



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

“EFECTO SOBRE MÚSCULO LISO VASCULAR DE  
NUEVAS 1,4-DIHIDROPIRIDINAS CON SUSTITUYENTES  
ISONITRILO Y CARBOXIETILO EN C-3 Y C-5”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTA:

p.Q.F.B. VIANEY ADRIANA JUÁREZ HERNÁNDEZ

ASESOR DE TESIS:

D.C. ZURISADDAI HERNÁNDEZ GALLEGOS

MORELIA, MICHOACÁN, ENERO 2012



Esta tesis fue realizada bajo la asesoría del D.C. Zurisaddai Hernández Gallegos, en el laboratorio de Farmacología del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

## AGRADECIMIENTOS

*A mi asesor el D.C Zurisaddai Hernández Gallegos, por darme la oportunidad de realizar mi servicio y guiarme al realizar esta tesis, sin su ayuda no lo hubiera logrado. Por su paciencia hacia a mí, por toda la sabiduría que me brindo, por todos sus consejos y apoyo, ¡gracias!*

*Al D.C. Daniel Godínez Hernández y al D.C. Ignacio Valencia Hernández por siempre recibirme con una sonrisa dentro y fuera del laboratorio, gracias por todos sus comentarios, sugerencias y por su sincera amistad.*

*A la M. en F.B. Blanca Nateras Marín por ser siempre tan amable y linda conmigo, por todos sus sabios consejos, pero muy especialmente por brindarme su amistad, con mucho cariño a mi amiga no secreta, gracias por todo su apoyo.*

*Al Q.F.B Armando Ordaz Rodríguez por su contribución para mejorar este trabajo y por brindarme su amistad, gracias por la confianza que me brindo.*

*Especialmente al Laboratorio de Farmacología que me ayudaron a la realización de esta tesis brindándome parte de su tiempo con sus conocimientos, gracias Karen Prado, Areli Gutiérrez, Eliseo Estrada, Xóchitl Ruiz, al vecino César, Sandra López, Said y Daniel.*

## DEDICATORIA

*Este trabajo está dedicado principalmente a mi familia, especialmente a mis padres que gracias a ellos y su apoyo he podido lograr ser lo que soy hoy en día, por darme la vida y siempre estar conmigo en las buenas y en las malas, ¡los AMO!. A ti mamá que con tu cariño y fuerza me has demostrado que nada en esta vida es imposible, gracias por ser la maravillosa mujer que eres. A ti papá que siempre me brindaste confianza, amor y porque nunca dejaste que me rindiera, gracias por ayudarme a cumplir mis sueños, eres el mejor papá del mundo. A mi hermana que me enseñó a ser paciente y fuerte sin importar la circunstancia, gracias por todo tu apoyo y consejos, ¡te quiero mucho!*

*Para ustedes que son el pilar de mi vida.*

*A todos mis amigos porque ustedes forman parte de mi segunda familia, gracias por compartir conmigo un pedacito de su vida, saben que siempre estaré ahí para ustedes, gracias: Sara Lugo, Yoko García, Roberto Juvera, Pablo Escalante, Selene Trujillo, Perla Viveros, Elena García, Paola Jiménez, Karla Rojas, Sandy Rodríguez, Eduardo Patiño, Areli Juárez, Melody Juárez, Andrés Vera y Nicolás de la Torre, gracias por los momentos de lágrimas y risas, ¡los quiero mucho!.*

## Índice

Lista de abreviaturas .....	ii
Lista de tablas y figuras .....	iv
I. Resumen .....	v
II. Introducción	
1. Enfermedades cardiovasculares .....	1
1.1. Hipertensión arterial .....	1
1.2. Tratamiento de la hipertensión arterial .....	3
2. El calcio .....	6
2.1. Fuentes de calcio utilizados en la contracción muscular .....	7
2.2. Canales de calcio dependientes de voltaje .....	8
2.3. Bloqueadores de los canales de calcio .....	8
2.3.1. Historia .....	8
2.3.2. Clasificación .....	9
2.3.3. Mecanismo de acción .....	11
2.3.4. Absorción, biotransformación y excreción .....	14
2.3.5. Toxicidad y respuestas adversas .....	16
2.3.6. Relaciones estructura-actividad .....	16
2.3.7. Efecto de la quiralidad en la actividad biológica .....	17
III. Justificación .....	20
IV. Hipótesis .....	21
V. Objetivo .....	22
VI. Materiales y métodos .....	23
VII. Resultados .....	25
VIII. Discusión .....	33
IX. Conclusión .....	37
X. Referencias .....	38

## Abreviaturas

ATP	*****	Trifosfato de adenosina
ATPasa	****	Adenosin trifosfatasa
BCC	*****	Bloqueadores de canales de calcio.
Ca	*****	Calcio
CCDV	*****	Canales de calcio dependientes de voltaje
CE <sub>50</sub>	*****	Concentración efectiva 50
DHP	*****	Dihidropiridina
ECV	*****	Enfermedades cardiovasculares
<i>et al.</i>	*****	y colaboradores
FC	*****	Frecuencia cardiaca
g	*****	gramo
GC	*****	Gasto cardiaco
HA	*****	Hipertensión arterial
K	*****	Potasio
M	*****	Molar
mL	*****	mililitro
mM	*****	milimolar
mmHg	*****	milímetros de mercurio
mV	*****	milivoltios
Na	*****	Sodio
NT	*****	Nitrendipina
PA	*****	Presión arterial

PAD	*****	Presión arterial diastólica
PAS	*****	Presión arterial sistólica
$pCE_{50}$	*****	Logaritmo negativo de la concentración molar requerida para lograr un 50% del efecto máximo.
$pCE_{25}$	*****	Logaritmo negativo de la concentración molar requerida para lograr un 25% del efecto máximo.
RS	*****	Retículo sarcoplásmico
RVP	*****	Resistencia vascular periférica
VE	*****	Volumen de eyección

## Lista de figuras y tablas

### Figuras

1.- Tratamiento de la hipertensión en pacientes con enfermedades adjuntas	6
2.- Contracción y relajación del músculo cardiaco	12
3.- Mecanismo simplificado a cuatro pasos de la reacción de la ATPasa de la actiomiosina	13
4.- Estructura química de algunas DHPs quirales	19
5.- Registro del efecto relajante de la DHP <b>4</b> en anillo de aorta de rata pre-contraído	27
6.- Curva concentración-respuesta del efecto relajante de la DHP <b>4</b> en anillos de aorta pre-contraído	30
7.- Gráfica del efecto relajante producido por las DHPs <b>1, 2, 3, 4, 5</b> y la NT, probadas en anillos de aorta pre-contraídos	31

### Tablas

1.- Criterios para la clasificación de la hipertensión en adultos	2
2.- Clasificación de medicamentos usados para el tratamiento de la hipertensión	5
3.- Clasificación de los bloqueadores de los canales lentos de calcio, de acuerdo con su estructura química	10
4.- Dihidropiridinas como agentes antihipertensivos	14
5.- Farmacocinética de los compuestos dihidropiridínicos	15
6.- Estructura de las dihidropiridinas probadas	24
7.- Datos obtenidos en la determinación del efecto relajante de las DHPs	28
8.- Potencia relajante de las DHPs probadas y de la NT en músculo liso vascular	32
9.- Potencia relajante de las DHPs con mismo sustituyente en el anillo aromático pero diferente sustituyente en el anillo dihidropiridínico	35



## Resumen

Las 1,4-dihidropiridinas (DHPs) pertenecen al grupo de fármacos conocidos como antagonistas del calcio, que tienen amplia aplicación en enfermedades como la hipertensión y otros padecimientos cardiovasculares. Las DHPs son compuestos que actúan bloqueando los canales de calcio del tipo L dependientes de voltaje.

Estudios de relación estructura actividad de las DHPs han demostrado la importancia de la sustitución en el anillo fenilo, así como los sustituyentes en las posiciones C-3 y C-5 del anillo dihidropiridina para la actividad biológica de este tipo de compuestos. En este trabajo se evaluó el efecto sobre músculo liso vascular (modelo de anillo de aorta de rata) de una serie de nuevas DHPs que presentan sustituyentes ciano y carboxietilo en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridínico y con diferentes sustituyentes en el anillo fenilo.

Los resultados obtenidos indican que las DHPs probadas presentaron una potencia relajante media, siendo menos potentes que las DHPs que presentan grupos éster en las posiciones C-3 y C-5 en el anillo dihidropiridínico, pero más potentes que aquellas que presentan grupos cianos en estas posiciones. También se observó que, de las DHPs incluidas en la serie de estudio, la DHP **4** con sustituyentes cloros en las posiciones *orto* y *meta* en el anillo aromático presentó la mayor potencia, mientras que la DHP **3** con sustituyente cloros en las posiciones *orto* y *para* presentó la menor potencia. Los resultados de este trabajo subrayan la importancia de la sustitución en las posiciones C-3 y C-5 del anillo dihidropiridina para que las DHPs presenten buena potencia relajante.

## **Introducción**

### **1. Enfermedades cardiovasculares.**

Las estadísticas más recientes muestran que en México las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen la primera causa de muerte; al año ocurren 92,679 mil decesos por padecimientos de este tipo, lo que representa el 17.2 % del total de decesos (SINAIS 2008). Entre los principales factores relacionados con las ECV se encuentran: los hábitos alimenticios, el sedentarismo, la falta de ejercicio físico, la adicción al tabaco, la exposición a contaminantes ambientales y el estrés.

Las ECV se refieren a los padecimientos del corazón y aquellos del sistema de vasos sanguíneos (arterias, capilares, venas) de todo el organismo, tales como los del cerebro, las piernas y los pulmones. Los problemas del corazón y los vasos sanguíneos no suceden rápidamente, se producen con el tiempo, cuando las arterias que llevan la sangre al corazón y al cerebro se obstruyen debido a la acumulación de células, grasa y colesterol.

Las ECV incluyen un grupo de afecciones del aparato circulatorio, entre las que se destacan la enfermedad isquémica del corazón, la enfermedad cerebro vascular y la hipertensión. Las ECV tienen factores de riesgo comunes que pueden ser identificados tempranamente y sobre los cuales se puede intervenir favorablemente para facilitar la prevención y control de este tipo de enfermedades.

#### **1.1. Hipertensión Arterial.**

Los diversos estudios realizados en nuestro país muestran de manera consistente un incremento en la prevalencia de la hipertensión arterial (HA). La HA es un padecimiento crónico de etiología variada y que se caracteriza por el aumento sostenido de la presión arterial, ya sea sistólica, diastólica o de ambas.

Así pues la HA se define como una presión arterial sistólica de 140 mmHg o superior y/o una presión arterial diastólica de 90 mmHg o superior.

La HA se clasifica para efectos de diagnóstico y tratamiento de acuerdo a los criterios clínicos presentados en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Criterios para la clasificación de la hipertensión en adultos.

CLASIFICACIÓN	PRESIÓN ARTERIAL (mmHg)	
	SISTÓLICA	DIASTÓLICA
Normal	< 120	< 80
Pre-hipertensión	120 – 139	80 – 89
Hipertensión etapa 1	140 – 159	90 – 99
Hipertensión etapa 2	≥ 160	≤ 100

Hoffman B.B, 2007

La presión arterial (PA) se define como la fuerza ejercida por la sangre contra la pared de las arterias. La PA puede ser expresada en términos de presión arterial diastólica (PAD) y/o presión arterial sistólica (PAS). La primera se refiere a la tensión que existe dentro de las arterias durante el periodo de reposo del corazón, conocida como la tensión arterial baja con valor de 80 mmHg, mientras que la PAS o alta, que suele ser de 120 mmHg, ocurre por el aumento de la tensión arterial que ejerce la sangre del corazón empujada por la sístole ventricular sobre la pared de los vasos.

