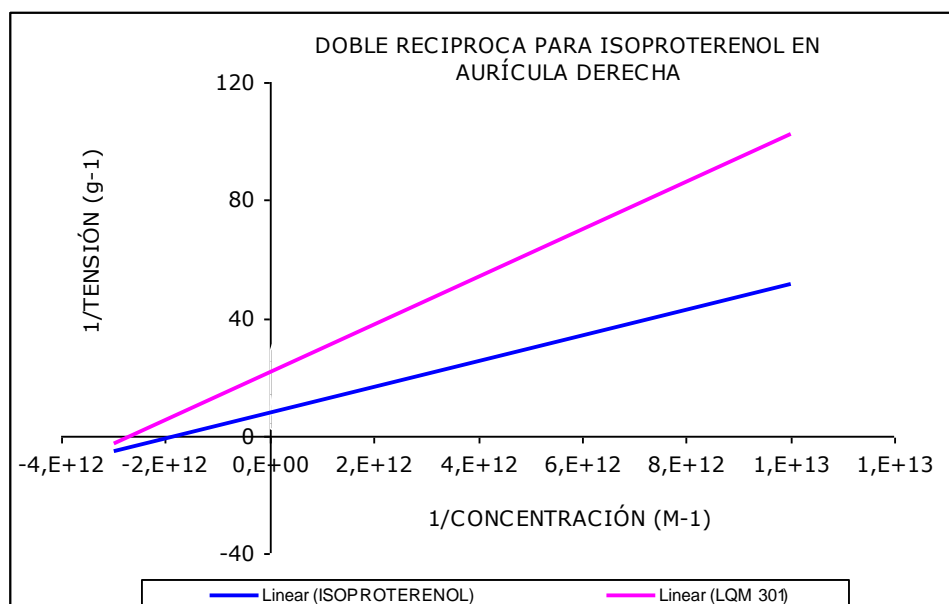
A continuación se muestran las gráficas concentración-respuesta que se realizaron con la finalidad de determinar que compuestos presentan efecto sobre la contracción de la aurícula derecha por el Isoproterenol en presencia de los compuestos LQM300's de acuerdo a la estructura molecular de cada uno de ellos y su correspondiente doble recíproca que nos permite visualizar el tipo de antagonismo obtenido.



LQM 301



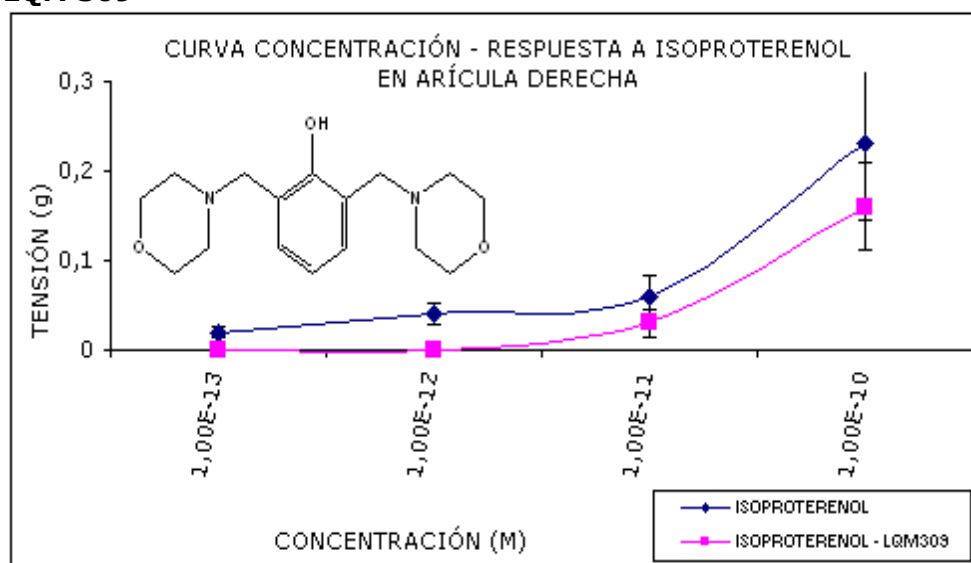
Gráfica 1A. Curvas concentración–respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dimorfolínico LQM301 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados no son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.



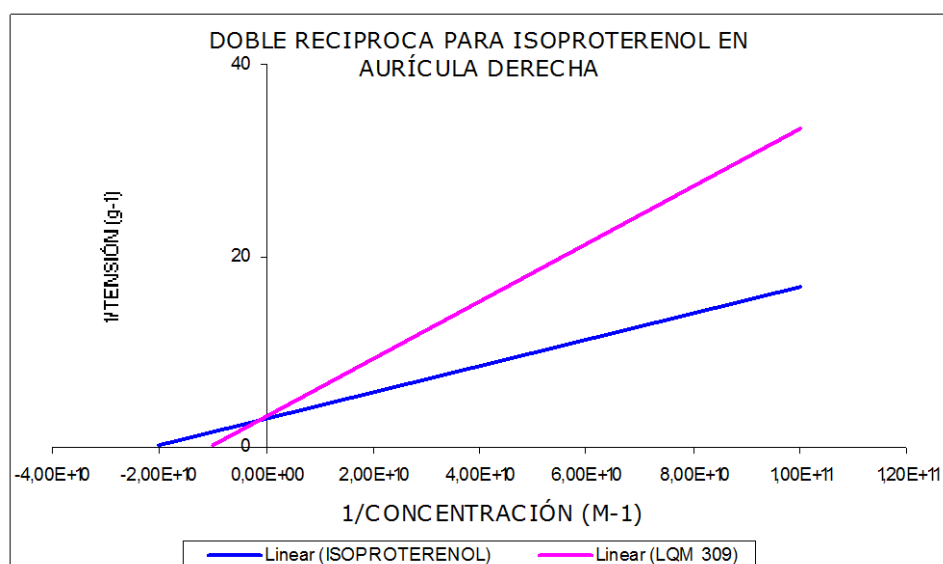
Gráfica 1B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración–respuesta en ausencia y presencia del compuesto dimorfolínico LQM301 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 309



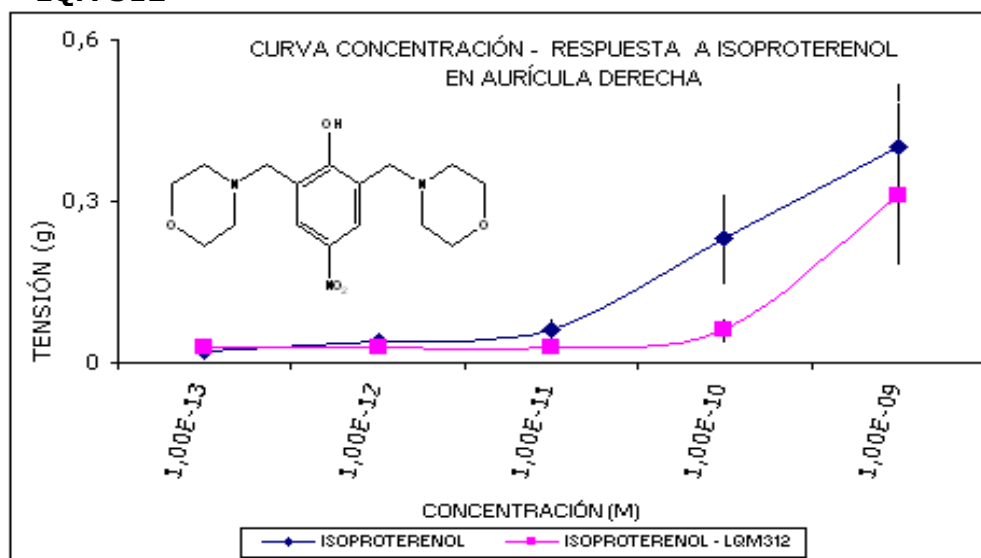
Gráfica 2A. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dimorfolínico LQM309 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha = 0.05$, $F = \text{Fisher}$.



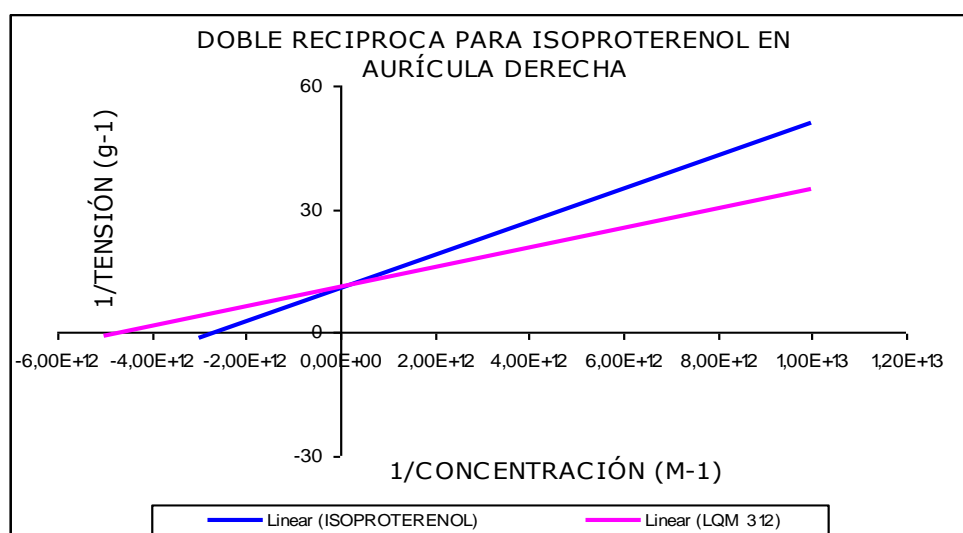
Gráfica 2B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-309 en donde observamos un antagonismo de tipo Competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 312



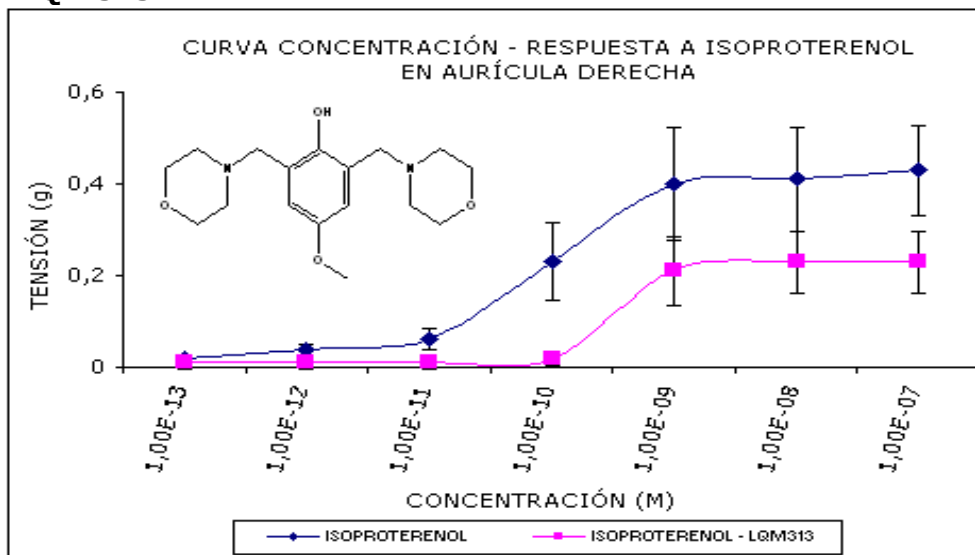
Gráfica 3A. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dimorfolínico LQM 312 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.



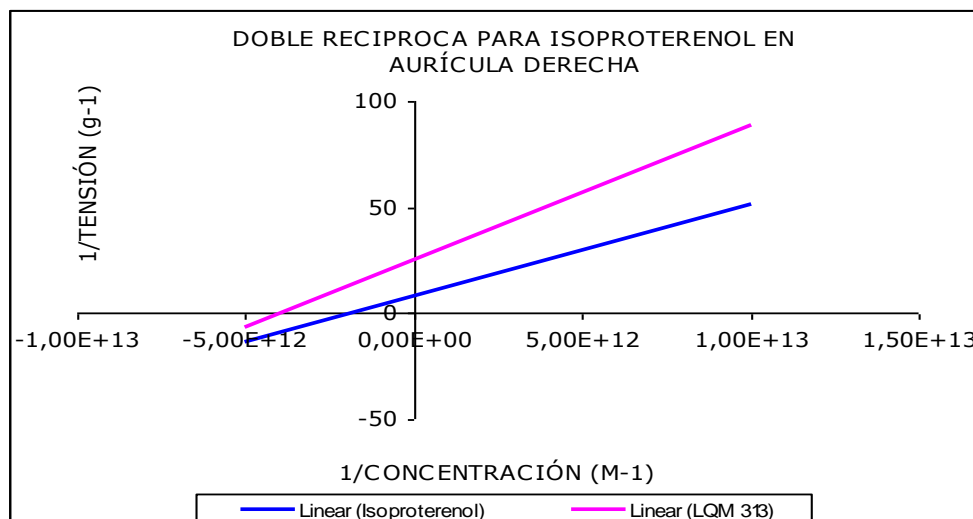
Gráfica 3B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración- respuesta en ausencia y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-312 en donde observamos un antagonismo de tipo Competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 313



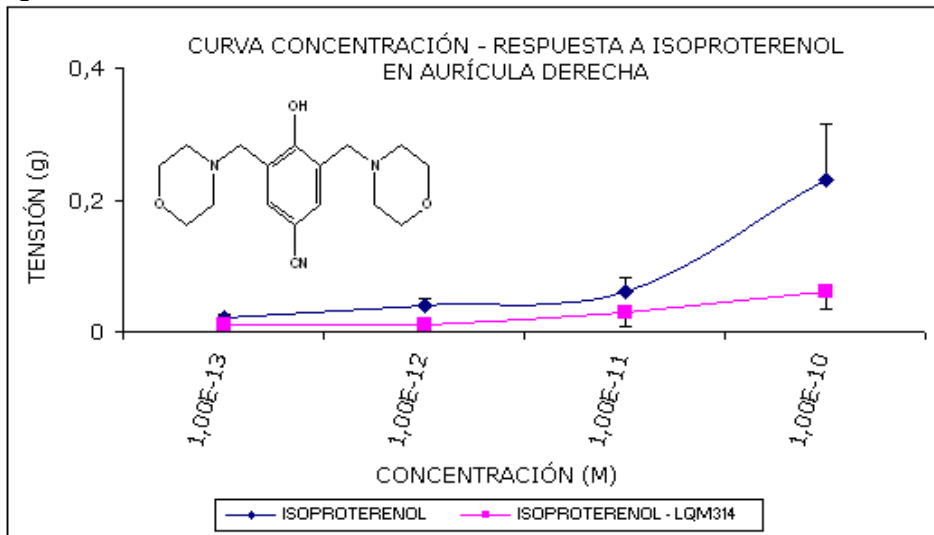
Gráfica 4A. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-313 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.