La PA depende de dos factores: el gasto cardíaco (GC) y la resistencia vascular periférica (RVP), que se relacionan mediante la siguiente fórmula:

$$PA = (GC)(RVP)$$

El gasto cardíaco (o volumen minuto), es el volumen de sangre que bombea el corazón cada minuto hacia la arteria aorta. El GC se expresa como el

producto del volumen de eyección (VE) por la frecuencia cardiaca (FC), de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$GC = (VE)(FC)$$

Por ello, un aumento en el gasto cardíaco implica un aumento en la cantidad de sangre bombeada, dando como resultado un incremento de la presión sanguínea (González-Torrijos 2006).

La RVP es la fuerza que se opone al flujo de sangre y está determinada en parte por el tamaño de las arteriolas y de los capilares. Cuanto menor sea la luz o el calibre de un vaso sanguíneo, mayor será la resistencia vascular periférica al flujo sanguíneo y la presión arterial que se necesita aplicar para vencer esa resistencia. Mientras que, conforme el calibre del vaso sanguíneo aumenta, disminuye la resistencia vascular periférica y por tanto también disminuye la presión arterial.

Otro factor que determina la RVS es el tono de la musculatura vascular. Este tono está modulado por la presencia y concentración de sustancias vasorelajantes como la prostaciclina, el factor hiperpolarizante derivado del endotelio y el óxido nítrico, así como la presencia de sustancias vasoconstrictoras como la angiotensina II y la endotelina. Todas estas sustancias vasoactivas provocan finalmente un aumento o disminución de las concentraciones de calcio dentro de la célula.

## **1.2. Tratamiento de la Hipertensión Arterial.**

Una terapéutica antihipertensiva eficaz disminuye notablemente el riesgo de apoplejías, insuficiencia cardiaca e insuficiencia renal debidas a la hipertensión. Un componente importante de la terapéutica de todos los pacientes con hipertensión es el tratamiento no farmacológico como son los cambios en el estilo de vida, incluidos los cambios dietéticos y el ejercicio. Estos cambios son, con mucho, lo más importante en el control de la PA, pero a menudo hace falta una combinación con otras terapias, incluidos los

medicamentos (Gutiérrez, 2001; Richard, 2004). En este caso, el tratamiento de la HA se realiza con diversos tipos de medicamentos que suelen emplearse en etapas, hasta encontrar el plan terapéutico personal que funciona en cada paciente hipertenso.

La PA, como se describió anteriormente, es el producto del gasto cardiaco y la resistencia vascular periférica. Los medicamentos regulan la presión arterial por disminuir la resistencia vascular periférica, el gasto cardíaco, o ambos. La reducción del gasto cardiaco puede ser lograda por una disminución en la fuerza de la contractilidad miocárdica o la disminución de la presión de llenado ventricular. En tanto que la disminución en la resistencia periférica se debe al efecto directo sobre el músculo liso vascular a fin de relajar los vasos de resistencia o al interferir con la actividad de los sistemas que causan contracción de estos vasos. La decisión de iniciar el tratamiento farmacológico depende de los niveles de presión arterial y del riesgo cardiovascular global del paciente.

Existen cinco clases principales de fármacos para el tratamiento de la HA, mismos que desde hace más de una década se clasifican en fármacos antihipertensivos clásicos y fármacos antihipertensivos recientes o modernos (ver tabla 2).

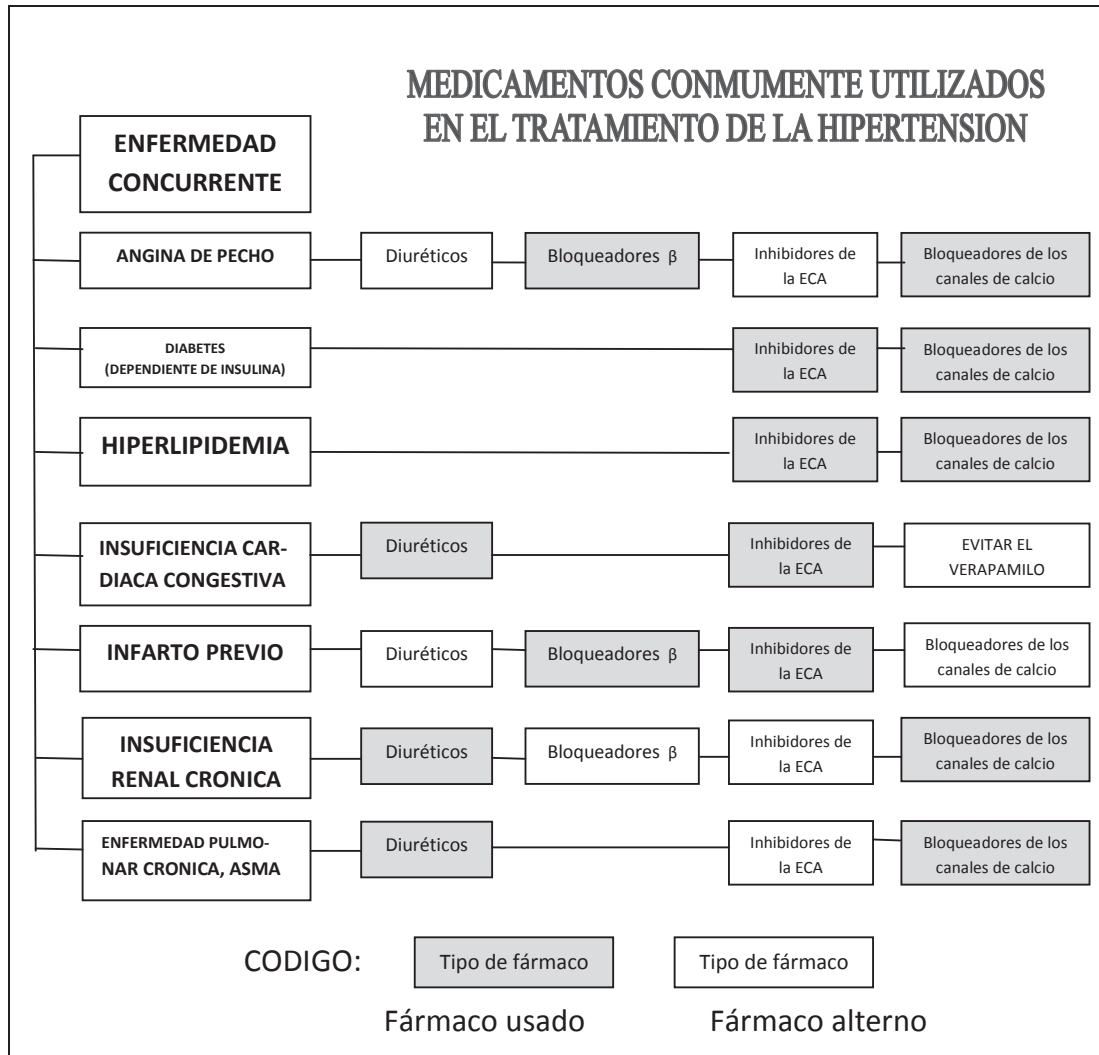
Por lo general, la hipertensión leve se controla con un solo medicamento, mientras que la hipertensión más grave requiere tratamiento con varios fármacos, que deben seleccionarse con base a la producción menor de efectos adversos. En la figura 1 se presentan algunos ejemplos del tratamiento de elección en pacientes hipertensos con diversas anomalías concomitantes. Como se mencionó anteriormente, es importante adecuar el tratamiento antihipertensivo a cada paciente.

**Tabla 2.** Clasificación de medicamentos usados para el tratamiento de la hipertensión.

I. Fármacos antihipertensivos clásicos.
1.- Diuréticos: a.- Tiazidicos y fármacos relacionados (hidroclorotiazida, clortalidona, etc.) b.- Diuréticos de asa (furosemida, bumetanida, torasemida, ácido etacrínico) c.- Diuréticos ahorradores de K (amilorida, triamtereno, espironolactona)
2.- Simpaticolíticos: a.- Antagonistas adrenérgicos $\beta$ (metoprolol, atenolol, etc.) b.- Antagonistas adrenérgicos $\alpha$ (prazosina, terazosina, doxazosina, fenoxibenzamina, fentolamina) c.- Antagonistas adrenérgicos mixtos (labetalol, carvedilol) d.- Fármacos de acción central (metildopa, clonidina, guanabenz, guanfacina) e.- Bloqueadores de neuronas adrenérgicas (guanadrel, reserpina)
II. Fármacos antihipertensivos modernos.
3.- Bloqueadores de los canales de calcio: Verapamilo, diltiazem, nimodipina, felodipina, nicardipina, isradipina, amlodipina
4.- Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina: Captopril, enalapril, lisinopril, quinapril, benazeprilo, fosinopril, moexipril, perindopril,trandolapril
5.- Antagonistas del receptor tipo II de angiotensina: Losartan, candesartan, irbesartan, valsartan, telmisartan, eprosartan.

Hoffman B.B, 2007

**Figura 1.** Tratamiento de la hipertensión en pacientes con enfermedades adjuntas.



Modificado de Richard A. Harvey *et al.*, 2004

## 2. El calcio.

El calcio (Ca), además de su función en la construcción y mantenimiento de los huesos y dientes, también está involucrado en otros procesos celulares fundamentales como son: contractilidad, actividad secretora y actividad neuronal, actuando en forma libre o bien unido a macromoléculas como la calmodulina. El Ca afecta la función del transporte a través de las membranas celulares, actuando como un estabilizador de la membrana, por lo que influye en la transmisión de iones a través de ellas y en la liberación de

neurotransmisores. Adicionalmente, el Ca actúa como mediador intracelular cumpliendo una función de segundo mensajero; por ejemplo, interviniendo en la contracción de los músculos.

El primero en observar la importancia del papel del Ca en la regulación de la actividad celular fue S. Ringer en 1883. Aunque no se describió su funcionamiento intracelular sino hasta 60 años después por Heilbrunn en Estados Unidos y por Kamada en Japón (Heilbrunn y Werctnskt, 1947; Kamada y Rinosita, 1943). Desde finales de los años 60 se sabe que el Ca tiene una participación fundamental en el proceso de excitación-contracción. Por ello este proceso puede ser modificado por agentes farmacológicos que afectan la concentración de Ca intracelular, como son los denominados antagonistas de calcio (Fleckenstein, 1983). Posteriormente estos fármacos fueron denominados “Bloqueantes de la entrada de calcio” o “Bloqueantes de los canales lentos de calcio”, debido a que su efecto sobre los niveles de calcio intracelular se logra mediante el bloqueo de los canales de calcio tipo L, uno de los tipos de canales a través de los cuales entra el calcio a la célula (Godfraind, 1981; Nayler y Poolewilson, 1981; Bou *et al.*, 1983).

## **2.1. Fuentes de calcio utilizado en la contracción muscular.**

El origen del Ca utilizado durante la contracción muscular es variable, se encuentra en función del tipo de músculo (músculo cardiaco, músculo liso, músculo esquelético) y del estímulo que provoque la contracción (Van Breemen *et al.*, 1980).