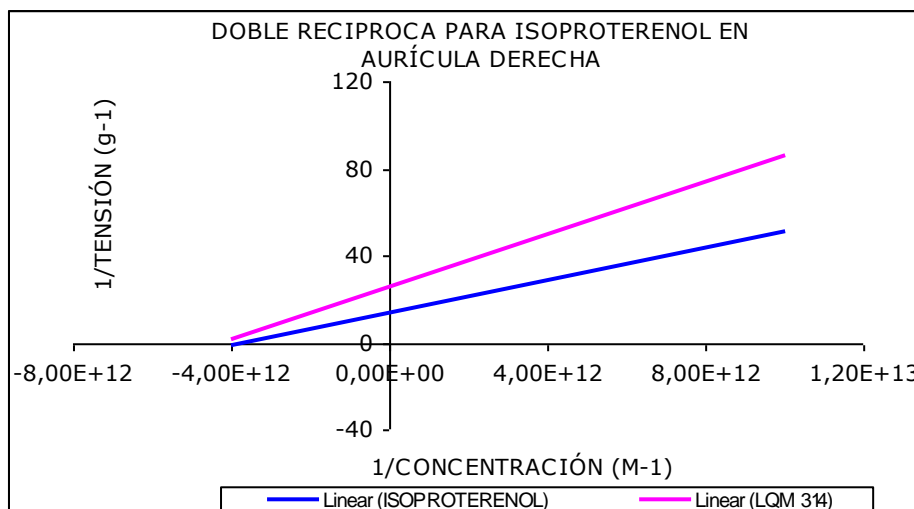
Gráfica 4B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-313 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 314



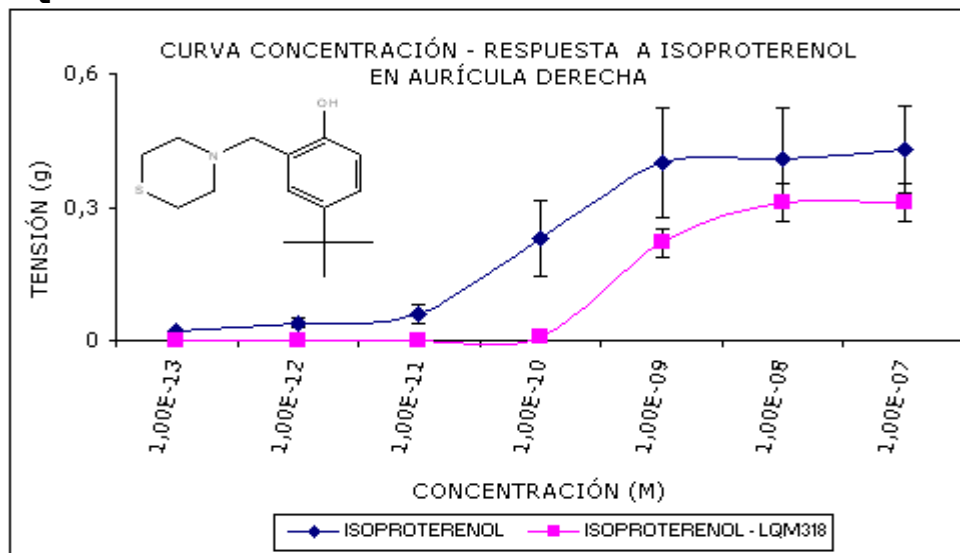
Gráfica 5A. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-314 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.



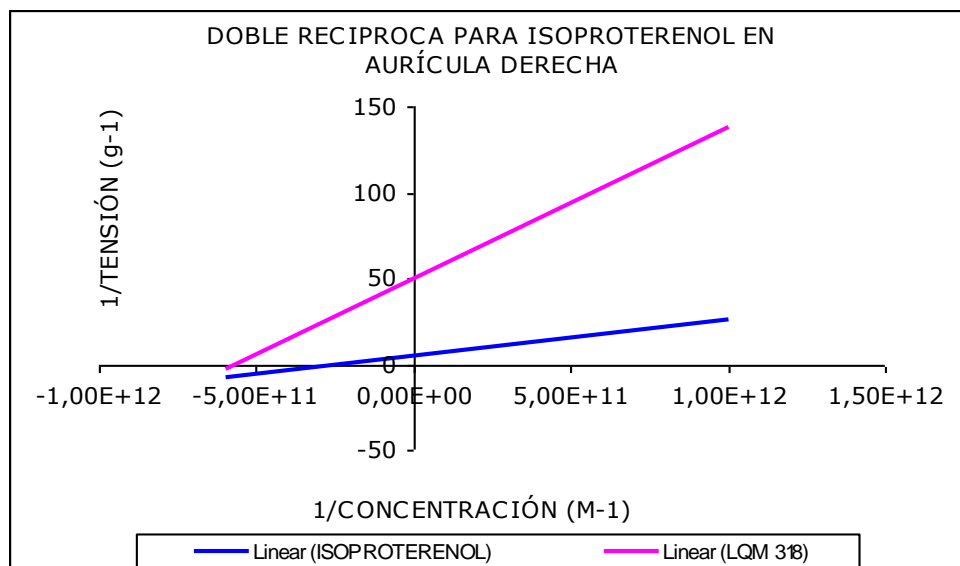
Gráfica 5B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-314 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 318



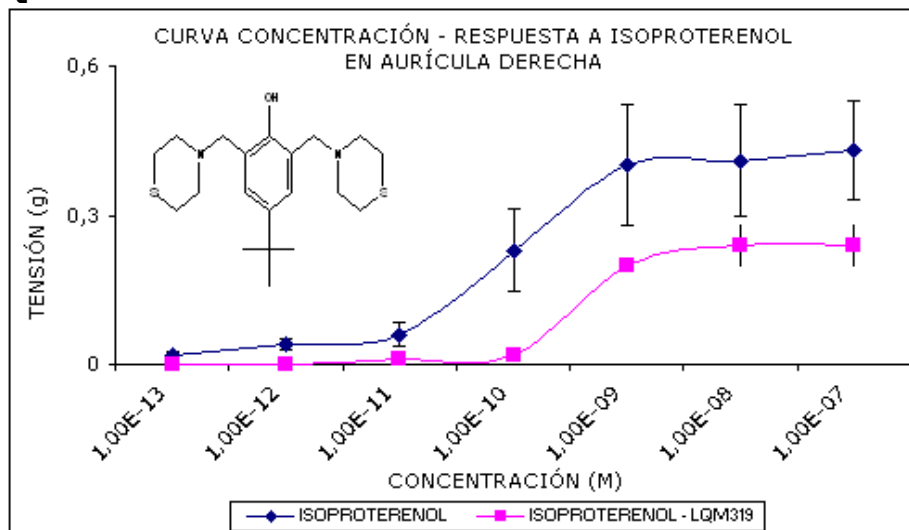
Gráfica 6A. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto tiomorfolínico LQM-318 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.



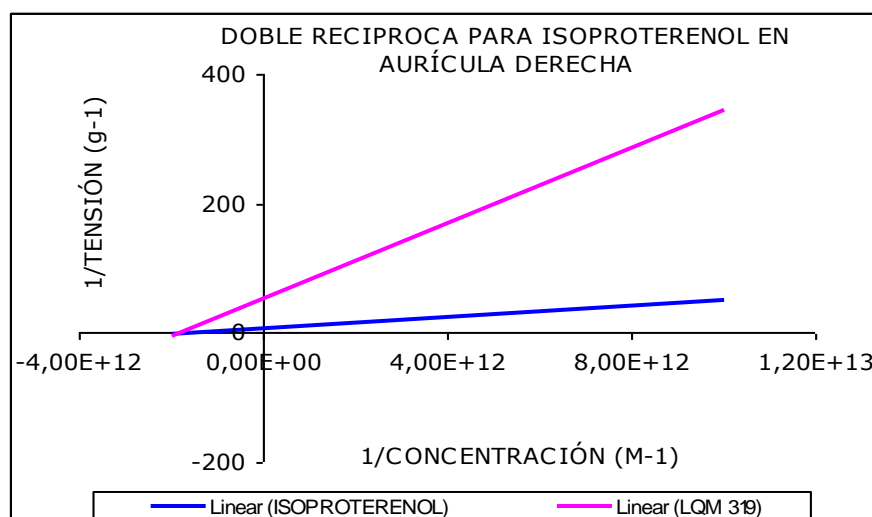
Gráfica 6B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto tiomorfolínico LQM-318 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 319



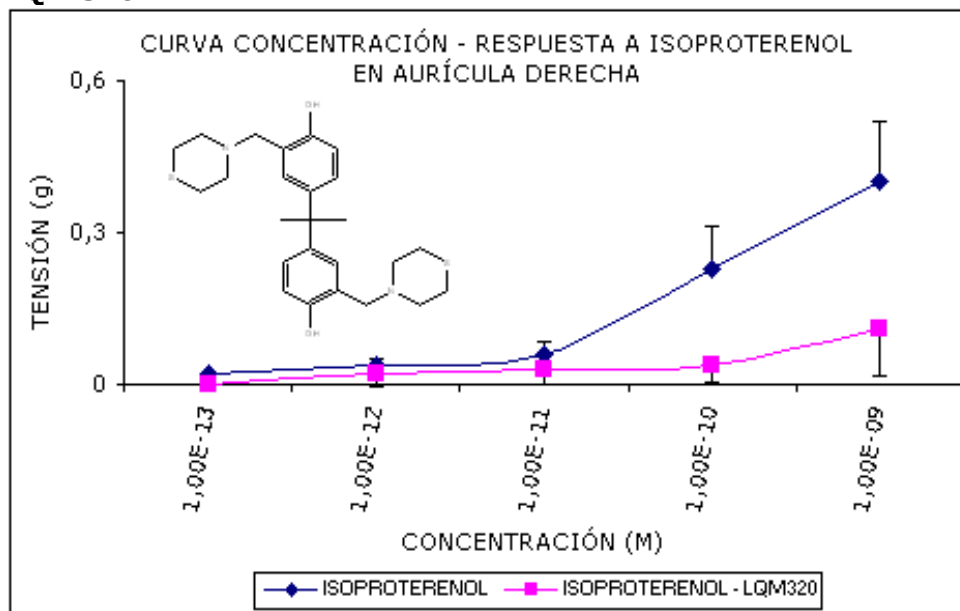
Gráfica 7A. Curvas concentración - respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto ditiomorfolínico LQM-319 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.



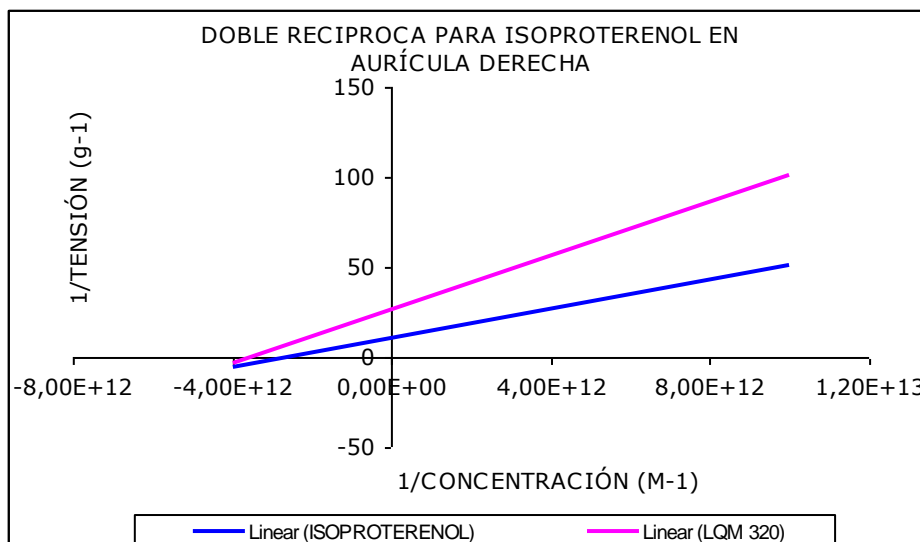
Gráfica 7B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto ditiomorfolínico LQM-319 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 320



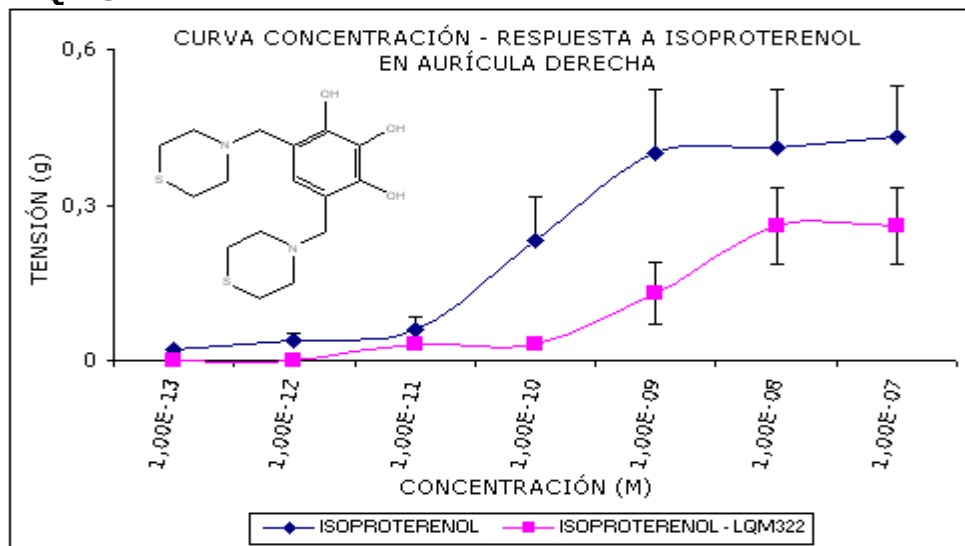
Gráfica 8A. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto ditiomorfolínico LQM-320 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.



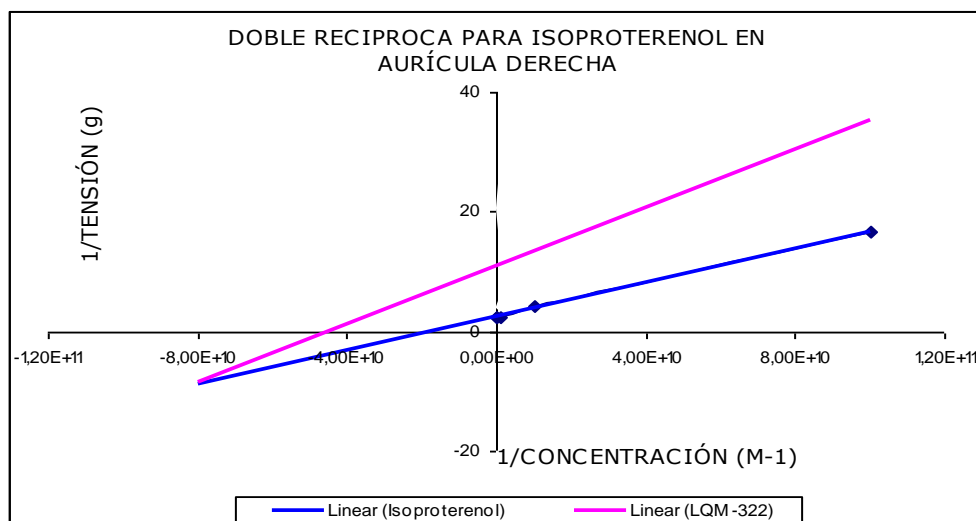
Gráfica 8B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto ditiomorfolínico LQM-320 en donde observamos un antagonismo de tipo No Competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 322



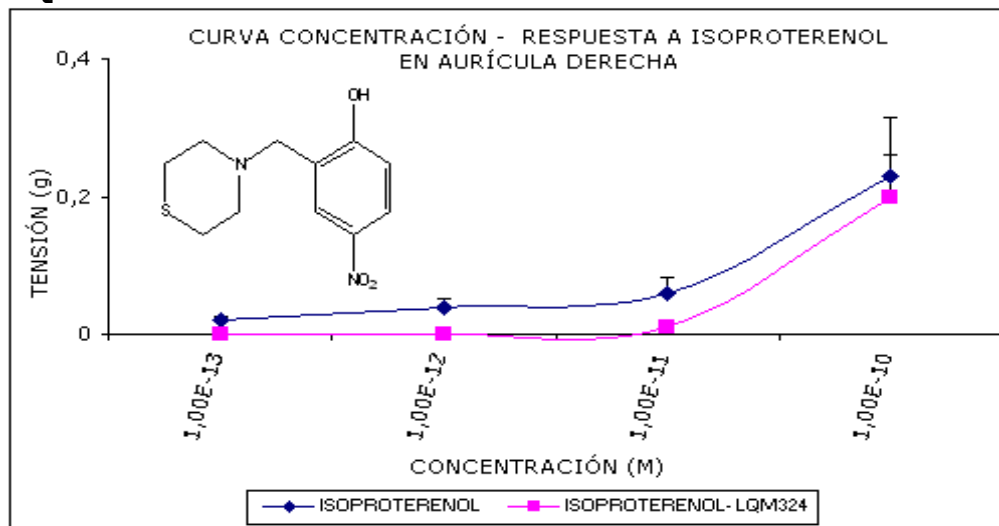
Gráfica 9A. Curvas concentración - respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto ditiomorfolínico LQM-322 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados no son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.



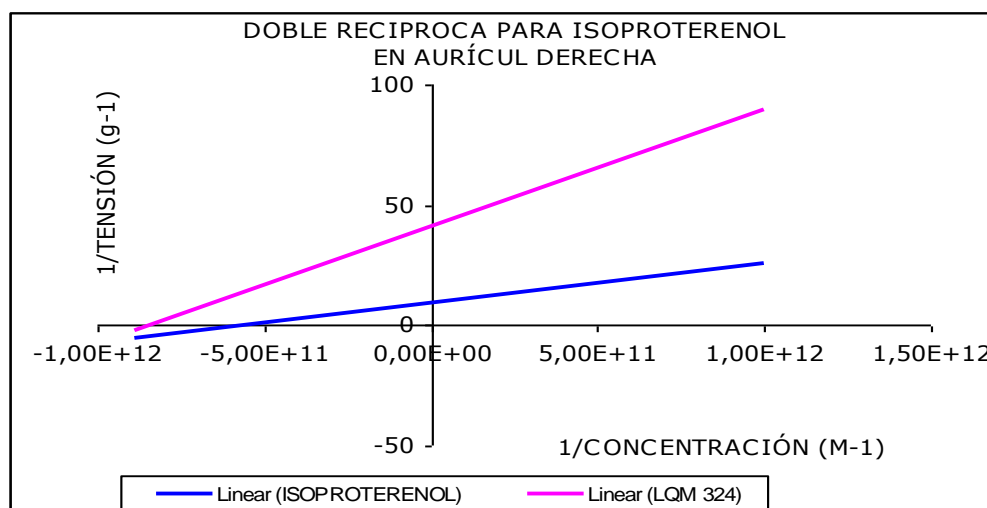
Gráfica 9B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto ditiomorfolínico LQM-322 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 324



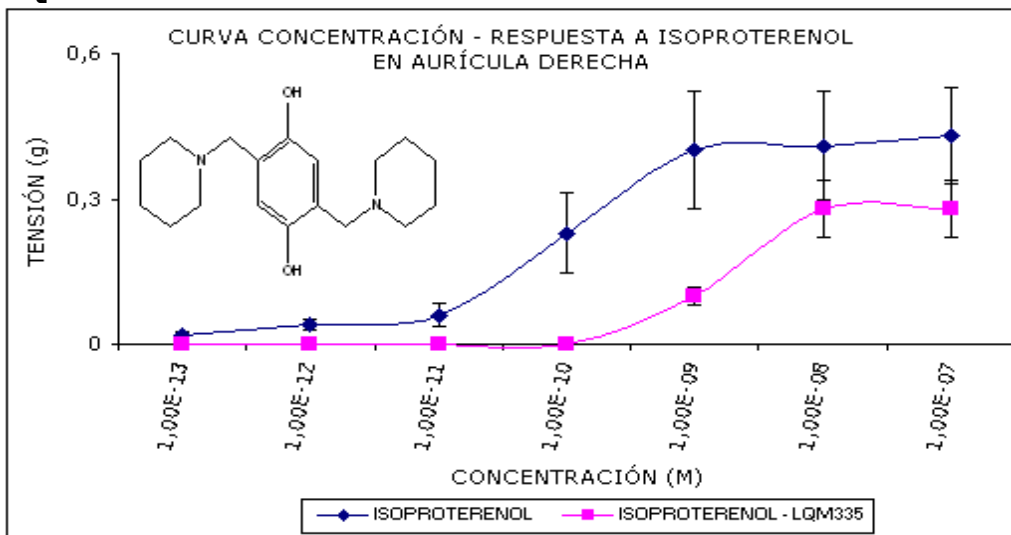
Gráfica 10A. Curvas concentración - respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto tiomorfolínico LQM-324 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.



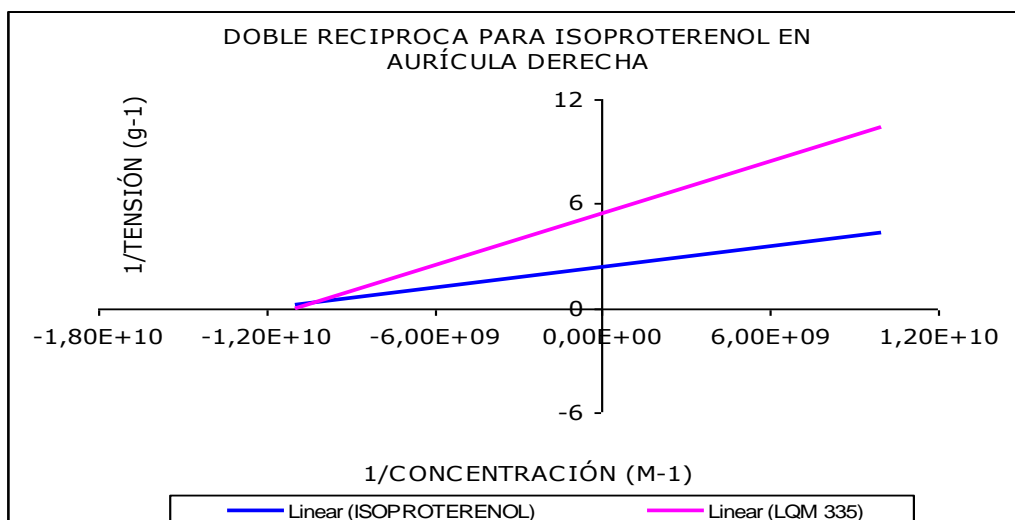
Gráfica 10B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto tiomorfolínico LQM-324 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las X).



LQM 335



Gráfica 11A. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dipiperidínico LQM-335 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados no son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.

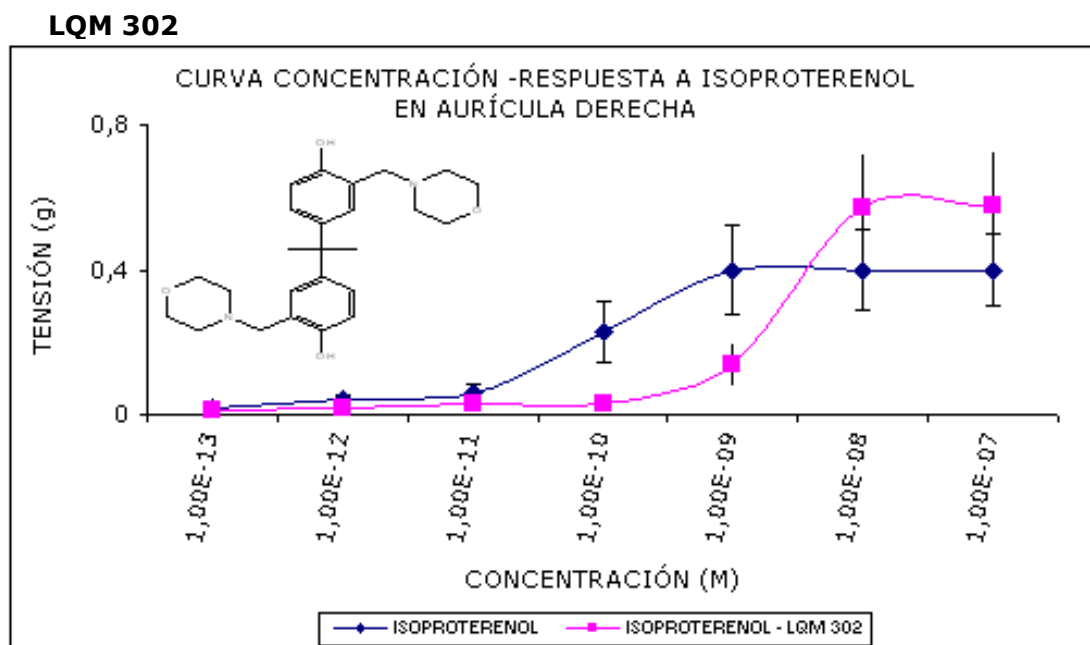


Gráfica 11B. Representación gráfica doble recíproca de la curva concentración-respuesta en ausencia y presencia del compuesto dipiperidínico LQM-335 en donde observamos un antagonismo de tipo No competitivo que muestra el efecto máximo obtenido (intersección con el eje de las Y) y la constante de afinidad K_D (intersección con el eje de las x).