El músculo esquelético posee un retículo sarcoplásmico (RS) muy extenso y desarrollado de donde procede prácticamente el 100% del Ca necesario para la contracción. La musculatura lisa tiene un RS menos desarrollado que la esquelética, de ahí que una parte considerable de los iones Ca necesarios para la contracción en el músculo liso proceden del líquido extracelular (Guyton, 2006). Por ello, las sustancias agonistas que causan contracción en el músculo



liso vascular lo hacen aumentando la concentración intracelular de calcio ya sea por liberación de calcio de los sitios de depósito intracelular, por incrementar la entrada del calcio externo, o por ambos mecanismos.

## **2.2. Canales de calcio dependientes de voltaje.**

Los canales de calcio dependientes de voltaje (CCDV) son importantes en la contracción inducida por la despolarización de las células de músculo liso vascular. Con el paso del tiempo, se han identificado y nombrado diferentes tipos de canales el calcio como son: L, T, N, P, Q y R. Su diferenciación se basa en la sensibilidad a la variación del potencial de membrana y el tiempo requerido para alcanzar la inactivación.

Los CCDV permiten el flujo selectivo de iones Ca a través del poro del canal, lo que inicia una variedad de procesos intracelulares entre los que se incluyen la contracción muscular, la expresión génica, la modulación de la excitabilidad de la membrana, etc. De esta forma, los canales de Ca constituyen el enlace fundamental entre las señales eléctricas de la superficie de la membrana y las respuestas bioquímicas intracelulares.

Los canales de tipo L son los mejor caracterizados, mas importantes y se encuentran ampliamente distribuidos en todas las células excitables y en la mayoría de las células no excitables. La farmacología de los canales tipo L es de gran importancia debido al éxito alcanzado en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (hipertensión arterial), neurológicas, gastrointestinales, etc. con fármacos bloqueantes de estos canales (Izagirre y Zavaleta, 1998)..

## **2.3. Bloqueadores de los canales de calcio.**

### **2.3.1. Historia.**

Los bloqueadores de los canales de calcio (BCC), constituyen un grupo de fármacos con estructura química heterogénea usados ampliamente en la terapéutica de la hipertensión. Los BCC son eficaces debido a la ausencia de

alteraciones metabólicas y a sus efectos positivos sobre las hipertrofias cardíaca y vascular que, como es bien sabido, pueden complicar la evolución de la hipertensión. La mayoría de los BCC son recomendados cuando los fármacos de primera elección para tratar la hipertensión se encuentran contraindicados.

En 1962, Hass y Hartfelder informaron que el verapamilo, un vasodilatador coronario putativo, poseía efectos inotrópicos y cronotrópicos negativos que no se observaron al utilizar otros vasodilatadores, como la nitroglicerina. En 1967, Fleckenstein encontró que dicho efecto inotrópico negativo dependía de la inhibición del proceso de acoplamiento excitación-contracción, como consecuencia de la reducción de la entrada del Ca desde el exterior hacia el interior del miocito cardiaco, a través de los canales de calcio dependientes de voltaje (Moss, 1997).

La presencia del Ca es imprescindible para la contractilidad muscular y de acuerdo con la diferente reserva de este ion en el RS de las miofibrillas, su ausencia se hace notar con mayor intensidad en el músculo liso que en el miocardio y el músculo estriado. Por esta razón, la acción de los BCC es mayor sobre el músculo liso, siendo esta “afinidad” vascular una de las características farmacoclinicas más interesantes que distinguen los diferentes BCC entre sí. Un BCC ideal debería poseer una alta selectividad vascular, un inicio de acción lento, y un efecto prolongado.

### **2.3.2. Clasificación.**

Los BCC constituyen un grupo heterogéneo de compuestos y en la actualidad se disponen de un buen número de ellos, que han sido clasificados atendiendo a su estructura química en 3 grupos (ver tabla 3).

1.- Fenilalquilaminas: el verapamilo es el único miembro de esta clase aprobado en la actualidad en Estados Unidos. Es activo por vía oral e intravenosa y se utiliza para el tratamiento de la angina de pecho, la hipertensión y las taquiarritmias supraventriculares. El verapamilo reduce la

post-carga y, por tanto, puede ser útil en el tratamiento de la hipertrofia del ventrículo izquierdo así como en la cardiomiopatía hipertrófica. También se ha comprobado que reduce el porcentaje de re-infartos aunque no reduce la mortalidad de los pacientes con disfunción ventricular izquierda.

2.- Benzotiazepinas: el diltiazem es el miembro de esta clase aprobado en la actualidad. Al igual que el verapamilo, el diltiazem afecta las células cardiacas y las musculares lisas de los vasos. El diltiazem tiene un efecto inotrópico negativo menos pronunciado a nivel cardiaco en comparación con el verapamilo, así como menos efectos adversos que éste.

3.- Dihidropiridinas: este grupo de bloqueadores del canal de calcio incluye a la nifedipina, así como otras dihidropiridinas mas nuevas (llamadas de segunda y tercera generación) como son: amlodipina, felodipina, isradipina, nicardipina y nisoldipina. Todas las dihidropiridinas tienen mayor afinidad por los canales de calcio vascular y menor por los canales del calcio a nivel cardiaco. En consecuencia, son muy atractivas para el tratamiento de la hipertensión. Algunos de los fármacos más nuevos como la amlodipina y nicardipina, que tienen la ventaja de tener pocas interacciones con otros medicamentos cardiovasculares, como la digoxina o la warfarina, que suelen utilizarse junto con estos fármacos.

**Tabla 3.** Clasificación de los bloqueadores de los canales lentos de calcio, de acuerdo con su estructura química.

Derivado	Fármacos
Fenilalquilaminas	Amipamil, devapamil, fendilina, galopamil, prenylamina, ronipamil, tiapamil, verapamilo.
Benzotiazepinas	Clentiazem, diltiazem
Dihidropiridinas	Amlodipina, felodipina, isradipina, lacidipina, nifedipina, nigludipina, niludipina, nitrendipina, nimodipina, nisoldipina, riodipina.

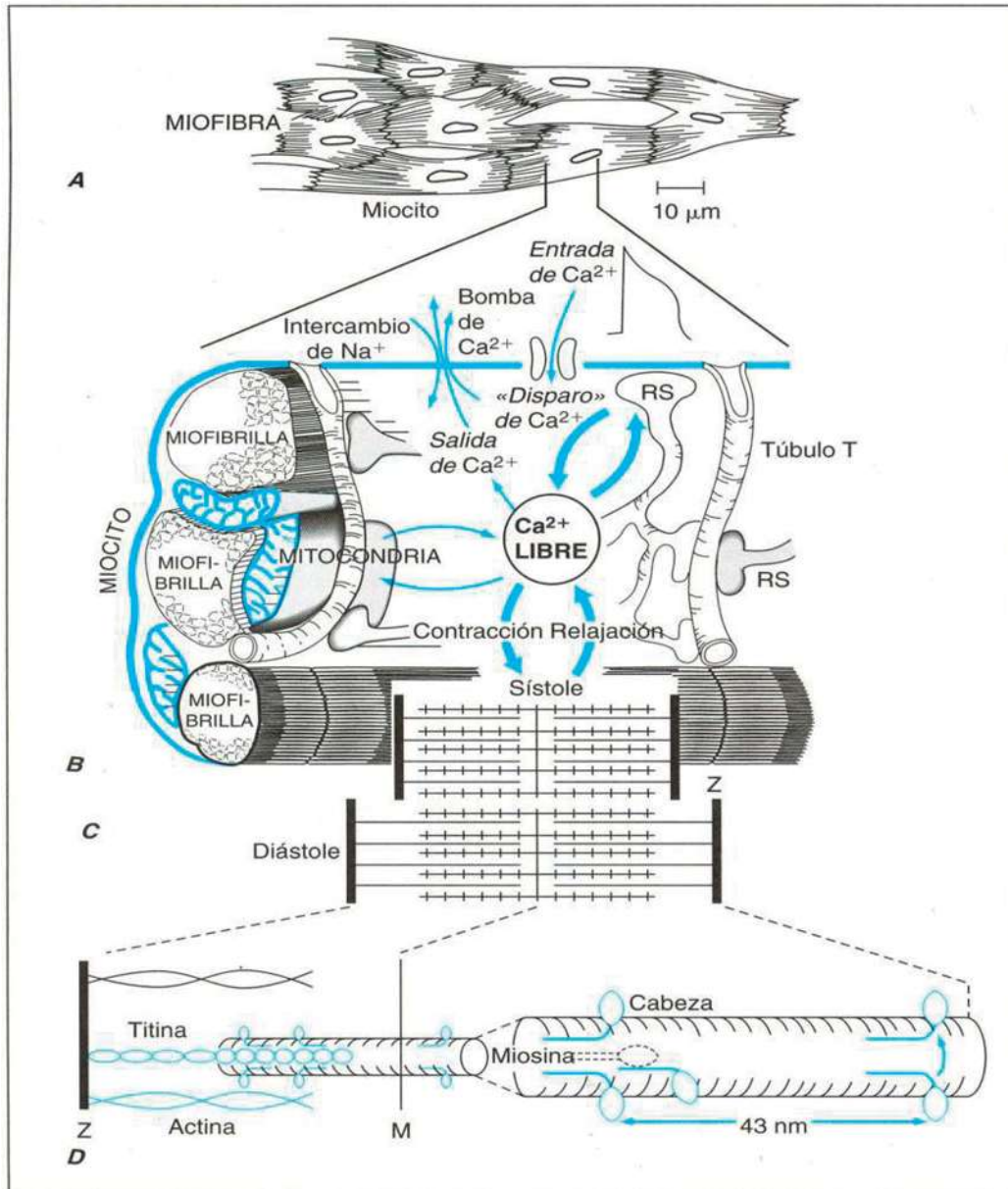
Israizli Z, 2001

Los tres subgrupos de los BCC modifican la entrada de Ca en la célula interaccionando con la subunidad  $\alpha_1$  de los canales de calcio tipo L dependientes de voltaje; como también existen otros canales de calcio (por ejemplo los tipos T y N en el sistema nervioso), los efectos de estos fármacos solo modifican parcialmente el transporte total de calcio al interior de la célula. La selectividad relativa de cada uno de los tres subgrupos de los BCC se explica porque cada subgrupo se une a un lugar específico en la subunidad  $\alpha_1$ , y esta subunidad varía entre los diferentes tejidos. Por ello, a pesar de que estos subgrupos de fármacos tienen en común su mecanismo de acción, sin embargo, tienen diferentes acciones farmacodinámicas en el humano. Así, a dosis terapéuticas, los derivados de las DHPs, en general, actúan fundamentalmente sobre la musculatura lisa de los vasos sanguíneos, tanto coronarios como periféricos, mientras que los representantes de los derivados de fenilalquilaminas y benzotiazepinas, lo hacen, además, sobre la musculatura y el sistema de conducción miocárdica.