6.2 Compuestos LQM300' s que presentaron sinergismo

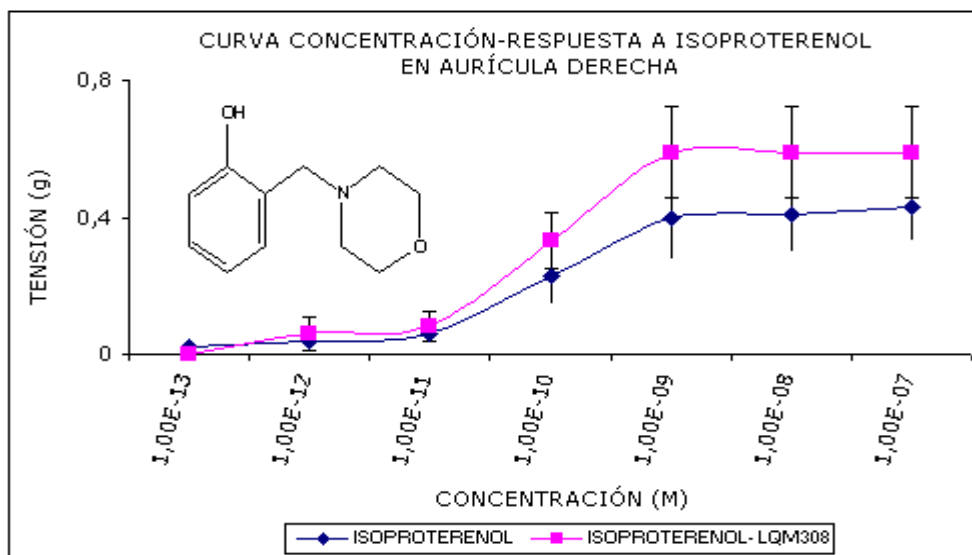
Los compuestos dimorfolínicos LQM-302, LQM-310, el compuesto morfolínico LQM-308 y el tritiorfolínico LQM-321 presentaron sinergismo sobre la contracción de la aurícula derecha, motivo por el cual no se presentan las curvas dobles recíprocas pero si sus correspondientes curvas concentración-respuesta.



Gráfica 12. Curvas concentración – respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-302 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=\text{Fisher}$.

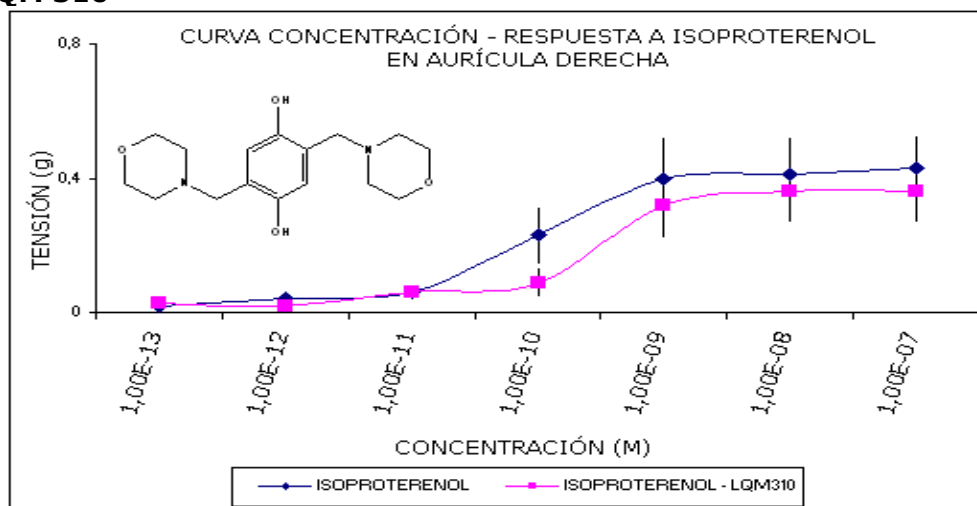


LQM 308



Gráfica 13. Curvas concentración - respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto dimorfolínico LQM-308 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

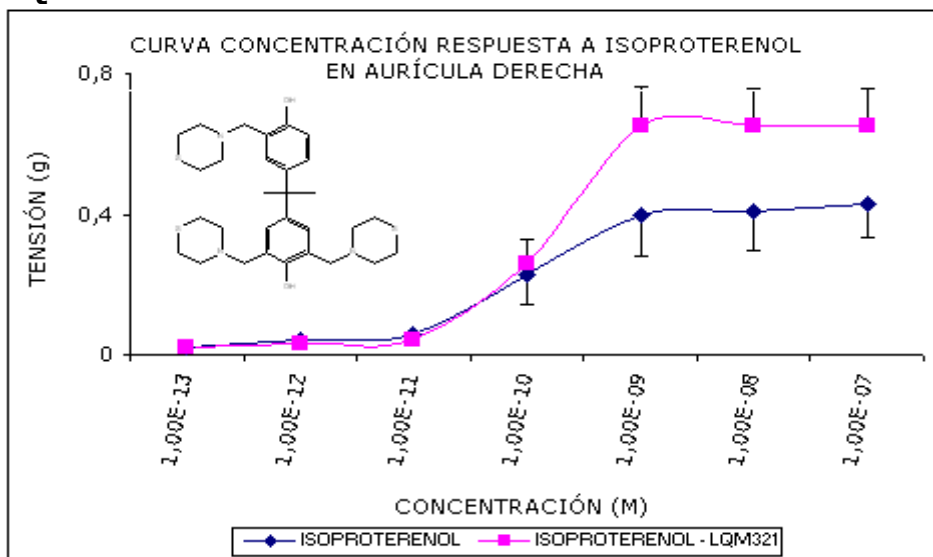
LQM 310



Gráfica 14. Curvas concentración - respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto morfolínico LQM-310 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.



LQM 321



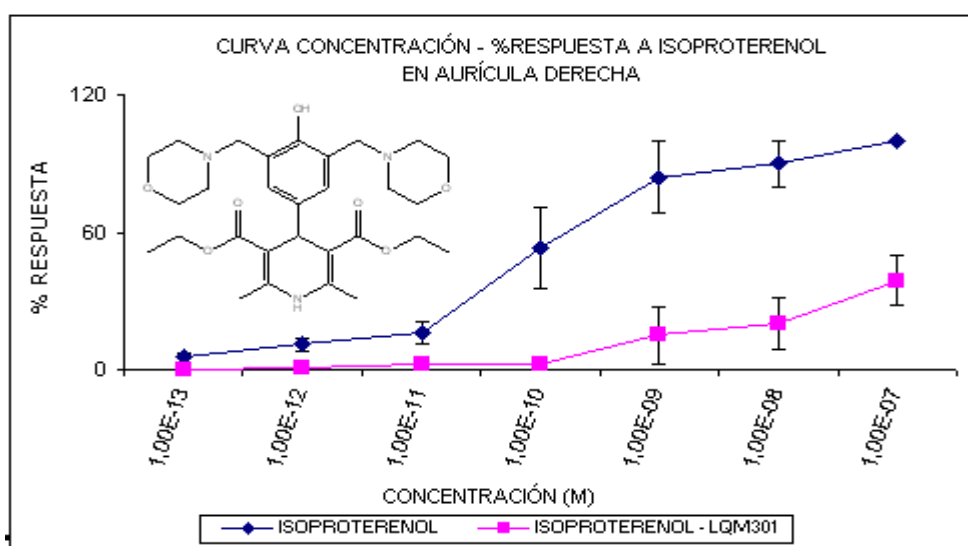
Gráfica 15. Curvas concentración - respuesta en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto tritiorfolínico LQM-321 (línea rosa) en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados fueron significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.



6.3 Curvas concentración-% respuesta a Isoproterenol en presencia de los compuestos LQM300's.

En base a las curvas concentración-respuesta se determinó el % de efecto de los compuestos LQM's sobre la aurícula derecha con la finalidad de obtener las K_D y potencias respectivas a cada compuesto y conocer su afinidad por el receptor utilizando al Isoproterenol como referencia.

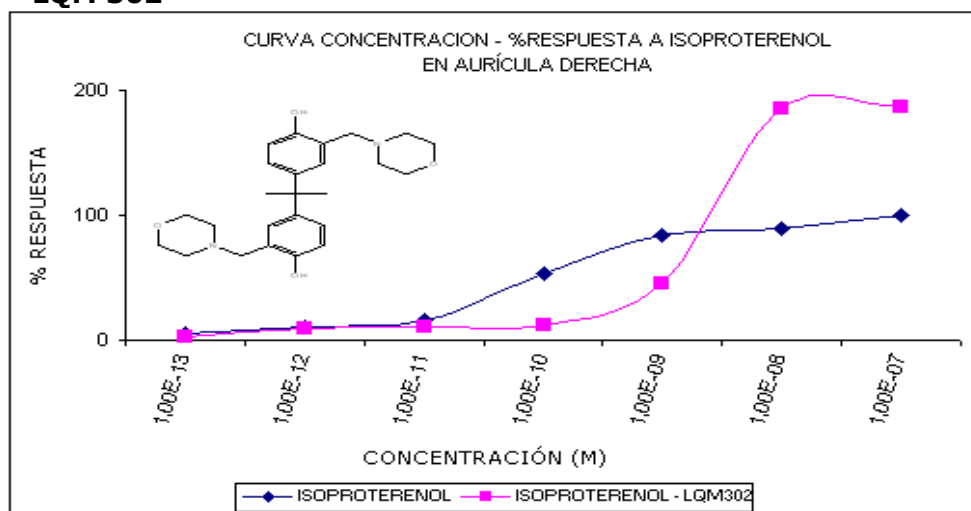
LQM 301



Gráfica 16. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto dimorfolínico LQM-301 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-301 disminuye la contracción de la aurícula derecha no de forma significativa y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

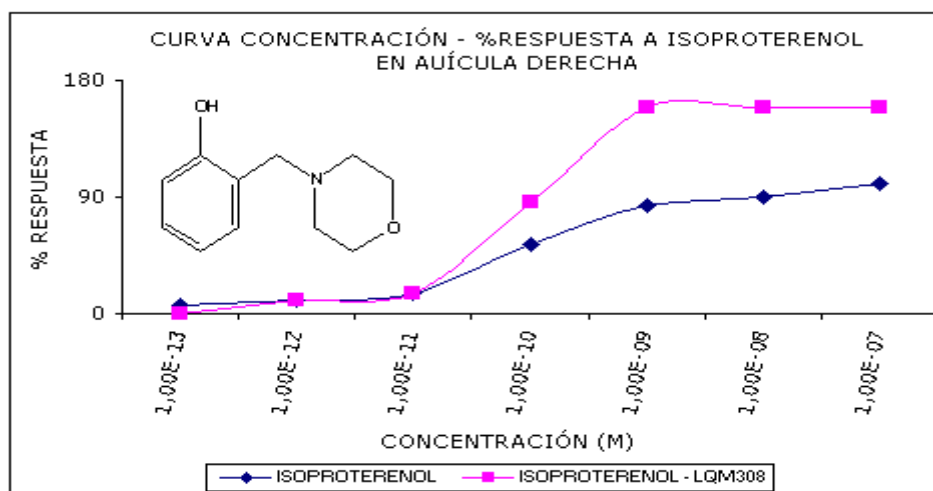


LQM 302

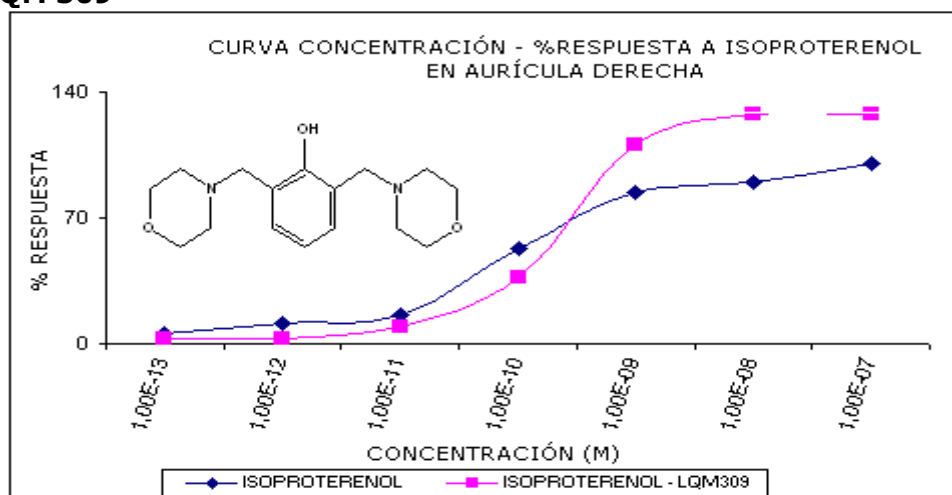


Gráfica 17. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto dimorfolínico LQM-302 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-302 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