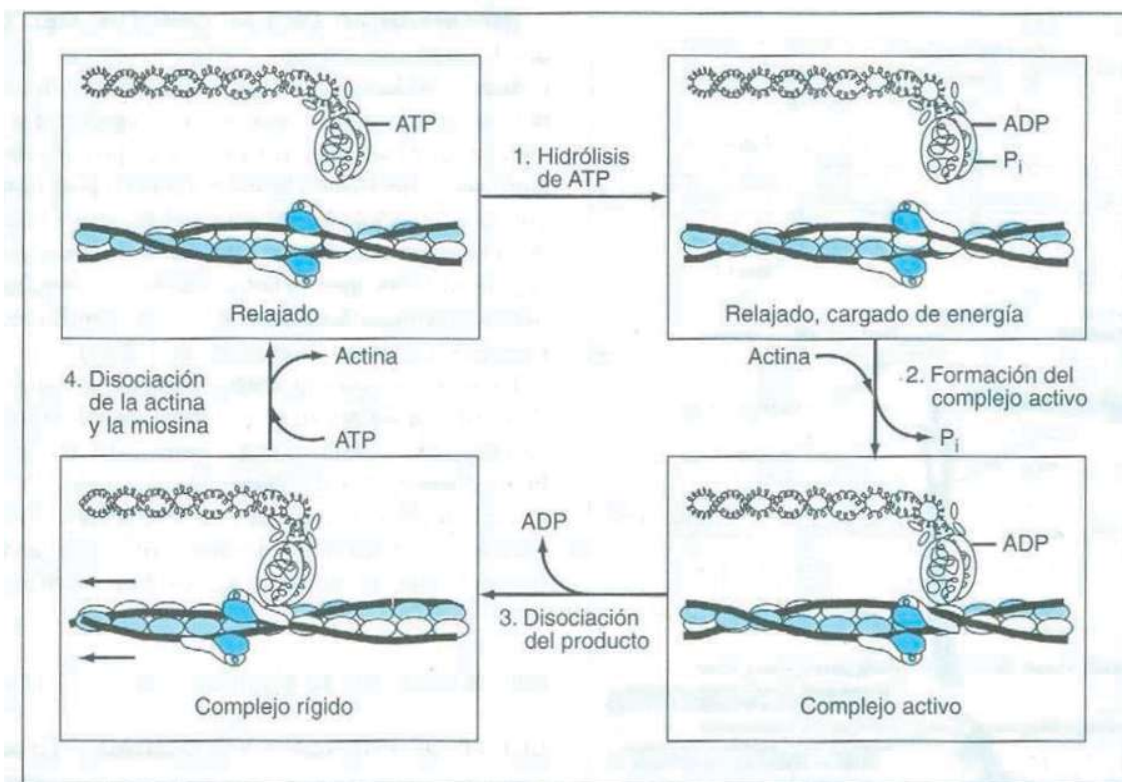
### **2.3.3. Mecanismo de acción.**

Los canales de Ca del subtipo L están conformados por las subunidades  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ . La subunidad  $\alpha_1$  contiene el poro iónico y los sitios de unión para los bloqueadores de los canales de calcio. Las demás subunidades ejercen funciones moduladoras sobre las cinéticas de apertura y cierre del poro iónico. Los efectos hemodinámicos de los BCC se deben al bloqueo de los canales de Ca de tipo L de corazón y vasos. En el caso del corazón (Figura 2), durante la fase 2 de cada potencial de acción cardíaco (sístole), se abren los canales de calcio del tipo L, lo que ocasiona la entrada de Ca extracelular al interior del miocito cardíaco, con la consiguiente movilización de Ca del retículo sarcoplásmico, el incremento de la concentración citosólica de Ca y la contracción muscular (figura 3). Durante la diástole, el Ca se secuestra de nuevo en el retículo

sarcoplásmico y se expulsa hacia el espacio extracelular mediante la bomba de Ca y el intercambiador sodio/calcio del sarcolema (Harrison, 2002).



**Figura 2.** Contracción y relajación del músculo cardíaco. **A.** Imagen microscópica del miocardio. **B.** esquema de la entrada de los iones Ca a través del canal el calcio, que se abre en respuesta a la onda de despolarización que atraviesa el sarcolema. Estos iones de Ca disparan la liberación de más calcio del retículo sarcoplásmico (RS), con lo que se inicia un ciclo de contracción-relajación. En última instancia, sale de la célula la pequeña cantidad del calcio que había entrado anteriormente, sobre todo debido a un intercambiador de Na –Ca, mientras que la bomba de calcio el sarcolema apenas opera, **C.** superposición variable de actina-miosina durante la sístole y la diástole, **D.** Interacción de las cabezas de miosina, unidas a los filamentos gruesos, con los filamentos finos de actina. (Tomado de Harrison 2002.)



**Figura 3.** Mecanismo simplificado a cuatro pasos de la reacción de la ATPasa de la actiomiosina. Cuando el músculo está relajado (parte superior izquierda), el ATP unido al puente de miosina disocia los filamentos gruesos y finos. 1<sup>er</sup> paso: la hidrólisis del ATP unido a la miosina por el lugar ATPasa de la cabeza de la miosina transfiere la energía química del nucleótido al puente activado (parte superior derecha). Si la concentración citosólica de Ca es baja, como ocurre en el músculo relajado, no puede continuar la reacción porque la tropomiosina y el complejo troponina del filamento fino no permite que los lugares activos de la actina interaccionen con los puentes. Por eso, aunque los puentes acumulen energía, no interaccionan con la actina. 2<sup>o</sup> paso: una vez que la unión entre el Ca y la troponina C expone los sitios activos del filamento fino, la actina interacciona con los puentes de miosina para formar un complejo activo (parte inferior derecha), en el que la energía derivada del ATP se almacena en el puente único a la actina, cuya orientación todavía no ha cambiado. 3<sup>er</sup> paso: el músculo se contrae cuando el ADP se disocia del puente; este paso origina la formación del complejo rígido con poca energía (parte inferior izquierda), porque la energía química deriva de la hidrólisis del ATP se consume en el trabajo mecánico (el movimiento <<en hilera>> del puente). 4<sup>o</sup> paso: el músculo retorna a su estado de reposo y el ciclo termina cuando una molécula de ATP se une al complejo rígido y disocia el puente del filamento fino. Este ciclo persiste hasta que se disocia el calcio de la troponina C del filamento fino, que explica la vuelta al estado de reposo de las proteínas contráctiles y la acumulación de energía del puente (tomado de Harrison, 2002).

### 2.3.4. Absorción, biotransformación y excreción.

Si bien la absorción de las DHPs es casi completa después de la administración por vía oral, su biodisponibilidad esta reducida, a veces de manera notoria, debido al metabolismo hepático de primer paso. Algunas preparaciones de DHPs con una duración de acción corta se han reformulado para ser efectivas por más tiempo, siendo posible así la administración de una sola dosis por día (tabla 4). El efecto farmacológico de las DHPs quedan de manifiesto en el transcurso de 30 a 60 min luego de una dosis oral, con la excepción de los fármacos que se absorben con mayor lentitud (y tienen acción más prolongada) como son: amlodipina, isradipina y felodipina.

**Tabla 4.** Dihidropiridinas como agentes antihipertensivos.

a. Fármacos de acción ultra corta: clevidipina
b. Fármacos de acción rápida o corta: nifedipina, felodipina, nicardipina
c. Formulaciones de liberación controlada o lenta: nifedipina GITS, CC o XL, isradipina CR, felodipina ER, nicardipina SR.
d. Agentes de acción prolongada: amlodipina, barnidipina, barridipina, benidipina, lacidipina, nitrendipina y pranidipina.

Israisli Z, 2001

Todos las DHPs se unen en un grado alto a proteínas plasmáticas (70 a 98%), sus semividas de eliminación son muy variables y pueden ser de 1.3 a 64 h (tabla 5). Durante la administración repetida por vía oral, la biodisponibilidad y semivida se incrementan a causa de la saturación del metabolismo hepático.



**Tabla 5.** Farmacocinética de los compuestos dihidropiridínicos

Fármaco	Absorción	T Max (h)	Biodisponibilidad (%)	Vida media (h)
Amlodipina	>90%	6-12	52-88	35-50
Barnidipina	<Completa	1-2	3-4	$\alpha$ 1 $\beta$ 8
SR	Lenta/Completa	2-3		2-6
Isradipina SR	90-95%	1-2	15-24	$\alpha$ 2-3 $\beta$ 11-16
Nicardipina SR	Completa	1-4	15-43	
Nifedipina (GITS)	Completa	6	50-60	$\alpha$ 2-4 $\beta$ 8
Nifedipina (XL/ER)	Completa	2,5-5	50-60	$\beta$ 3-10
Lacidipina	Lenta		<10	$\beta$ 5-6
Nimodipina	Rápida	14-19	11 $\pm$ 2	15-20
Nitrendipina			15 $\pm$ 5	$\alpha$ 4 $\pm$ 2

Israïli Z., 2001

La mayor parte de la dosis de las DHPs, administradas por vía oral, se excretan en la orina en forma de metabolitos, los cuales son inactivos en la mayoría de los casos. El deterioro renal no influye sobre la farmacocinética de las DHPs, pero la concentración máxima, el área bajo la curva del nivel plasmático-tiempo y la vida media de los fármacos, aumenta en los pacientes con disfunción hepática y en ancianos.

Las DHPs son metabolizadas por las enzimas citocromo P450 (CYP3A4, CYP3A5) y por tanto, se tienen interacciones clínicamente significativas por la coadministración de los fármacos que inducen o inhiben estas enzimas, o son metabolizados por ellas. El polimorfismo genético de estas enzimas da lugar a las diferencias étnicas en la farmacocinética de algunas DHPs; por ejemplo, los niveles plasmáticos, las áreas bajo la curva del nivel plasmático-tiempo y la vida



media de la eliminación de la nifedipina son menores en los caucásicos en comparación con los sur asiáticos, mexicanos y nigerianos.

Pese a las recientes inquietudes respecto a la seguridad de las DHPs (mayor riesgo de infarto al miocardio, aunque esto no fue plenamente demostrado), las DHPs continúan siendo utilizadas como fármacos antihipertensivos de primera línea; varios resultados demuestran la reducción del riesgo de accidente cerebro vascular (ACV) a largo plazo y la ausencia de un aumento del riesgo de enfermedad coronaria con nitrendipina (Nuñez *et al.*, 1998).

### **2.3.5. Toxicidad y respuestas adversas.**

Los derivados de las dihidropiridinas tienen como efectos adversos la vasodilatación excesiva, especialmente los preparados de efecto rápido y acción corta. Entre los síntomas se incluyen vértigo, hipotensión, cefalea, rubor, disestesia digital y náuseas. También es posible que haya estreñimiento, edema periférico, tos y edema pulmonar. Los derivados de DHPs, de acción larga y lento comienzo de efecto son los mejor tolerados y tienden a producir con menor frecuencia estos efectos colaterales. El tratamiento a largo plazo con DHPs puede producir retención de sodio y/o agua, retención que no responden a la administración de diuréticos. La nimodipina produce calambres musculares cuando se administra a dosis grandes que se requieren para obtener un efecto beneficioso en sujetos con hemorragia subaracnoidea. Los hallazgos secundarios menos frecuentes son exantemas, somnolencia y en ocasiones, aumentos menores de las pruebas de función hepática. Esos efectos adversos por lo general se abaten con el tiempo o con el ajuste de la dosis.

### **Relaciones estructura-actividad.**

El interés por encontrar nuevos y mejores BCC del tipo de las DHPs ha generado varios estudios de relación estructura-actividad (Coburn *et al.*, 1988;

Janis *et al.*, 1987; Meguro *et al.*, 1985; Suzuki *et al.*, 1989), en base a los que se ha establecido la importación de las siguientes características moleculares para que presenten actividad:

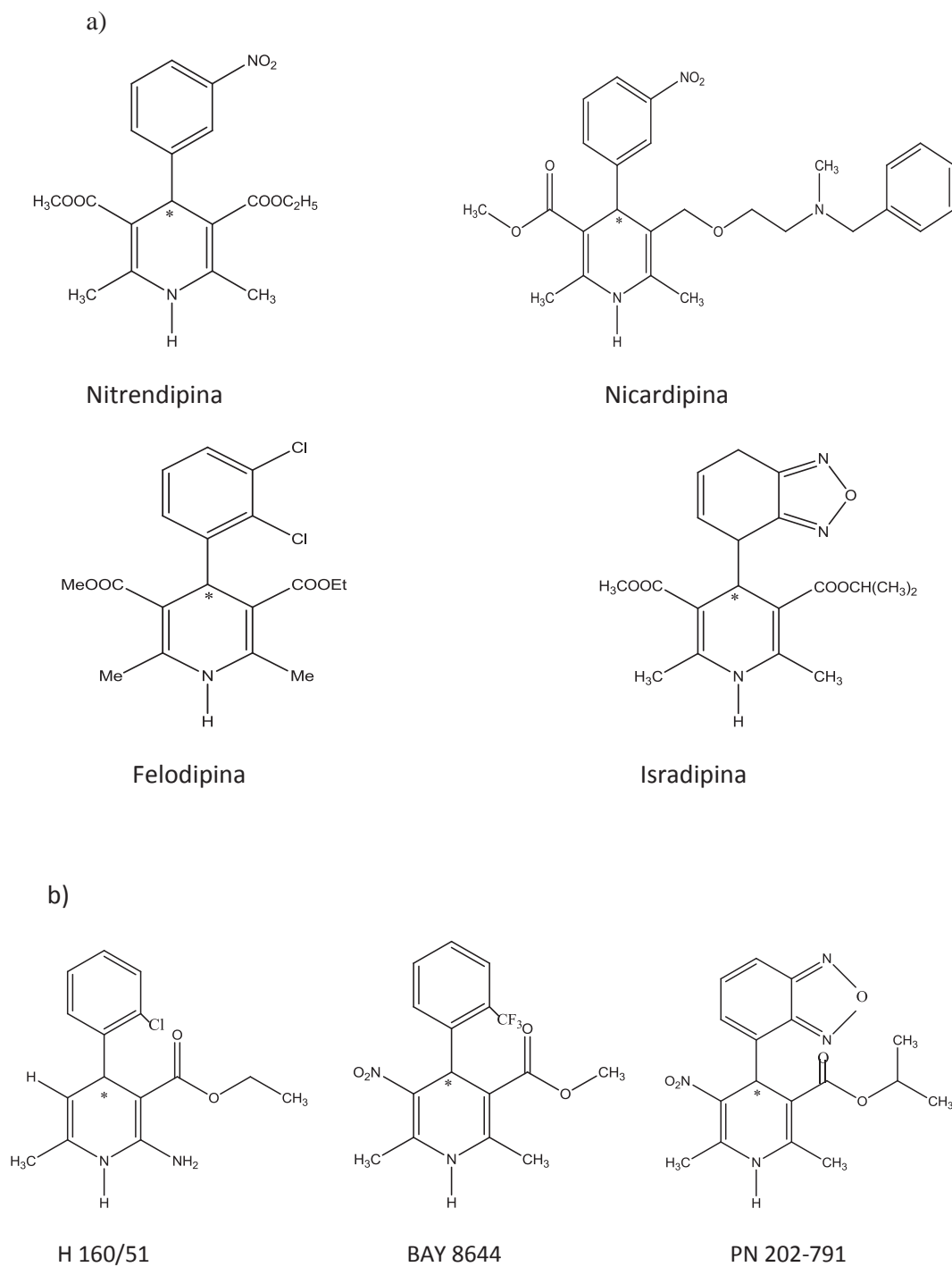
- a) Presencia del anillo dihidropiridina: su oxidación a piridina anula la actividad como bloqueador.
- b) El nitrógeno del anillo dihidropiridina no debe estar sustituido. La sustitución con grupos alquilo o fenilo producen disminución o pérdida de la potencia relajante.
- c) Presencia de grupos alquilo (generalmente metilos) en las posiciones 2 y 6 del anillo dihidropiridina. También es posible utilizar otro tipo de sustituyentes, por ejemplo amino y cadenas básicas, sin reducción de la actividad biológica.
- d) Grupos éster en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridina. Otro tipo de sustituyentes en estas posiciones (aldehído, cetona, o alquilamida) puede disminuir la potencia. La presencia de hidrogeno o de grupos tales como metilo, ciano o nitro, en alguna (o ambas) de estas posiciones es crítica, ya que pueden dar lugar a inversión de la actividad, es decir que la DHP sea activadora de los canales de calcio en lugar de ser bloqueadora.
- e) Un sustituyente arilo (generalmente fenilo sustituido) en la posición 4 del anillo dihidropiridina. A su vez, la posición del sustituyente en el anillo fenilo es muy importante: en general, aquellos en las posiciones *orto* o *meta* aumentan la actividad, mientras que sustituyentes en posición *para* la abaten drásticamente. Con pocas excepciones, la poli-sustitución también disminuye la actividad.

### **2.3.7. Efecto de la quiralidad en la actividad biológica.**

Las moléculas con al menos un centro de quiralidad, pueden existir en formas enantioméricas (o isoméricas, para aquellas que presentan dos o más centros de quiralidad). Tal es el caso de las DHPs que poseen sustituyentes

diferentes en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridina (ver Figura 4) ó en las posiciones 2 y 6, como la amlodipina (Arrowsmith *et al.*, 1986) y/o que presentan otro centro de quiralidad adicional, por ejemplo benidipina (Muto *et al.*, 1988).

La quiralidad de un compuesto es importante desde el punto de vista biológico, ya que es frecuente que los estereoisómeros difieran en su potencia, llegando a ser crítico cuando la quiralidad está asociada a un cambio en la actividad biológica. En el caso de las DHPs quirales se presentan ambos tipos de fenómeno; por ejemplo, en la nitrendipina (NT), nicardipina, felodipina e isradipina (PN 200-110), en el que sus enantiómeros son bloqueadores y solo se diferencian en su potencia (Eltze *et al.*, 1990; Shibamura *et al.*, 1980; Takenaka *et al.*, 1982). En contraste, para las DHPs BAY 8644, H 160/51 y PN 202-791, uno de los enantiómeros actúa como bloqueador, mientras que el otro es un activador de los canales lentos de calcio (Beyer *et al.*, 1985, Williams *et al.*, 1985)



**Figura 4.** Estructura química de algunas DHPs quirales. Para las DHPs en a) ambos enantiómeros son bloqueadores de los canales de calcio, en DHP b) un enantiómero es bloqueador y el otro activador. \*Centro estereogénico.

## **Justificación**

La hipertensión arterial es una enfermedad muy común asociada a tasas de morbilidad y mortalidad elevadas, por lo que se considera uno de los problemas más importantes de salud pública afectando a millones de personas a nivel mundial. Por ello es importante la búsqueda de nuevos compuestos que puedan ser alternativas terapéuticas para el tratamiento de las ECV. En particular, son de gran interés los compuestos de tipo DHP, varios de los cuales han demostrado ser eficaces para el tratamiento de la hipertensión.

Por otra parte, el grupo isonitrilo se ha utilizado poco en compuestos del tipo DHP, por lo que resulta de gran interés analizar cómo afecta su presencia en la potencia de las DHPs. Por lo anterior, esta tesis está enfocada en determinar el efecto relajante de una serie de nuevas 1,4-dihidropiridinas con diferentes sustituyentes en el anillo aromático y con sustituyente ciano (también llamado isonitrilo) y carboxietilo en las posiciones 3 y 5.

## **Hipótesis**

Las dihidropiridinas con sustituyente ciano y carboxietilo en las posiciones 3 y 5 en el anillo dihidropiridínico presentan actividad relajante en músculo liso vascular.

## **Objetivo**

Determinar el efecto relajante de una serie de nuevas dihidropiridinas con sustituyentes ciano y carboxietilo en las posiciones 3 y 5, así como con diferentes sustituyentes en el anillo fenilo.

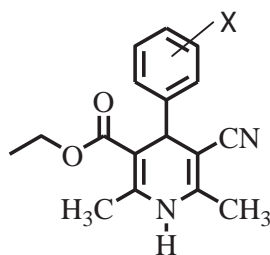
## **Materiales y métodos**

La actividad biológica de las dihidropiridinas fue determinada mediante el modelo de anillos de aorta, para lo cual fueron utilizadas ratas Wistar macho de aproximadamente 250 g de peso mismas que fueron sacrificadas por decapitación. Posterior a la decapitación, se extrajo la arteria aorta torácica, misma que se limpió de tejido conectivo y grasa, para después ser cortada en anillos de 3-5 mm de longitud. Los anillos fueron montados mediante ganchos de Nichrom en cámaras de órgano aislado de 10 ml que contenían solución Krebs a 37 °C, burbujeado continuamente con gas carbógeno. Inicialmente los anillos fueron sometidos a un primer periodo de estabilización de 30 minutos en el que se les aplicó 3 g de tensión. Al término del periodo de estabilización los anillos fueron expuestos a noradrenalina ( $10^{-7}$  M) seguido de un lavado con Krebs. Este procedimiento se repitió 2 veces más y al término de la tercera contracción con noradrenalina, los anillos fueron expuestos a acetilcolina ( $10^{-6}$  M). A continuación, los anillos tuvieron otro periodo de estabilización de 30 minutos con solución de Krebs alto en potasio sin calcio. Al término de este periodo se renovó el Krebs alto en potasio sin calcio. A los 10 minutos se agregó cloruro de calcio (2.5 mM), lo que dio lugar a la contracción de los anillos. Cuando los anillos desarrollaron la tensión máxima se adicionó a las cámaras de órgano aislado las dihidropiridinas en concentraciones creciente para determinar su efecto relajante en los anillos contraídos.

Los cambios de tensión en los anillos fueron registrados en el programa AcqKnowledge 3.9.0 y posteriormente fueron tabulados para la obtención de las graficas concentración vs. respuesta y calcular la concentración efectiva 50 ( $CE_{50}$ ) de cada una de las dihidropiridinas probadas.

Las dihidropiridinas probadas fueron sintetizadas en nuestro laboratorio y su estructura es mostrada en la tabla 6.



**Tabla 6.** Estructura de las dihidropiridinas probadas.

DHP	X
1	H
2	o,m-Cl <sub>2</sub> *
3	o,p-Cl <sub>2</sub>
4	o,m-Cl <sub>2</sub>
5	o,o-Cl <sub>2</sub>

\*DHP con sustituyente ciano y carboximetilo en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridínico.

## Resultados

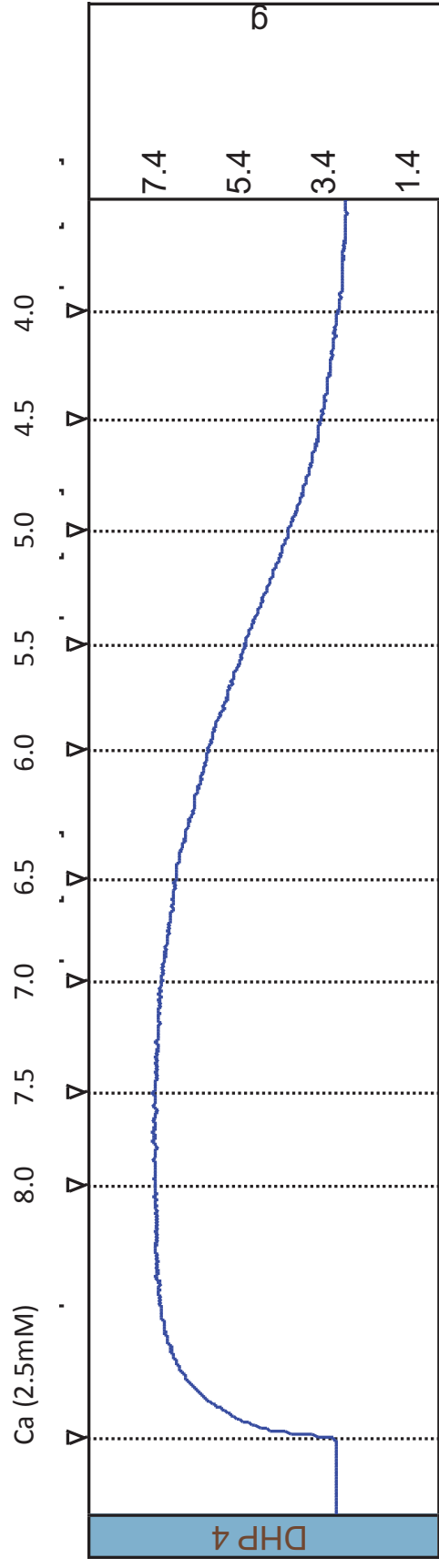
En la figura 5 se muestra un registro típico del efecto relajante ocasionado por las dihidropiridinas (tomándose de ejemplo la dihidropiridina **4**). En todos los casos se observó un efecto de relajación del músculo liso vascular dependiente a la concentración.