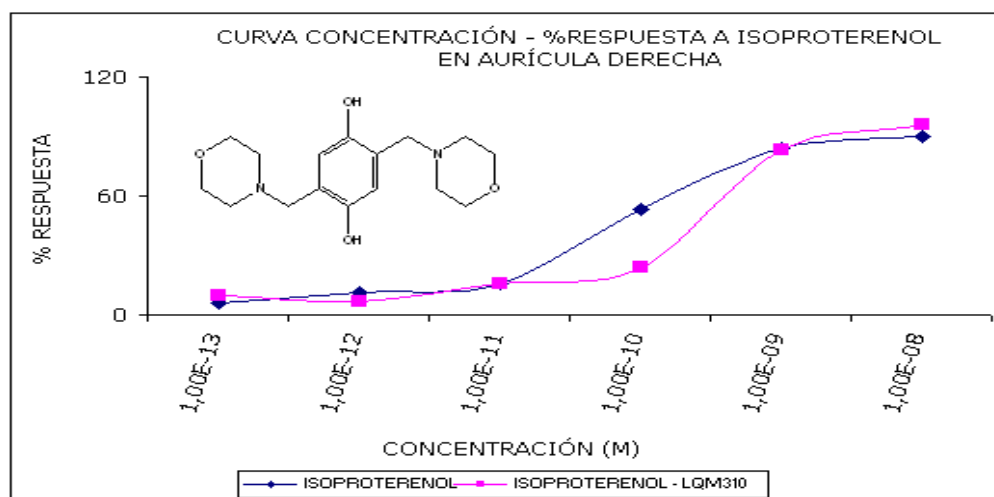
LQM 308



GRÁFICA 18. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto morfolínico LQM-308 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-308 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

**LQM 309**

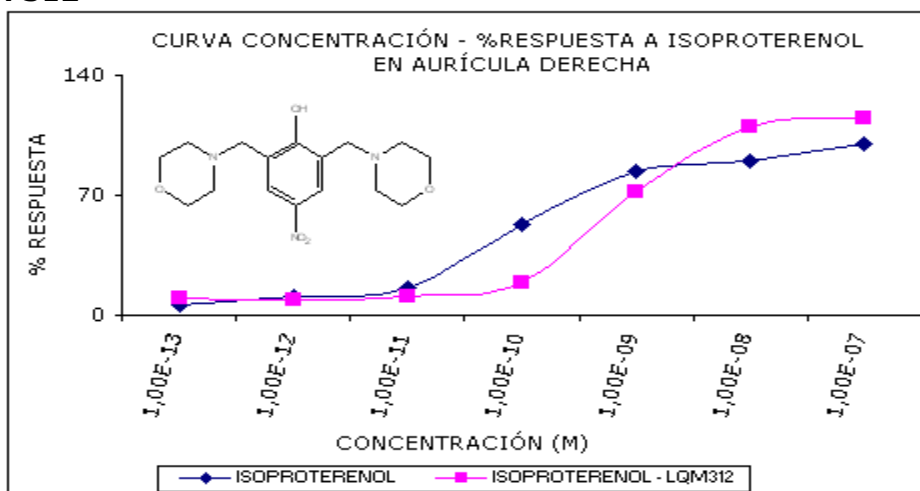
Gráfica 19. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto dimorfolínico LQM-309 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-309 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.

LQM 310

Gráfica 20. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto dimorfolínico LQM 310 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. Los resultados son significativos y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, $F=Fisher$.

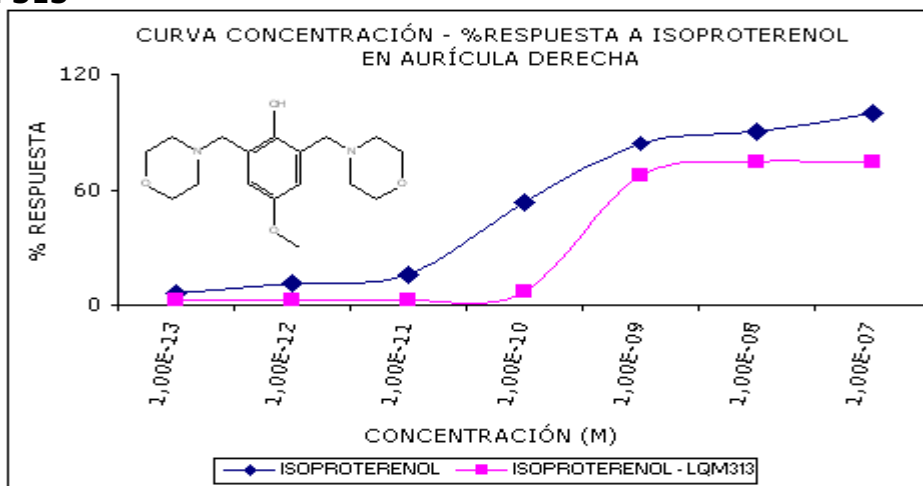


LQM 312

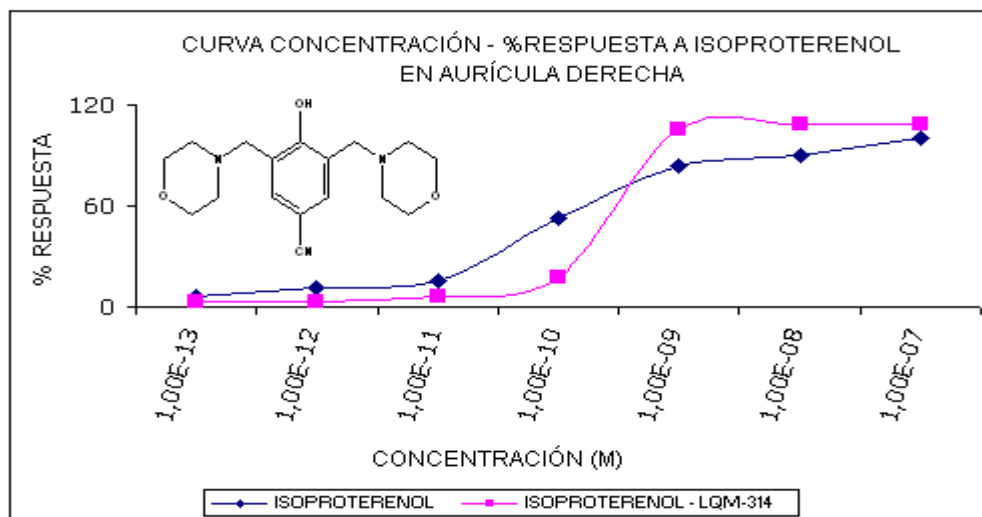


Gráfica 21. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto dimorfolínico LQM-312 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-312 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

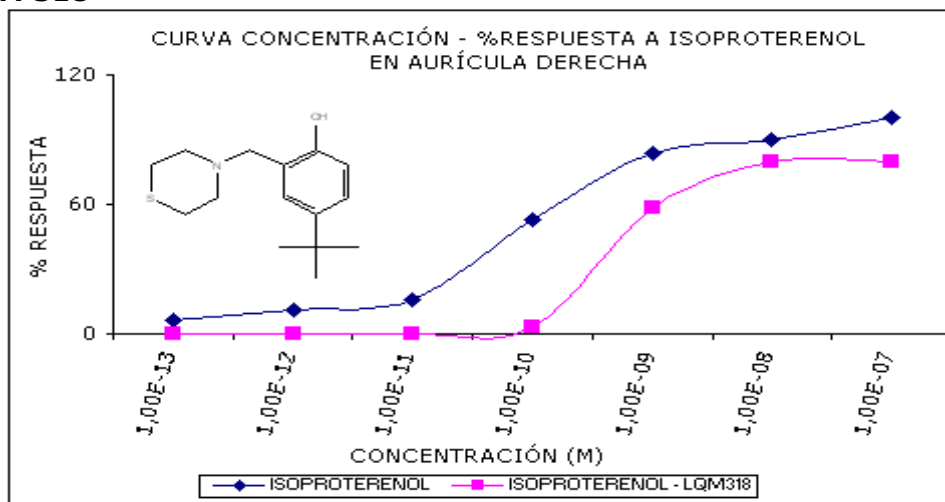
LQM 313



Gráfica 22. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto dimorfolínico LQM-313 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-313 disminuye la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

**LQM 314**

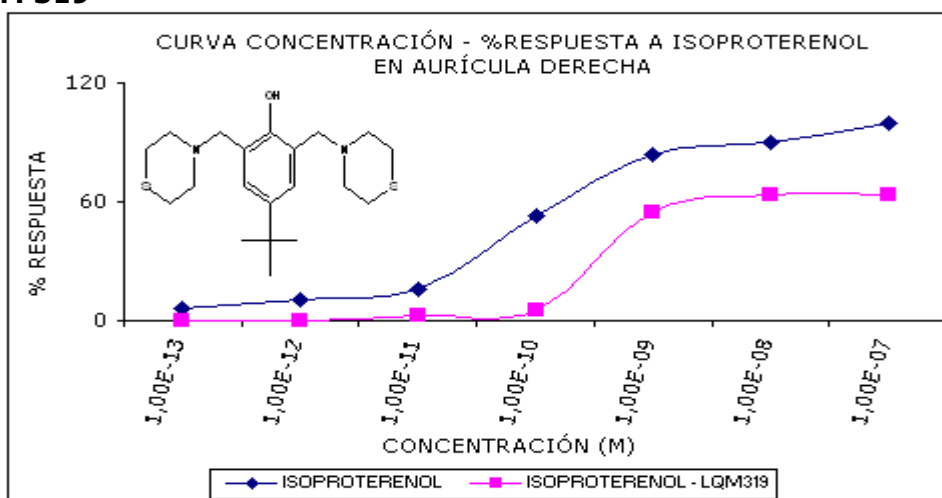
Gráfica 23. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto dimorfolínico LQM-314 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-314 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

LQM 318

Gráfica 24. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto tiomorfolínico LQM-318 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-318 disminuye la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

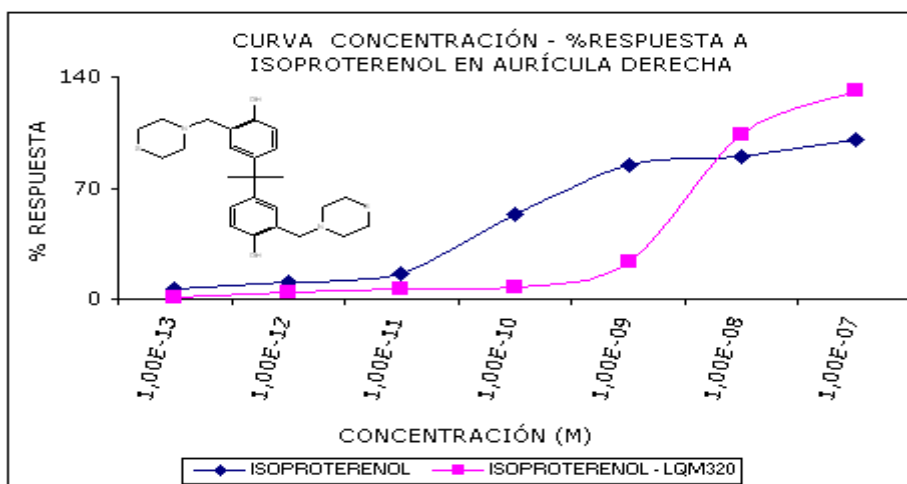


LQM 319



Gráfica 25. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto ditiomorfolínico LQM-319 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-319 disminuye la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

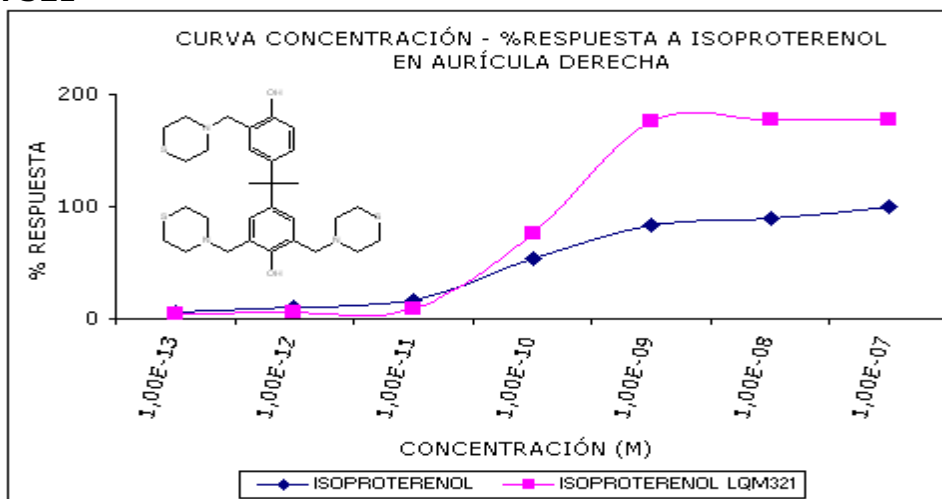
LQM 320



Gráfica 26. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto ditiomorfolínico LQM-320 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-320 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