A partir de los registros obtenidos mediante el programa AcqKnowledge, los datos fueron tabulados (tabla 7), obteniéndose los valores de efecto relajante promedio y el error estándar logrado por cada una de las concentraciones empleadas (de cada una de las dihidropiridinas probadas). Como se mencionó en la sección de materiales y métodos, estos valores fueron usados para realizar las gráficas concentración-respuesta (o transformados en el caso de las curvas logaritmo de la concentración-respuesta) de las dihidropiridinas probadas, mismas que son mostradas en las figuras 6 y 7. Como se puede observar en la figura 7, todas las curvas logaritmo de la concentración-respuesta mostraron forma sigmoidea y pendientes similares.

Los valores de  $CE_{50}$  calculado a partir de las curvas concentración-respuesta son mostrados en la tabla 8. Puede observarse que las dihidropiridinas presentaron una potencia muy cercana al rango micromolar, sin embargo, todas fueron menos potentes que la nitrendipina (NT), dihidropiridina utilizada como referencia; cabe mencionar que la NT presenta un sustituyente carboximetilo y otro carboxietilo en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico a diferencia de nuestras dihidropiridinas que presentan sustituyentes ciano y carboxietilo en estas posiciones. De acuerdo a los resultados obtenidos se observó que de las DHPs probadas, la DHP **4** (con sustituyentes cloros en las posiciones *orto* y *meta* en el anillo aromático) fue la más potente, mientras que la DHP **3** (con sustituyente cloros en las posiciones *orto* y *para*) fue la menos potente.

De acuerdo a las posiciones de los sustituyentes en el anillo aromático, también se pudo observar que el sustituyente en la posición *meta* contribuye

mejor a la actividad relajante que cuando este se encuentra en la posición *orto* y la contribución es aún mucho menor, cuando el sustituyente está en la posición *para*.



**Figura 5.** Registro del efecto relajante de la DHP 4 en anillo de aorta de rata pre-contráido. La concentración molar es expresada en términos logarítmicos.

**Tabla 7.** Datos obtenidos en la determinación del efecto relajante de las DHPs

DHP	ANILLO	% DE RELAJACION					
		$[3.16 \times 10^{-7}]$	$[1 \times 10^{-6}]$	$[3.16 \times 10^{-6}]$	$[1 \times 10^{-5}]$	$[3.16 \times 10^{-5}]$	$[1 \times 10^{-4}]$
<b>1</b>	1	10.42	14.82	22.34	34.55	49.15	70.17
	2	6.7	13.63	24.51	79.34	98.24	102.42
	3	14.2	20.5	31.33	47.73	63.1	84.04
	4	29.5	38.59	48.71	63.98	75.99	88.16
	5	12.82	17.09	27.07	44.73	64.24	86.32
	6	8.36	13.83	20.17	34.58	51.01	73.78
	Promedio error estándar	13.667 3.361	19.743 3.913	29.022 4.243	50.818 7.215	66.955 7.425	84.148 4.682

DHP	ANILLO	% DE RELAJACION					
		$[3.16 \times 10^{-7}]$	$[1 \times 10^{-6}]$	$[3.16 \times 10^{-6}]$	$[1 \times 10^{-5}]$	$[3.16 \times 10^{-5}]$	$[1 \times 10^{-4}]$
<b>2</b>	1	12.8	28.02	50.28	73.65	90.17	101.86
	2	25.92	48.02	72.58	92.22	102.59	108.32
	3	12.83	27.23	51.02	75.27	90.92	100
	4	9.49	17.13	29.78	49.41	76.42	93.94
	5	19.14	30.13	45.92	65.69	88.18	101.57
	6	28.36	44.19	64.71	84.77	101.66	109.95
	Promedio error estándar	18.09 3.149	32.453 4.716	52.382 6.107	73.502 6.115	91.657 3.944	102.607 2.381

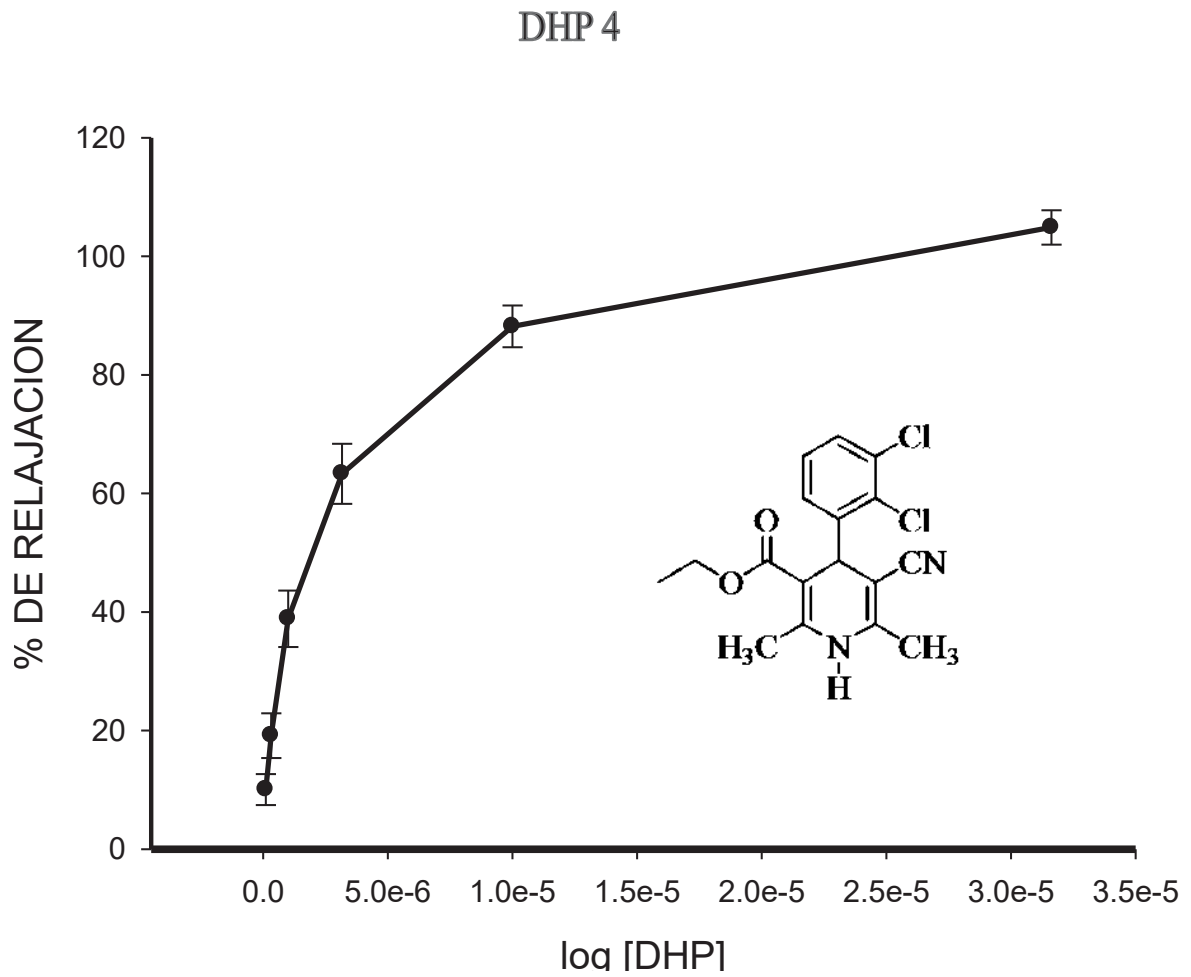
DHP	ANILLO	% DE RELAJACION					
		$[3.16 \times 10^{-7}]$	$[1 \times 10^{-6}]$	$[3.16 \times 10^{-6}]$	$[1 \times 10^{-5}]$	$[3.16 \times 10^{-5}]$	$[1 \times 10^{-4}]$
<b>3</b>	1	17.76	23.17	31.66	48.65	74.13	112.74
	2	22.44	30.42	38.4	51.37	69.83	99.25
	3	19.62	25.47	35.28	47.81	69.52	104.8
	4	22.66	29.56	36.6	49.16	62.79	84.38
	5	7.5	11.15	17	29.25	44.24	68.19
	6	21.4	26.44	32.55	42.45	60.97	84.71
	Promedio error estándar	18.563 2.338	24.368 2.859	31.915 3.153	44.782 3.334	63.58 4.348	92.345 6.643

**Tabla 7.** Continuación.

DHP	ANILLO	% DE RELAJACION					
		[1x10 <sup>-7</sup> ]	[3.16x10 <sup>-7</sup> ]	[1x10 <sup>-6</sup> ]	[3.16x10 <sup>-6</sup> ]	[1x10 <sup>-5</sup> ]	[3.16x10 <sup>-5</sup> ]
<b>4</b>	1	2.42	6.73	17.49	43.5	78.03	111.21
	2	1.89	8.49	35.47	56.04	81.89	102.08
	3	13.44	26.28	49.7	80.36	102.11	112.84
	4	12.81	24.67	45.89	68.07	92.93	103.63
	5	12.17	20.87	39.25	65.09	84.97	93.17
	6	17.52	27.82	45.34	66.76	89.15	106.26
	Promedio error estándar	10.042 2.609	19.143 3.774	38.857 4.751	63.303 5.078	88.180 3.514	104.865 2.897

DHP	ANILLO	% DE RELAJACION					
		[3.16x10 <sup>-7</sup> ]	[1x10 <sup>-6</sup> ]	[3.16x10 <sup>-6</sup> ]	[1x10 <sup>-5</sup> ]	[3.16x10 <sup>-5</sup> ]	[1x10 <sup>-4</sup> ]
<b>5</b>	1	3.11	5.78	11.56	26	50.89	84.89
	2	0.88	14.06	17.05	24.6	40.6	75.57
	3	12.38	21.47	38.24	60.82	82.45	109.56
	4	19.22	29.42	43.88	64.46	82.48	109.52
	5	14.74	24.23	41.38	60.75	74.73	93.26
	6	16.69	26.48	41.41	64.37	86.04	101.77
	Promedio error estándar	11.170 3.057	20.240 3.596	32.253 5.766	50.167 7.893	69.532 7.786	95.762 5.621

DHP	ANILLO	% DE RELAJACION					
		[1x10 <sup>-8</sup> ]	[3.16x10 <sup>-8</sup> ]	[1x10 <sup>-7</sup> ]	[3.16x10 <sup>-7</sup> ]	[1x10 <sup>-6</sup> ]	[3.16x10 <sup>-6</sup> ]
<b>NT</b>	1	4.36	13.42	31.88	54.36	86.24	102.01
	2	5.94	22.03	65.52	94.64	120.11	124.71
	3	6.07	20.8	46.1	74.7	96.88	103.29
	4	5.72	18.27	47.23	80.26	99.45	106.83
	5	12.86	27.14	40.71	61.07	79.64	95.36
	6	7.66	19.16	46.1	80.72	99.74	107.15
	Promedio error estándar	7.102 1.229	20.137 1.850	46.257 4.507	74.292 5.953	97.01 5.671	106.558 4.028



**Figura 6.** Curva concentración-respuesta del efecto relajante de la DHP 4 en anillo de aorta pre-contraído. Cada valor representa la media de 6 anillos.