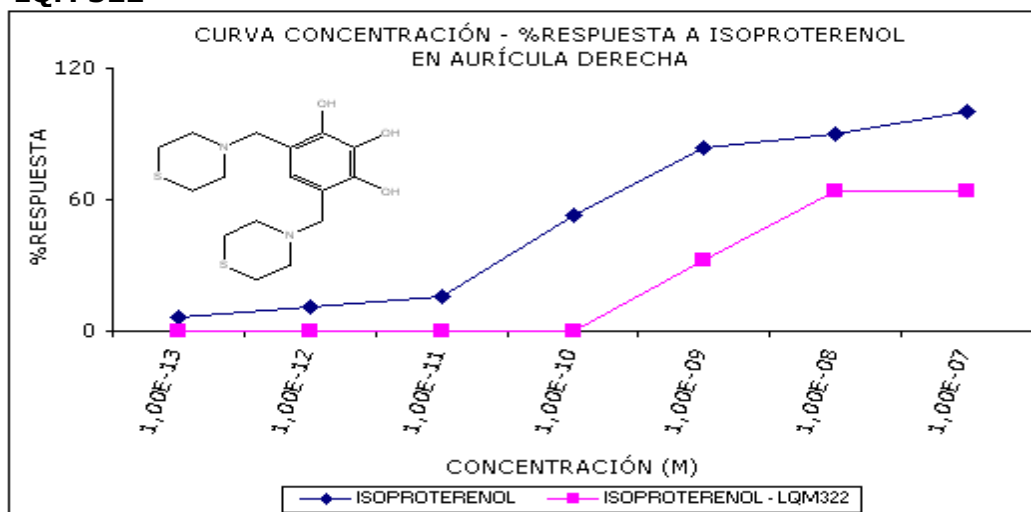


LQM 321



Gráfica 27. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto tritiomorfolínico LQM-321 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-321 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

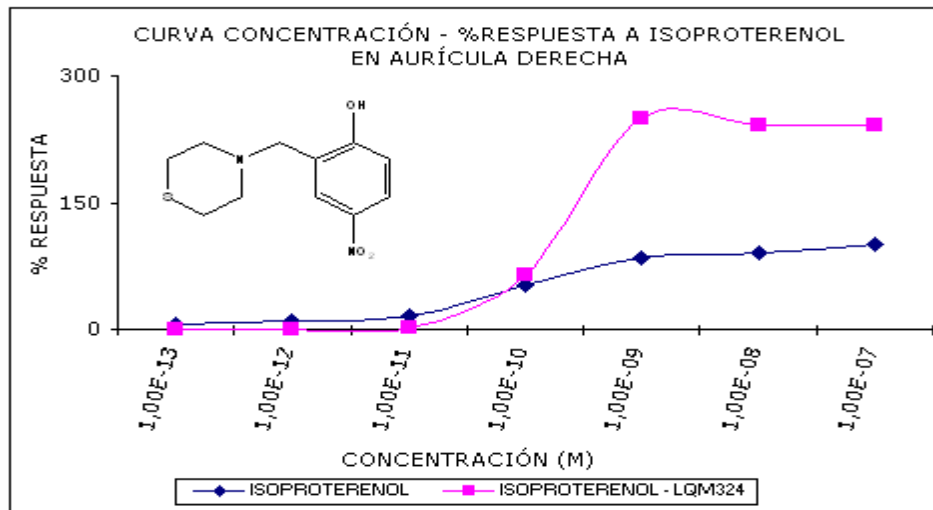
LQM 322



Gráfica 28. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto ditiomorfolínico LQM-322 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-322 disminuye la contracción de la aurícula derecha de manera no significativa y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

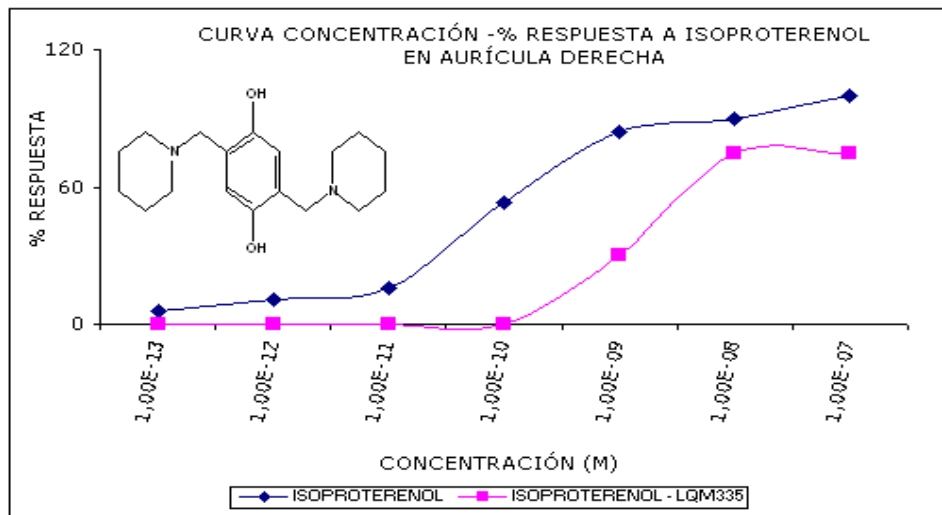


LQM 324



Gráfica 29. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto tiomorfolínico LQM-324 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-324 incrementa la contracción de la aurícula derecha significativamente y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

LQM 335



Gráfica 30. Curvas Concentración-% respuesta a Isoproterenol en ausencia (línea azul) y presencia (línea rosa) del compuesto tritiomorfolínico LQM-335 en el modelo *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho. El LQM-335 disminuye la contracción de la aurícula derecha de manera no significativa y corresponden a un valor promedio de \pm error estándar con una $n=5$, comparando ambas curvas por el método de ANOVA de un factor con una $\alpha=0.05$, F =Fisher.

6.4 Tabla 2. Determinación del % de efecto de los compuestos LQM300´s evaluados en aurícula derecha de rata Wistar tomando a Isoproterenol como referencia.

CLASIFICACIÓN	COMPUESTO	EFFECTO CONTRÁCTIL	% EFFECTO MÁXIMO
Morfolínico	LQM 308	Aumentado	159.6
Dimorfolínico	LQM 301	Disminuido	39.0
	LQM 302	Aumentado	187.0
	LQM 309	Disminuye	127.7
	LQM 310	Aumentado	95.9
	LQM 312	Disminuye	114.8
	LQM 313	Disminuido	74.8
	LQM 314	Disminuye	109.0
	Tiomorfolínico	LQM 318	Disminuido
LQM 324		Disminuido	242.5
Ditiomorfolínico	LQM 319	Disminuido	63.4
	LQM 320	Disminuye	131.8
	LQM 322	Disminuido	63.6
Tritiomorfolínico	LQM 321	Aumentado	178.0
Dipiperidínico	LQM 335	Disminuido	74.4



6.5 Tabla 3. Determinación de la constante de afinidad (k_D) de los compuestos LQM300's evaluados por el método de doble recíproca en aurícula derecha de rata Wistar.

CLASIFICACIÓN	COMPUESTO	VALOR DE K_D
Dimorfolínico	LQM 301	5.18E-10
	LQM 309	1.33E-10
	LQM 312	1.73E-13
	LQM 313	1.74E-3
	LQM 314	4.42E-13
Tiomorfolínico	LQM 318	1.77E-12
	LQM 324	4.74E-12
Ditiomorfolínico	LQM 319	5.50E-13
	LQM 320	4.57E-13
	LQM 322	2.20E-11
Dipiperidínico	LQM 335	9.24E-11



7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Las sustancias químicas deben estudiarse de manera sistemática según el tipo de fármaco en pruebas bioquímicas, fisiológicas, conductuales y farmacológicas diseñadas para identificar sustancias con la actividad deseada (Kalant, H; 2002).

La farmacodinamia es el estudio de los efectos bioquímicos y fisiológicos de los fármacos, sus mecanismos de acción y la relación entre la concentración del fármaco y el efecto de éste sobre un organismo, la farmacodinamia puede ser estudiada a diferentes niveles: sub-molecular, molecular, celular, a nivel de tejidos y órganos y a nivel del cuerpo entero, usando técnicas *in vivo*, *post-mortem* o *in Vitro* (Goodman & Gilman.1996) como es el caso del presente trabajo.

Utilizando la molécula de la Chagrolina fue posible hacer sustituciones en sus diferentes regiones por anillos heterocíclicos de morfolina, tiomorfolina y piperidina, dando lugar a los compuestos Morfolínicos (LQM301, LQM302, LQM308, LQM309, LQM310, LQM312, LQM313, LQM314), compuestos Tiomorfolínicos (LQM318, LQM319, LQM320, LQM321, LQM322, LQM324) y Diperidínico (LQM335), y teniendo el antecedente de que los receptores β_1 son los que se encuentran en mayor cantidad en el músculo cardíaco al trabajar con estos compuestos pudimos observar la actividad biológica sobre estos receptores presentes en la aurícula derecha de rata Wistar; como fármaco de referencia utilizamos al Isoproterenol que es un fármaco que estimula en forma predominante los receptores adrenérgicos β_1 y β_2 por tener radicales hidroxilo en las posiciones C-3 y C-4 al trabajar con estos compuestos pudimos observar la actividad biológica sobre los receptores β_1 presentes en la aurícula derecha de rata Wistar (Mycek, M; et al. 2006).

La interacción entre el receptor adrenérgico β_1 que está acoplado a una proteína G (proteína integral de membrana fijadora de nucleótidos de guanina) y el Isoproterenol provoca que la proteína G cambie su conformación.



La estimulación del receptor β_1 lleva a la activación de la proteína G estimuladora (Gs), de la adenilciclasa (AC), a la acumulación de monofosfato cíclico de Adenosina (AMPC), a la estimulación de la proteincinasa A (PKA) y a la fosforilación de proteínas blanco principales en las que se incluyen los canales de calcio tipo L, el fosfolamban, los receptores rianodínicos y la troponina I. Entonces aumenta la fosforilación de troponina y fosfolamban, lo que a su vez incrementa el nivel de Ca^{2+} intracelular y, por tanto, contribuye a que la respuesta inotrópica sea más intensa (Vargas, J; 2006). En el corazón, la estimulación de adrenorreceptores β_1 causa isotropía y cronotropía positiva (Kalant, H; et al; 2002).

Sabemos que los fármacos se pueden clasificar según la acción sobre el receptor en fármacos agonistas y fármacos antagonistas. Para poder determinar el tipo de efecto que causan los compuestos LQM300's sobre la aurícula derecha requerimos analizar la relación entre dosis-respuesta respecto a concentraciones crecientes de cada uno de ellos mediante una curva log dosis respuesta.

Considerando que los fármacos agonistas son aquellos capaces de activar, modificar y desencadenar un efecto cuando éste se une al receptor, podemos deducir que los compuestos morfolínicos LQM-308 (gráfica 1) compuesto químicamente constituido por 1 anillo de morfolina y los compuestos dimorfolínicos LQM-302 (gráfica 2) y LQM-310 ambos constituidos químicamente por 2 anillos de morfolina y de 2 grupos metoxi, el tritiomorfolínico LQM-321 (gráfica 14) con 3 anillos de tiomorfolína pertenecen a esta clasificación al presentar un incremento en la contracción cardíaca, en sus respectivas gráficas dosis-respuesta podemos observar como las curvas se ven desplazadas hacia la izquierda indicando con esto que son compuestos agonistas al Isoproterenol, tienen dos grupos hidroxilo que como ya se mencionó anteriormente le confiere a la molécula mayor afinidad por los receptores β , para el compuesto LQM-308 que solo tiene un grupo hidroxilo su efecto agonista puede deberse a que la morfolina sustituyente está ubicada en la región II que al no poseer la estructura de 2,6-bis(pirrolidin-1-il-metil)fenol la actividad antiarrítmica es nula.



Recordando que un fármaco antagonista suprime o reduce el efecto de un agonista, dificultando la formación del complejo fármaco-receptor, los compuestos dimorfolínicos LQM-301 (gráfica 4A) compuesto químicamente constituido por 2 anillos de morfolina y de 2 esteres de ácido carboxílico quienes le aportan el carácter hidrofílico, el LQM-309 (gráfica 5A) compuesto químicamente constituido por 2 anillos de morfolina y de 1 grupo metoxi, el LQM-312 (gráfica 6A) compuesto dimorfolínico y un radical metoxi, el LQM-313 (gráfica 7A) compuesto dimorfolínico y un ácido carboxílico y el LQM-314 (gráfica 8A), los compuestos tiomorfolínicos LQM-318 (gráfica 9A) con 1 grupo terbutil y 1 grupo metoxi y el LQM-324 (gráfica 10A) con 1 grupo metoxi y 1 grupo nitro, los compuestos ditiomorfolínicos LQM-319 (gráfica 11A) con 1 grupo terbutil y 1 grupo metoxi, LQM-320 (gráfica 12A) con 1 grupo terbutil y 2 grupos metoxi y el LQM-322 (gráfica 13A) con 3 grupos metoxi, el LQM-324 y el compuesto dipiperídico LQM-335 (gráfica 15A) con 2 grupos metoxi provocan una disminución en la contracción cardíaca demostrando un efecto antagónico, los fármacos antagonistas reducen la probabilidad de que los agonistas se fijen al receptor y de esta manera se oponen a su acción de forma eficaz ^(Vargas, J; 2006) en sus respectivas gráficas dosis-respuesta podemos observar como las curvas se ven desplazadas hacia la derecha indicando con esto que son compuestos antagónicos de los receptores adrenérgicos B1.

Una vez identificados los compuestos LQM300's que presentaron antagonismo se procedió a realizar su gráfica doble recíproca (para tal efecto se graficaron las recíprocas de la concentración y del efecto) para analizar su tipo de antagonismo: competitivo o no competitivo.

Un fármaco de tipo competitivo interactúa en el mismo sitio de los receptores que el fármaco agonista y por ello compite con la unión del segundo ^{14 (Litter, M; 1992)}, en su gráfica doble recíproca puede observarse que el efecto máximo es el mismo pero su constante de afinidad es diferente, tal es el caso de los compuestos LQM-309 y LQM-312 (gráficas 5B y 6B respectivamente), los cuales en su estructura tienen dos moléculas de morfolina y solo un grupo hidroxilo motivo por el cual quizá tengan un efecto antagónico competitivo.



En el caso del antagonismo no competitivo el fármaco antagonista se puede combinar con el receptor en el mismo sitio en que se combina el agonista pero en una forma tan firme que no puede ser desplazado. Alternativamente, el antagonista puede combinarse en un sitio diferente, de tal forma que evite un cambio en la configuración del receptor que sea esencial para su combinación adecuada con el agonista para producir la respuesta biológica característica (lo que significa que el mecanismo de acción de estos compuestos no es sobre el sistema adrenérgico) (Velázquez, 2005) en sus gráficas dobles recíprocas se observa que el efecto máximo se reduce y la K_D es igual, ejemplo de esto son los compuestos dimorfolínicos LQM-301 (gráfica 4B), LQM-313 (gráfica 7B) y LQM-314 (gráfica 8B) con grupos carboxilos, grupos carbonilos y el grupo ciano respectivamente en sus moléculas favorecen la actividad antiarrítmica, los tiomorfolínicos LQM-318 (gráfica 9B) y LQM-324 (gráfica 10B), los ditiomorfolínicos LQM-319 (gráfica 11B), LQM-320 (gráfica 12B) y LQM-322 (gráfica 13B) que tienen en común el grupo terbutil en su estructura, a excepción del LQM-322 quién tiene 3 grupos hidroxilo y LQM-324 que tiene un grupo nitro, el dipiperidínico LQM-335 (gráfica 15B) que quizá los anillos de piperidina le confieran el antagonismo.

Los receptores de la aurícula tienen afinidad tanto por el Isoproterenol como por los compuestos LQM300's antes mencionados y debido a la asociación de estos receptores con cada uno de los fármacos pudo observarse un efecto máximo ya que de acuerdo a la teoría ocupacional a mayor número de receptores ocupados mayor el efecto producido (Cortés, I; 2007) 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 que es el recíproco de la constante de asociación ($1/K_a$), a la cual se le asigna el símbolo K_D (donde K_D se define como la concentración molar de fármaco que produce una respuesta igual al 50% de la respuesta máxima) y constituye un índice de afinidad más utilizado (Kalant, H; et al 2002) Cuanto menor es la K_D , mayor es la afinidad, cuando el valor de la K_D sea baja la afinidad será alta, así el compuesto LQM300's que presentó mayor afinidad fue el LQM 322.



De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente reporte y retomando los resultados de las investigaciones realizadas anteriormente por la QFB. Patricia Tamara Castillo García y por la QFB. Itzel Fabiana Gutierrez Rojo utilizando Fenilefrina como patrón de referencia en la contracción de la aurícula derecha y aorta torácica de rata wistar normotensa respectivamente en conjunto con los compuestos LQM300 's y tomando en cuenta que:

La potencia de los agonistas de adrenorreceptores alfa varía así:

Adrenalina > noradrenalina > dopamina > Isoproterenol

La potencia de los agonistas de adrenorreceptores beta varía así:

Isoproterenol > adrenalina > noradrenalina > dopamina

Se presenta el siguiente cuadro comparativo (Tabla 4) en donde se observa como los compuestos LQM-309, LQM-313, LQM-314, LQM-318, LQM-319, y LQM-320 disminuyen la contracción en la aurícula derecha de rata Wistar macho en presencia de Fenilefrina e Isoproterenol, por lo cual podemos decir que los compuestos que tienen en su estructura 2 anillos de morfolina (LQM-309 y LQM-313), el grupo ciano presente en el LQM-314 y el grupo terbutil presente en LQM-318 y LQM-319) actúan tanto en receptores adrenérgicos α y β , no así en los compuestos LQM-308 y LQM-321 que en presencia de Fenilfrina disminuyen la contracción y en presencia de Isoproterenol la aumentan, mientras que el LQM-312 y LQM-324 presentan el efecto contrario, en presencia de Fenilefrina aumentan el efecto y en presencia del Isoproterenol lo disminuyen debido al grupo nitro presente en su estructura. El compuesto LQM-310 definitivamente aumenta la contracción sobre la aurícula derecha de rata Wistar macho en presencia de Fenilefrina e Isoproterenol.



Tabla 4. Comparación del efecto entre distintos compuestos LQM300's evaluados en aurícula derecha de rata Wistar tomando a Fenilefrina^(Castillo, G:2008) e Isoproterenol como referencia

COMPUESTO	CLASIFICACIÓN	FENILEFRINA	ISOPROTERENOL
		AURÍCULA DERECHA	AURÍCULA DERECHA
LQM-308	Morfolínico	↓	↑
LQM-309	Dimorfolínico	↓	↓
LQM-310	Tiomorfolínico	↑	↑
LQM-312	Tiomorfolínico	↑	↓
LQM-313	Dipiperídínico	↓	↓
LQM-314	Dimorfolínico	↓	↓
LQM-318	Tiomorfolínico	↓	↓
LQM-319	Ditiomorfolínico	↓	↓
LQM-320	Ditiomorfolínico	↓	↓
LQM-321	Tritiomorfolínico	↓	↑
LQM-324	Tiomorfolínico	↑	↓



En la tabla 5 se hace una comparación entre el efecto provocado en presencia de Fenilefrina e Isoproterenol en la aurícula derecha y aorta torácica de rata Wistar, claramente se observa como los compuestos LQM-313, LQM-314, LQM-318 y LQM-335 provocan una disminución tanto en la contracción de la aurícula derecha y en aorta de rata Wistar macho normotensa; indicando con esto que la presencia de 2 anillos de morfolina, 1 anillo de tiomorfolina más un grupo terbutil y 2 anillos de piperidina en la modificación de la molécula de Changrolina se logra obtener fármacos con efecto antihipertensivo, claro esta, debe complementarse este estudio con otras pruebas clínicas y dar seguimiento a todo el protocolo que se requiere para lanzar un fármaco al mercado. Las sustancias químicas deben estudiarse de manera sistemática según el tipo de fármaco en pruebas bioquímicas, fisiológicas, conductuales y farmacológicas diseñadas para identificar sustancias con la actividad deseada. Sin embargo se requiere una gran investigación desde el descubrimiento inicial hasta el producto terminado.

Tabla 5. Comparación del efecto entre distintos compuestos LQM300's en aurícula derecha^(Castillo, G:2008) y aorta^(Gutiérrez, R; 2007) tomando a Fenilefrina e Isoproterenol como referencia .

COMPUESTO	CLASIFICACIÓN	FENILEFRINA		ISOPROTERENOL
		AORTA	AURÍCULA DERECHA	AURÍCULA DERECHA
LQM-313	Dimorfolínico	↓	↓	↓
LQM-314	Dimorfolínico	↓	↓	↓
LQM-318	Tiomorfolínico	↓	↓	↓
LQM-324	Tiomorfolínico	↓	↑	↓
LQM-335	Dipiperídínico	↓	No existen resultados	↓



8. CONCLUSIONES

Mediante el modelo experimental *In Vitro* utilizando la aurícula derecha de rata Wistar macho con respecto a la contracción muscular cardíaca ejercida por el Isoproterenol se concluye:

- ✓ Mediante la realización de las curvas Concentración-Respuesta a Isoproterenol se determinó que los compuestos morfolínicos LQM-308, dimorfolínicos LQM-302 y LQM-310, tritiomorfolínico LQM-321 presentan un incremento en la contracción cardíaca en la aurícula derecha de rata Wistar.
- ✓ Mediante el método de doble recíproca se determinó que los compuestos dimorfolínicos LQM-309 y LQM-312 presentan un *antagonismo competitivo* sobre la contracción de la aurícula derecha, produciendo un efecto sobre los receptores β adrenérgicos.
- ✓ Mediante el método de doble recíproca se determinó que los compuestos dimorfolínicos LQM-301, LQM-313 y LQM-314, los tiomorfolínicos LQM-318 y LQM-324, los ditiomorfolínicos LQM-319 LQM-320 y LQM-322 y el dipiperidínico LQM-335 presentan un *antagonismo no competitivo* sobre la contracción de la aurícula derecha produciendo un efecto sobre los receptores β adrenérgicos, disminuyendo la contracción muscular cardíaca en aurícula derecha de rata Wistar.
- ✓ Los compuestos LQM-313, LQM-314, LQM-318 y LQM-335 provocan una disminución tanto en la contracción de la aurícula derecha y en aorta de rata Wistar macho normotensa.



CONCLUSIONES

- ✓ El presente proyecto me brindó la oportunidad de aplicar a un caso real los conocimientos adquiridos durante la carrera. Me queda la satisfacción de haber participado de una de las fases preclínicas en el desarrollo de un fármaco y la satisfacción es mayor cuando esta investigación está bajo el mando de 2 profesores de esta mi Facultad.
- ✓ Proyectos como este fomentan en el todavía alumno el gusto por la investigación, se le hace ver la importancia y lo trascendental que son los resultados obtenidos, además de que se valora el saber que este fármaco está destinado a la población de nuestro país.
- ✓ Se abren nuevas líneas de investigación, se tiene la visión de que todavía es mucho lo que falta por saber y se fomenta el desarrollo de nuevos fármacos y formas farmacéuticas.



9.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bowman, W; Band, J; et al. (1970). Farmacología. España: Jims.
2. Cabrera, Licon Aariana; Vargas, Martínez Patricia Adriana. (2008). Valoración del efecto cardioprotector del compuesto LQM-502 en el infarto al miocardio inducido mediante la administración de Isoproterenol. (Tesis de Licenciatura). México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.
3. Castillo, García Tamara Patricia. (2008). 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 de Licenciatura). México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.
4. Champe, P. (2004). Farmacología (2ª ed). México: McGraw-Hill Interamericana.
5. Cortés, Inclán Silvia Jemimah. (2007). Evaluación del efecto de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos sobre la contracción del músculo papilar izquierdo y la tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar. (Tesis de Licenciatura). México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.
6. Floréz, J. (2001). Farmacología Humana. España: MASSON.
7. Flores, J; Torres, C; etal. Determinación de la eficacia de los compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos sobre el ritmo cardiaco en la rata. (Tesis de Licenciatura). México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.



8. Goodman & Gilman. (1996). Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. (9ª ed). (Vol. 1). México: McGraw-Hill Interamericana.
9. Gutiérrez, Rojo Itzel Fabiana. (2007). Determinación del efecto de los compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320 y LQM322 y del compuesto Morfolínico LQM301 en aorta torácica y abdominal de rata Wistar normotensa. (Tesis de Licenciatura). México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.
10. Kalant, H; Walter, H; Roschlau, E. (2002). Principios de Farmacología Médica (6ª ed). México: Oxford University Press.
11. Katzung, B. (2005). Farmacología básica y clínica (9ª ed). México: Manual Moderno.
12. Litter, M. (1992). Compendio de Farmacología (4ª ed). Argentina: El Ateneo.
13. Matthew, L; Bruce, M; et al. (2006). Fisiología (4ª ed). España: Elsevier.
14. Mycek, M; Richar, A; et al. (2006). Farmacología (2ª ed). México: McGraw-Hill Interamericana. Mycek, M; Richar, A; et al; 2006.
15. Philip A; Jeremy D; Ward, J; et al. (2001). El sistema cardiovascular en esquemas. Spain: Ars Médica.
16. Sotero, Sánchez Iván. (2009). Validación de algunos métodos teóricos por difracción de rayos-X. (Tesis de Licenciatura). México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.



17. Tortora, J; Grabowsky, G; Reynolds, S. (2003). Principios de Anatomía y Fisiología (9ª ed). México: Oxford University Press.
18. Vargas, J. (2006). Tratado de Cardiología (Sociedad Mexicana de Cardiología). México: Intersistemas S.A de C.V.
19. Velázquez. (2005). Farmacología Básica y Clínica (17ª ed). México: Panamericana.
20. Islas, Martínez Jose Manuel. (2009). Determinación de la constante de acidez de compuestos piperidínicos de interés biológico. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias (química). México: Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.
Disponible en: <http://148.206.53.231/UAMI14257.pdf>
Consulta realizada el 17 de noviembre 2011.
21. Lugo, G. (2004, julio). Internet, México, sin un tratamiento adecuado para la hipertensión. UNAM comunidad.
22. Pharmacology home page (2007). Isoproterenol.
Disponible en: <http://www.templejc.edu/dept/ems/drugs/isoproterenol.html>
Consulta realizada el 28 de Octubre 2009.
23. Mecanismo molecular de la estimulación b-adrenérgica.
Disponible en:
<http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Medicina/fisiologia/nguias/sna.htm>
Consulta realizada el 15 de noviembre 2009.