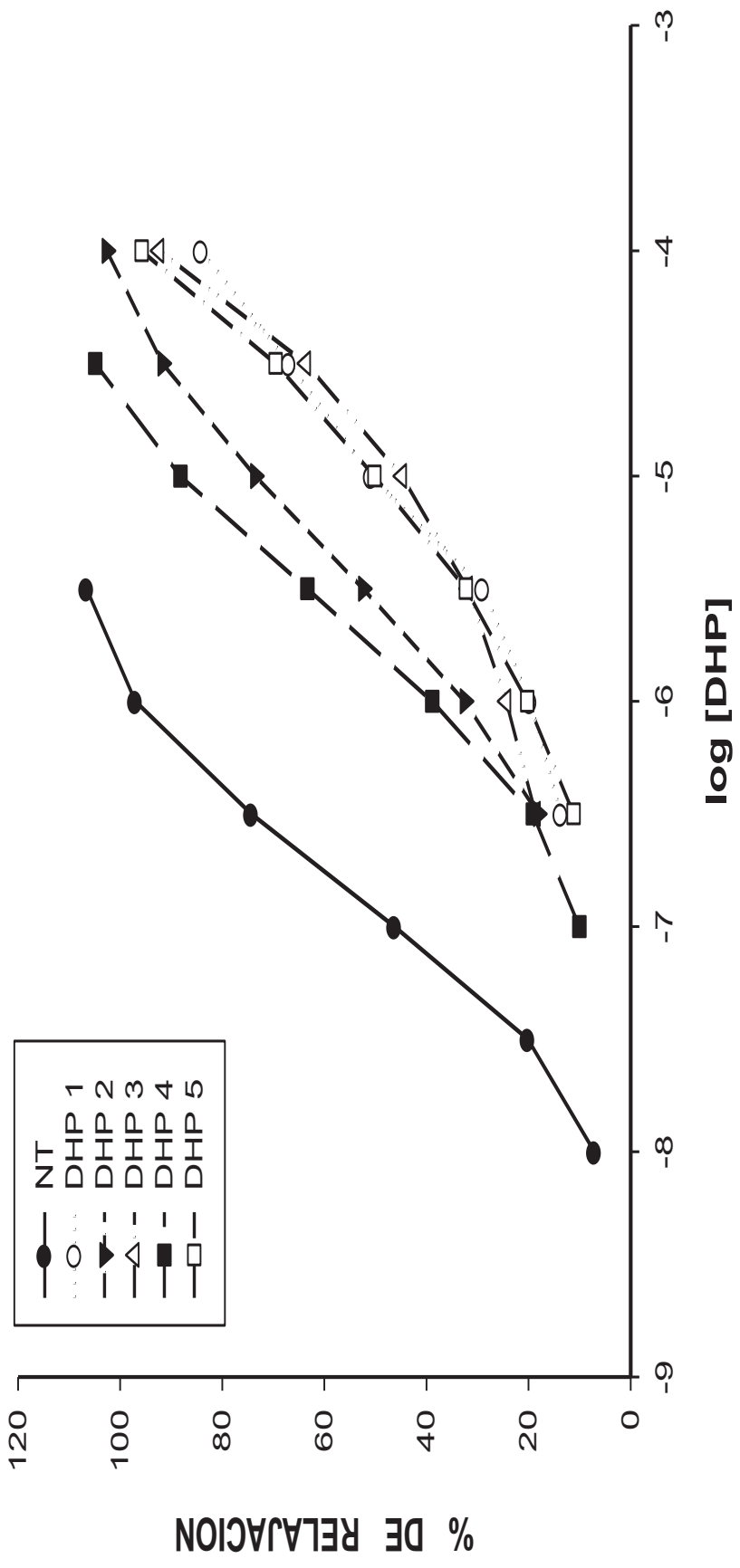


Figura 7. Gráfica del efecto relajante producido por la NT y las DHPs probadas en anillo de aorta pre-contraída. Cada valor representa el valor promedio de 6 anillos.



**Tabla 8.** Potencia relajante de las DHPs probadas y de la NT en músculo liso vascular.

DHPs	$pCE_{50}^*$
<b>1</b>	5.087
<b>2</b>	5.590
<b>3</b>	5.070
<b>4</b>	5.785
<b>5</b>	5.095
NT	6.92

\*Logaritmo negativo de la concentración molar requerida para lograr un 50% del efecto máximo.

## Discusión

Desde el descubrimiento de los bloqueadores de los canales de calcio en los años 60's, muchos investigadores han estudiado sus efectos en músculo liso vascular. En el presente trabajo se determinó el efecto relajante en músculo liso vascular de nuevos compuestos de tipo dihidropiridina. Esto se hizo en el modelo de anillos de aorta, en donde la relajación lograda por las DHPs es un reflejo de su capacidad para bloquear los canales de calcio dependientes de voltaje, cuya apertura fue estimulada por la despolarización de la membrana (causada en este modelo por la concentración elevada de potasio). Gracias a este modelo fue posible obtener resultados que a continuación son analizados y discutidos.

En cuanto a la potencia relajante de las DHPs probadas se puede observar el siguiente orden de potencia: **4** ≥ **2** ≥ **5** ≥ **1** ≥ **3**, con un rango de valores de  $pCE_{50}$  de 5.785 – 5.070. Las DHPs que presentan sustituyentes Cl en el anillo aromático (DHPs **4** y **2**) resultaron ser más potentes que la dihidropiridina insustituída (DHP **1**), es decir aquella que presenta solo hidrógenos en este anillo. Sin embargo, también se puede observar que la dihidropiridina con sustituyentes Cl en la posiciones *o,p* en el anillo aromático (DHP **3**) posee una potencia relajante un poco menor a la insustituída. La relación de potencia entre estas DHPs puede explicarse de acuerdo a estudios de relación estructura-actividad (Coburn *et al.*, 1988) que indican que los sustituyentes electroattractores, como el cloro, contribuyen a la actividad biológica. En el caso de la DHP **3** su menor potencia podría explicarse por la posición (*para*) en la que se encuentra uno de los sustituyentes presentes en el anillo aromático, ya que se ha observado que sustituyentes en la posición orto ó meta aumenta la actividad relajante de las DHPs, mientras que sustituyentes en posición *para* la abaten drásticamente (Coburn *et al.*, 1988; Janis *et al.*, 1987; Meguro *et al.*, 1985; Suzuki *et al.*, 1989).

Por otra parte, es importante señalar que nuestras DHPs presentan sustituyentes ciano y carboxietilo en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico (con excepción de la DHP **2**) y con el fin de poder establecer algunas comparaciones se tomaron de la literatura datos que corresponden a DHPs con grupos carboximetilos en las posiciones 3 y 5 pero que presentaban el mismo sustituyente en el anillo aromático que algunas de nuestras DHPs (Coburn *et al.*, 1988), observándose que las DHPs que presentan 2 grupos éster son más potentes que nuestras DHPs que solo presentan un grupo éster en el anillo dihidropiridinico (tabla 9). Así mismo, en nuestro laboratorio fueron sintetizadas y probadas algunas DHPs análogas con sustituyentes ciano en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico (Velázquez-Pérez, 2010). Estas DHPs que no presentaban grupos ésteres fueron muy poco potentes, de tal manera que solo fue posible determinar sus  $pCE_{25}$ , lo que sugiere que son menos potentes que sus análogos que presentan un solo grupo éster. Es decir, nuestras DHPs que presentan un grupo ciano y un grupo éster en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico son menos potentes que aquellas que presentan dos grupos éster, pero más potentes que aquellas que presentan dos grupos cianos en las mismas posiciones.

Estos resultados subrayan la importancia de las sustituciones en C3 y C5. Reportes en la literatura (Rovnyak *et al.*, 1995; Triggle, *et al.*, 1989) proponen que es muy importante la presencia de grupos ésteres (COOMe, COOEt, etc.) ya que se sugiere que los grupos ésteres pueden interaccionar con su sitio de unión a las DHPs en el canal de calcio a través de puentes de hidrógeno y de interacciones tipo hidrofóbicas. Esto explicaría que al sustituir uno de los grupos ésteres por un grupo ciano, la fuerza de interacción de la DHP con el sitio receptor disminuye y por lo tanto disminuye el efecto farmacológico, siendo esto más notorio cuando ambos grupos ésteres son sustituidos por grupos ciano, con lo que la actividad farmacológica de las DHPs es aún más baja.

**Tabla 9.** Potencia relajante de DHPs con mismo sustituyente en el anillo aromático pero diferente sustituyente en el anillo dihidropiridinico.

	I*	II*	III*
DHP	$pCE_{50}^{a,c}$	$pCE_{50}^a$	$pCE_{25}^b$
1	7.55	5.087	
2		5.590	5.57
3	6.40	5.070	
4	7.72	5.785	5.19
5	8.72	5.095	5.95

<sup>a</sup> Logaritmo negativo de la concentración molar requerida para inhibir la contracción un 50%.

<sup>b</sup> Logaritmo negativo de la concentración molar requerida para inhibir la contracción un 25%. Datos tomados de Velázquez-Pérez, 2010.

<sup>c</sup> Datos tomados de Coburn *et al.*, 1987.

\*I. Dihidropiridinas con sustituyentes carboxietilos en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico. II. Dihidropiridinas con sustituyentes ciano y carboxietilo en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico. III. Dihidropiridinas con sustituyentes cianos en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico.

Finalmente, también pudo observarse diferencias de potencia entre dos de nuestras DHPs (**4** y **2**) que tiene un mismo sustituyente en el anillo aromático y diferentes ésteres en la posición 5 del anillo dihidropiridínico. En este caso, la DHP **4**, que presenta un sustituyente carboxietilo, es más potente que la DHP **2**, que presenta un sustituyente carboximetilo en la misma posición. Varios estudios han demostrado que ésteres con cadenas alquílicas más largas contribuyen a una mayor afinidad de las DHPs por su sitio de unión en los canales de calcio, reflejándose esto en una buena relajación del músculo liso vascular (Baindur *et al.*, 1993; Hernández-Gallegos *et al.*, 1995; Peri *et al.*, 2000).

## **Conclusión**

Las DHPs con sustituyentes isonitrilo y carboxietilo en las posiciones 3 y 5 del anillo dihidropiridinico presentan una potencia relajante intermedia en músculo liso vascular (modelo de anillos de aorta de rata); son más potentes que las DHPs análogas que tienen sustituyentes cianos en las mismas posiciones pero menos potentes que las que presentan sustituyentes carboximetilos.

## Bibliografía

- 1.- Almers W., Fink R., Palade F.T. (1981). Calcium depletion in frog muscle tubules: the decline of calcium current under maintained depolarization. *The Journal of Physiology*. **312**: 177-207.
- 2.- Arrowsmith J.E., Campbell S.H., Cross P.E., Stubbs J.K., Burges R.A., Gardiner D.G., Blackburn J.K. (1986). Long-Acting dihydropyridine calcium antagonists. 1.2-Alkoxyethyl derivatives incorporating basic substituents. *Journal of Medicinal Chemistry*. **29**: 1696-1702.
- 3.- Baidur N., Rutledge A., Triggle D.J. (1993). A homologous series of permanently charged 1,4-dihydropyridines: novel probes designed to localize drug binding sites on ion channels. *Journal of Medicinal Chemistry*. **36**: 3743-3745.
- 4.- Berchtold M.W., Brinkmeier H., Müntener M. (2000). Calcium ion in skeletal muscle: Its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *American Physiological Society*. **80**: 1215-1265.
- 5.- Beyer T., Gjørstrup P., Raven U. (1985). Comparison of the cardiac effects of the dihydropyridine-derivate H160/51 with those of the "Ca-agonist" BAY K8644. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacology*. **330**: 34.
- 6.- Bou J., Llenas J., Massingham R. (1983): Calcium entry blocking drugs "calcium antagonists" and vascular smooth muscle function. *Journal of Autonomic Pharmacology*. **3**: 219.
- 7.- Carafoli E. (2002). Calcium signaling: a tale for all seasons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **99**: 1115-1122.
- 8.- Corella D., Ordovás J.M. (2007). Genes, dieta y enfermedades cardiovasculares. *Investigación y Ciencia*. **374**: 74-83.
- 9.- Coburn A.R., Wierzba M., Suto J.M., Solo J.A., Triggle A.M., Triggle D.J. (1988). 1,4-dihydropyridine antagonist activities at the calcium channel: A quantitative structure-activity relationship approach. *Journal of Medicinal Chemistry*. **31**: 2103-2107.
- 10.- De la Cerda A., Lehmann F.P., Villanueva C., Marcelín G., Pérez-Álvarez V.A, Hernández-Gallegos Z. (2000). Evaluación de la susceptibilidad a la oxidación microsomal de una serie de análogos de nifedipina. *Journal of the Mexican Chemical Society*, **44**: 275-280.
- 11.- Del Val-Aradilla V.L. (2002). Dihidropiridinas. Efectos en íleon de cobayo y sistema nervioso central de rata. Tesis doctoral, Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.
- 12.- Eltze M., Boer R., Sanders K.H., Boss H., Ulrich W.R., Flockerzi D. (1990). Stereoselective inhibition of thromboxane-induced coronary vasoconstriction by 1,4-dihydropyridine calcium channel antagonists. *Chirality*. **2**: 233-240.

- 13.- Fisher D.N., Williams H.G. (2005). Hypertensive vascular disease. En: "Principles of Internal Medicine". Ed. T.R. Harrison, McGraw Hill. 16<sup>th</sup> edition: 1463-1479.
- 14.- Fleckenstein A. (1983). History of calcium antagonists. *Circulation Research*. **52**: 13-16.
- 15.- Fleckenstein A. (1985). Calcium antagonism in heart and smooth muscle. *Medicinal Research Reviews*. **5**: 395-425.
- 16.- Fosshem R., Svarteng K., Mostad A., Rømming C., Shefter E., Triggle D.J. (1982). Crystal structures and pharmacological activity of calcium channel antagonists: 2,6-dimethyl-3,5-dicarbomethoxy-4-(unsubstituted, 2-methyl-, 4-methyl-, 3-nitro-, 4-nitro-, and 2,4-dinitrophenyl)-1,4-dihydropyridine. *Journal of Medicinal Chemistry*. **25**: 126-31.
- 17.- García A.G., Michelena P., Gandía L. (2003). *Fármacos antagonistas del calcio*. En: "Farmacología humana". Ed. J. Florez, Masson. 3<sup>o</sup> edición: 642-664.
- 18.- González-Torrijos J. (2006). Medición invasiva del gasto cardiaco en las unidades de cuidados críticos. *Enfermería de cardiología*. **38**: 30-35.
- 19.- Gutiérrez J. (2001). Tratamiento de la hipertensión arterial. Cambios de estilo de vida. *Colombia Medica*. **32**: 99-102
- 20.- Guyton Arthur C. (2006). Gastrointestinal physiology. En: Textbook of Medical Physiology. Elsevier Saunders. 11<sup>th</sup> edition: 771-780.
- 21.- Heilbrunn L.V., Wiercinski F.J. (1947). The action of various cations on muscle protoplasm. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*. **29**: 15-32.
- 22.- Hernández-Gallegos Z., Lehmann P.A., Hong E., Posadas F., Hernández-Gallegos E. (1995). 1,4-dihydropyridines: synthesis, bioassay, microsomal oxidation and structure-activity relationship. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **30**: 355-364.
- 23.- Hernández R., Armas de Hernández M., Armas M. (2001). Bloqueadores de los canales lentos del calcio en la hipertensión arterial. En: "Manual de Hipertensión Arterial al Día". Ed. M. Velasco y R. Hernández, MacGraw Hill. 296-308.
- 24.- Hoffman B.B. (2007). Terapéutica de la hipertensión. En: "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica". Ed. Goodman & Gilman, MacGraw Hill. 11<sup>ma</sup> edición: 845-860.
- 25.- Israisli Z. (2001). Farmacología clínica de los nuevos compuestos dihidropiridínicos utilizados en la hipertensión. En: "Manual de Hipertensión Arterial al Día". Ed. M. Velasco y R., Hernández, MacGraw Hill. 279-288.
- 26.- Izaguirre V., Zavaleta A.I. (1998). Canales de calcio voltaje dependientes. *Ciencia e investigación*. Vol. **1**, no.1.



- 27.- Janis R., Silver P., Triggle D.J. (1987). Drug action and cellular calcium regulation. *Advance in Drug Research*. **16**: 309-591.
- 28.- Kamada T., Rinosita H. (1943). Disturbances initiated from naked surface of muscle protoplasm. *Japan Zool*. **10**: 469-493.
- 29.- Laborda-Álvarez J.A. (2002). Estudio comparado de la eficacia antihipertensiva de dos fármacos calcioantagonistas del grupo de las dihidropiridinas. Tesis doctoral de la Universidad de Alicante.
- 30.- Meguro K., Aizawa M., Sonhda T., Kawamatsu Y., Nagaoka A. (1985). New 1,4-dihydropyridine derivatives with potent and long-lasting hypotensive effect. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. **33**: 3787-3797.
- 31.- Moss J.A (1997). Papel que desempeñan los bloqueadores de los canales del calcio. En: "Aterosclerosis y Enfermedad Arterial Coronaria". Fuster V., Ross R., Topol E. Ed. Springer-Verlag Iberica, 2<sup>da</sup> edición. 1303-1311.
- 32.- Muto K., Kuroda T., Kawato H., Karasawa A., Kubo K., Nakamizo N. (1988). Synthesis and pharmacological activity of stereoisomers of 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridine-dicarboxylic acid methyl 1-(phenylmethyl)-3-piperidinyl ester. *Arzneim.-Forsch/Drug Res*. **38**: 1662-1665.
- 33.- Nayler W.G., Poole W.F. (1981): Calcium antagonists. Definition and mode of action. *Cardiovascular Research*. **76**: 1-15.
- 34.- Núñez-Díaz L.C., Pérez-Caballero M.D., González-Montero A., Vigoa-Vázquez A. (1998). Bloqueadores del calcio. Un problema actual. *Revista Cubana de Medicina*. **37**: 224-230.
- 35.- Ochoa H., Del Puy M. (2004) . Mecanismos implicados en el efecto cardiaco de neuropeptido Y. Tesis doctoral de la Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, Departamento de Farmacología.
- 36.- Pascuzzo-Lima C., Virgilio-Segnini N. (2008). Calcioantagonistas. En: "Farmacología Básica". Ed. C. Pascuzzo, Lima: 703-709.
- 37.- Peri R., Padmanabhan S., Rutledge A., Singh S., Triggle D.J. (2009). Permanently charged chiral 1,4-dihydropyridines: Molecular probes of L-types calcium channels. Synthesis and pharmacological characterization of methyl (trimethylalkylammonium) 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridinedicarboxylate iodide, calcium channel antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*. **43**: 2906-2914.
- 38.- Richard A., Harvey Mery J. Mycek y Pamela C. Champe. (2004). Medicamentos cardiovasculares; Antihipertensivos. En: "Farmacología". McGraw Hill. 2<sup>da</sup> edición: 215-229.
- 39.- Rovnyak C.G., Kimball S.D., Beyer B., Cucinotta G., DiMarco J.D., Gougoutas J., Hedberg A., Malley M., McCarty J.P., Zhangs R., Moreland S. (1995). Calcium entry blockers and activator: conformational and structural determinants of

dihydropyridine calcium channels modulators. *Journal of Medicinal Chemistry*. **38**: 119-129.

40.- Shibamura., Iwanami M., Okuda K., Takenaka T., Murakami M. (1980). Synthesis of optically active 2-(N-benzyl-N-methylamino)ethyl methyl 2,6-dimethyl-4-(m-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (nicardipina). *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. **28**: 2809-2812.

41.- Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). Principales causas de mortalidad general por entidad federativa. (2008) Estados Unidos Mexicanos.

42.- Soltero I. (2001). Calcio-antagonistas y aterosclerosis. En: "Manual de Hipertensión Arterial al Día". Ed. M. Velasco y R., Hernández, MacGraw Hill. 291-294.

43.- Suzuki k., Nagura J., Shiratori k., Murayama B., Miyano T., Takeya K. (1989). Study of the structure-activity relationships of the new dihydropyridine derivatives. *Journal of Pharmacobiology-Dyn*. **12**: 293-298

44.- Takenaka T., Miyazaki I., Asano M., Higuchi S., Maeno H. (1982). Vasodilatador and hypotensive effects of the optical isomers of nicardipine (YC-93), a new Ca antagonist. *Journal of Pharmacology*. **32**: 665-670.

45.- Triggle D.J. (2002). 1,4-dihydropyridines as calcium channel ligands and privileged structures. *Cellular and Molecular Neurobiology*. **23**: 293-303.

46.- Trigle D.J., Rampe D. (1989). 1,4-dihydropyridine activators and antagonists: structural and functional distinctions. *Trends in Pharmacological Sciences*. **10**: 507-511.

47.- Turovska B., Stradins J., Turovskism I., Plotniece A., Shmidlers A., Duburs G. (2004). Electrochemical oxidation of compounds containing 1,4-dihydropyridine and pyridinium rings. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. **40**: 753-758.

48.- Van B. C., Aaronson P., Loutzenhiser R., Meisheri K.D. (1980). The biology of calcium ions in the myocardial cell. En: "Calcium Modulators". Ed. Godfraind T., Albertini A., Faoletti E. Elsevier Biomedical. 5-16.

49.- Velázquez-Pérez B.R. (2010). Determinación del efecto relajante de una serie de 1,4-dihidropiridinas con sustituyentes isonitrilo en C-3 y C-5. Tesis de Licenciatura. Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich., México. Tesis en proceso.

50.- Williams J.s., Grupp I.L., Grupp G., Vahy P.L., Dumont L., Schwartz A. (1985). Profile of the oppositely acting enantiomers of the dihydropyridine 202-791 in cardiac preparations: receptor binding, electrophysiological, and pharmacological studies. *Biochemical and Biophysical Research*. **131**: 13-21.