24. Diagrama esquemático del corazón.

Disponible en:

<http://www.frecuenciacardiaca.com/images/corazon%20con%20detalles.jpg>

Consulta realizada el 15 de noviembre 2009.

25. Localización del nodo AS y nodo AV

Disponible en: <http://www.drscope.com/pac/cardiologia/c2/index.htm>

Consulta realizada el 10 de noviembre 2009

26. Esquematización de la fase de Sístole y Diástole

Disponible en: <http://www.fitness.com.mx/graficos/corazon/sistole0.gif>

Consulta realizada 11 de Septiembre 2011.

27. Representación gráfica del mecanismo de acción de una catecolamina

Disponible en:

http://www.med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/clas4to/7_SNA_neurotransm.pdf

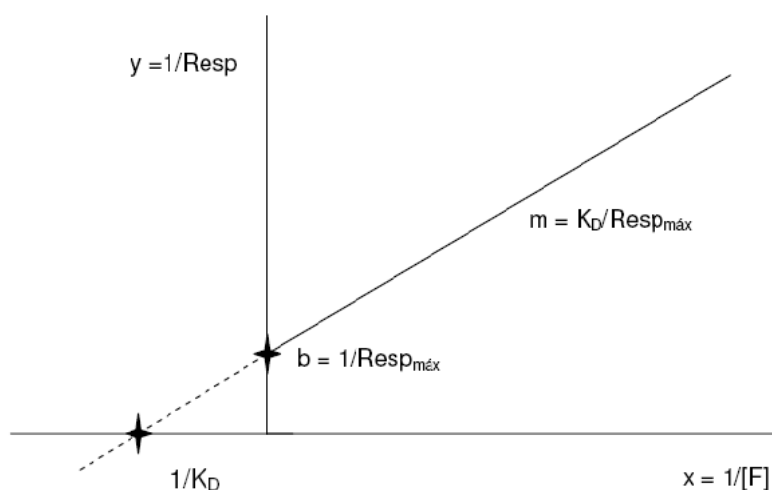
Consulta realizada 14 de Septiembre 2011.



ANEXO 1 DETERMINACIÓN DE K_D

En la gráfica doble recíproca se puede calcular la eficacia de un fármaco (resp_{max}) y su constante de disociación (K_D). El punto en que la recta intercepta al eje de las ordenadas y que en la forma general de la línea recta es b corresponde a $1/\text{Resp}_{\text{máx}}$ y la pendiente (m) es igual a $K_D/\text{Resp}_{\text{máx}}$.

La representación gráfica es:



La ecuación de Michaelis-Menten se transforma en una recta que corresponde a la ecuación lineal de la recta:

$$\frac{1}{\text{Resp}} = \frac{K}{\text{Resp}_{\text{máx}}} \times \frac{1}{[F]} + \frac{1}{\text{Resp}_{\text{máx}}}$$

↓ ↓ ↓ ↓

$$y = (m \quad x) + b$$

Entonces podemos obtener la $\text{Resp}_{\text{máx}}$ y la K_D mediante extrapolación en la gráfica y por regresión lineal. En el presente trabajo las constantes de afinidad (K_D) para cada compuesto se obtuvieron por regresión lineal.



ANEXO 2

TABLAS DE ANOVA

Los resultados obtenidos (disminución de la contracción de la aurícula derecha) en los compuestos Morfolínicos LQM-301, LQM-302, LQM-308, LQM-309, LQM-310, LQM-312, LQM-313, LQM-314, Tiomorfolínicos LQM-318, LQM-319, LQM-320, LQM-321, LQM-322, LQM-324 y Dipiperidinico LQM-335, se analizarán mediante un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor, este análisis estadístico nos indica si hay diferencia significativa entre los compuestos evaluados.

Planteamiento de la hipótesis:

- H_0 : las medias de las gráficas de doble recíproco son iguales a las medias de la curva concentración-respuesta.
- H_1 : al menos un par de ellas son diferentes.

Los cuales se corroboraron con los valores de F para una $n = 5$ y una $\alpha = 0.05$ de significancia para cada compuesto evaluado, considerando entonces que:

Si $F_{exp} < F_{tab}$ se acepta H_0 .

Si $F_{exp} > F_{tab}$ se rechaza H_0 .

**ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA)****Tabla 6****ANOVA DE UN FACTOR LQM 301**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.04	0.02	0.0008
1.00E-11	2	0.06	0.03	0.0018
1.00E-10	2	0.23	0.115	0.02645
1.00E-09	2	0.47	0.235	0.05445
1.00E-08	2	0.5	0.25	0.0512
1.00E-07	2	0.57	0.285	0.04205

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.172	6	0.02867	1.13403	0.43071	3.86597
Dentro de los grupos	0.17695	7	0.02528			
Total	0.34895	13				

Se acepta H_0 para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-301

Tabla 7**ANOVA DE UN FACTOR LQM 302**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.03	0.015	0.00005
1.00E-12	2	0.06	0.03	0.0002
1.00E-11	2	0.09	0.045	0.00045
1.00E-10	2	0.26	0.13	0.02
1.00E-09	2	0.54	0.27	0.0338
1.00E-08	2	0.97	0.485	0.01445
1.00E-07	2	0.98	0.49	0.0162

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.52334	6	0.08722	7.17048	0.01008	3.86597
Dentro de los grupos	0.08515	7	0.01216			
Total	0.60849	13				

Se rechaza H_0 para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-302



Tabla 8
ANOVA DE UN FACTOR LQM 308

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.1	0.05	0.0002
1.00E-11	2	0.14	0.07	0.0002
1.00E-10	2	0.56	0.28	0.005
1.00E-09	2	0.99	0.495	0.01805
1.00E-08	2	1	0.5	0.0162
1.00E-07	2	1.02	0.51	0.0128

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.63427	6	0.10571	14.05476	0.00136	3.86598
Dentro de los grupos	0.05265	7	0.00752			
Total	0.68692	13				

Se rechaza Ho para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-308

Tabla 9
ANOVA DE UN FACTOR LQM-309

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1,00E-13	2	0,026	0,013	9,8E-05
1,00E-12	2	0,049	0,0245	0,000481
1,00E-11	2	0,09	0,045	0,00045
1,00E-10	2	0,39	0,195	0,00245
1,00E-09	2	0,83	0,415	0,00045
1,00E-08	2	0,88	0,44	0,0018
1,00E-07	2	0,9	0,45	0,0008

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre los grupos	0,502772429	6	0,083795405	89,84726	2,8925E-06	3,865968853
Dentro de los grupos	0,0065285	7	0,000932643			
Total	0,509300929	13				

Se rechaza Ho para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-309.



Tabla 10
ANOVA DE UN FACTOR LQM 310

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.05	0.025	5E-05
1.00E-12	2	0.06	0.03	0.0002
1.00E-11	2	0.12	0.06	0
1.00E-10	2	0.32	0.16	0.0098
1.00E-09	2	0.72	0.36	0.0032
1.00E-08	2	0.77	0.385	0.00125
1.00E-07	2	0.79	0.395	0.00245

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.35709	6	0.05951	24.57817	0.00023	3.86598
Dentro de los grupos	0.01695	7	0.00242			
Total	0.37404	13				

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

Tabla 11
ANOVA DE UN FACTOR LQM 312

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.05	0.025	5E-05
1.00E-12	2	0.06	0.03	0.0002
1.00E-11	2	0.09	0.045	0.00045
1.00E-10	2	0.29	0.145	0.01445
1.00E-09	2	0.71	0.355	0.00405
1.00E-08	2	0.88	0.44	0.0018
1.00E-07	2	0.91	0.455	0.00125

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.46387	6	0.07731	24.32284	0.00023	3.86597
Dentro de los grupos	0.02225	7	0.00317			
Total	0.48612	13				

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



Tabla 12
ANOVA DE UN FACTOR LQM 313

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.03	0.015	0.00005
1.00E-12	2	0.05	0.025	0.00045
1.00E-11	2	0.07	0.035	0.00125
1.00E-10	2	0.25	0.125	0.02205
1.00E-09	2	0.61	0.305	0.01805
1.00E-08	2	0.64	0.32	0.0162
1.00E-07	2	0.66	0.33	0.02

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.2629	6	0.04381	3.92974	0.04810	3.86596
Dentro de los grupos	0.07805	7	0.01115			
Total	0.34095	13				

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

Tabla 13
ANOVA DE UN FACTOR LQM 314

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.03	0.015	0.00005
1.00E-12	2	0.05	0.025	0.00045
1.00E-11	2	0.09	0.045	0.00045
1.00E-10	2	0.29	0.145	0.01445
1.00E-09	2	0.78	0.39	0.0002
1.00E-08	2	0.81	0.405	5E-05
1.00E-07	2	0.83	0.415	0.00045

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.43204	6	0.07200	31.30745	0.00010	3.86596
Dentro de los grupos	0.0161	7	0.0023			
Total	0.44814	13				

Se rechaza Ho para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-314



Tabla 14
ANOVA DE UN FACTOR LQM 318

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.04	0.02	0.0008
1.00E-11	2	0.06	0.03	0.0018
1.00E-10	2	0.238	0.119	0.024642
1.00E-09	2	0.62	0.31	0.0162
1.00E-08	2	0.72	0.36	0.005
1.00E-07	2	0.74	0.37	0.0072

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.33176	6	0.05529	6.93125	0.01108	3.86596
Dentro de los grupos	0.05584	7	0.00797			
Total	0.38760	13				

Se rechaza H_0 para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-318.

Tabla 15
ANOVA DE UN FACTOR LQM 319

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.04	0.02	0.0008
1.00E-11	2	0.07	0.035	0.00125
1.00E-10	2	0.25	0.125	0.02205
1.00E-09	2	0.6	0.3	0.02
1.00E-08	2	0.65	0.325	0.01445
1.00E-07	2	0.67	0.335	0.01805

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.27254	6	0.04542	4.14019	0.04246	3.86596
Dentro de los grupos	0.0768	7	0.01097			
Total	0.34934	13				

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



Tabla 16
ANOVA DE UN FACTOR LQM 320

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.06	0.03	0.0002
1.00E-11	2	0.09	0.045	0.00045
1.00E-10	2	0.27	0.135	0.01805
1.00E-09	2	0.51	0.255	0.04205
1.00E-08	2	0.81	0.405	5E-05
1.00E-07	2	0.87	0.435	5E-05

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.38498	6	0.06416	7.35708	0.00938	3.86596
Dentro de los grupos	0.06105	7	0.00872			
Total	0.44603	13				

Se rechaza Ho para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-320

Tabla 17
ANOVA DE UN FACTOR LQM-321

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1,00E-13	2	0,04	0,02	0
1,00E-12	2	0,066	0,033	0,000098
1,00E-11	2	0,092	0,046	0,000392
1,00E-10	2	0,49	0,245	0,00045
1,00E-09	2	1,05	0,525	0,03125
1,00E-08	2	1,07	0,535	0,03125
1,00E-07	2	1,09	0,545	0,02645

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre los grupos	0,759695429	6	0,126615905	9,859955	0,00401699	3,865968853
Dentro de los grupos	0,08989	7	0,012841429			
Total	0,849585429	13				

Se rechaza Ho para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-321.



Tabla 18
ANOVA DE UN FACTOR LQM 322

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.04	0.02	0.0008
1.00E-11	2	0.09	0.045	0.00045
1.00E-10	2	0.26	0.13	0.02
1.00E-09	2	0.53	0.265	0.03645
1.00E-08	2	0.67	0.335	0.01125
1.00E-07	2	0.69	0.345	0.01445

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.26394	6	0.04399	3.68341	0.05597	3.86596
Dentro de los grupos	0.0836	7	0.01194			
Total	0.34754	13				

Se acepta H_0 para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-322

Tabla 19
ANOVA DE UN FACTOR LQM 324

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.04	0.02	0.0008
1.00E-11	2	0.07	0.035	0.00125
1.00E-10	2	0.43	0.215	0.00045
1.00E-09	2	1.23	0.615	0.09245
1.00E-08	2	1.19	0.595	0.06845
1.00E-07	2	1.21	0.605	0.06125

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.03844	6	0.17307	5.38811	0.02188	3.86596
Dentro de los grupos	0.22485	7	0.03212			
Total	1.26329	13				

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



Tabla 20
ANOVA DE UN FACTOR LQM 335

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
1.00E-13	2	0.02	0.01	0.0002
1.00E-12	2	0.04	0.02	0.0008
1.00E-11	2	0.06	0.03	0.0018
1.00E-10	2	0.23	0.115	0.02645
1.00E-09	2	0.5	0.25	0.045
1.00E-08	2	0.69	0.345	0.00845
1.00E-07	2	0.71	0.355	0.01125

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.28274	6	0.04712	3.51108	0.06247	3.86596
Dentro de los grupos	0.09395	7	0.01342			
Total	0.37669	13				

Se acepta H_0 para la contracción de la aurícula derecha con el compuesto LQM-335