



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“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”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

SILVIA JEMIMAH CORTÉS INCLÁN

ASESORES: DRA. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR
DR. ENRIQUE ÁNGELES ANGUIANO



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.

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento y aprecio a todos aquellos que no tuvieron en poco mi juventud. ni olvidaron que la juventud dejó de ser el futuro para transformarse en el presente.

A mis padres, en especial, a mi guerrera incansable, mi madre, quien me enseñó a luchar y sobreponerme ante cualquier circunstancia, gracias por tu dirección y por estar conmigo. A mi padre, por las largas charlas y los consejos que invirtió en mi persona. Los amo.

También agradezco a Jonathan, Alberto y Araf, por ser como mis hermanos en el tiempo de angustia. Gracias por esto y por aquello que sabemos.

A toda mi familia, a mis amigos y los que me faltó mencionar y que saben que están en mi corazón...a todos ¡Muchas Gracias!

Mi principal agradecimiento, por supuesto, a mi amado Dios, mi amigo y confidente, quien es el TODO para mí; quiero agradecerte por tu obra en mi vida, por todo lo que haces, por todo lo que estás haciendo y todo lo que harás; Señor no hay palabras para expresar mi gratitud y todo lo que soy te lo debo solo a ti, y aquí sigo tomada de tu mano, viviendo en tu promesa escrita en mi ser.

A la Dra. Luisa Martínez Aguilar, por haber trabajado desinteresadamente por los nuevos proyectos, entre ellos éste y por haberme involucrado en la maravillosa área de la investigación. Enteramente agradecida.

De manera especial agradezco a la Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo, por dedicar parte de su tiempo a la revisión de éste trabajo; a la Maestra Soledad Carreto García, por confiar en mí; a la Profra. Guadalupe Koizumi Castro, por toda su paciencia; a la Profra. Jazmín Flores Monroy, por compartir su conocimiento y la capacitación brindada; al Dr. Enrique Ángeles Anguiano, por dejarme formar parte de su equipo.

Al Ing. Fernando Sotres Carreras por invertir parte de su tiempo y conocimiento, cada vez que pensé que tenía que dar marcha atrás.

Agradezco también el apoyo dado por DGAPA-UNAM mediante los proyectos: PAPITT IN207705, a PAPIME EN201004 y CATEDRA IN17 por el apoyo brindado para la realización de cada uno de los trabajos que dentro de este laboratorio se llevan a cabo, para beneficio de la comunidad mexicana.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. HIPÓTESIS	5
3. OBJETIVOS	6
3.1. Objetivo General	6
3.2. Objetivos Particulares	6
4. MARCO TEÓRICO	7
4.1. RECEPTORES FARMACOLÓGICOS Y FARMACODINAMIA	7
4.1.1. Definición y función	7
4.1.2. Interacciones fármaco-receptor	8
4.2. ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LA ACCIÓN DEL FÁRMACO.	10
4.3. RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIÓN DEL FÁRMACO Y RESPUESTA	10
4.3.1. Curvas Concentración – Efecto	10
4.3.2. Análisis de K_D	12
4.4. RECEPTORES ADRENÉRGICOS α	13
4.4.1. Definición	14
4.4.2. Distribución	14
4.4.3. Respuesta adrenérgica α sobre músculo cardiaco	15
4.4.3.1. Características del ventrículo derecho y músculo papilar	15
4.4.4. Vías de Señalización	16
4.4.5. Vía de señalización de la interacción Fenilefrina-receptor adrenérgico α_1	17
4.5. COMPUESTOS MORFOLÍNICOS	19

5. MATERIAL Y MÉTODOS	21
5.1. Material	21
5.2. Preparación de soluciones	22
5.3. Metodología	22
6. RESULTADOS	26
6.1. Determinación del efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en músculo papilar izquierdo	26
6.2. Determinación de K_D	32
6.3. Determinación del % de Efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en el músculo papilar izquierdo	33
6.4. Determinación del efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en la tira de ventrículo derecho	36
6.5. Determinación de K_D	42
6.6. Determinación del % de Efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en la tira de ventrículo derecho	43
7. ANÁLISIS	47
8. CONCLUSIONES	52
9. REFERENCIAS	53
ANEXO I	57
ANEXO II	60

ABREVIATURAS

AMPc	Monofosfato de adenosina cíclica
ANOVA	Prueba de Análisis de Varianza
ARs	Receptores adrenérgicos
°C	Grados Centígrados
C_{50%}	Concentración al 50% de los receptores ocupados
Ca²⁺	Ión calcio
CE₅₀	Concentración efectiva 50
CK	Creatinquinasa o creatincinasa
DAG	Diacilglicerol
E	Sistema efector
E_{MÁX}	Efecto máximo
EE	Error estándar
F	Fármaco
FESC	Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
FR	Complejo fármaco-receptor
G	Indica a proteínas guanina nucleótido
g	Gramo
GDP	Guanosina difosfato
G_i	Proteína G inhibida
G_s	Proteína G estimulada
GTP	Guanosina trifosfato
G₉	Proteína G tipo 9
G₁₁	Proteína G tipo 11
H⁺	Ión hidrógeno
H₀	Hipótesis inicial
H₁	Hipótesis alternativa
hr	Horas
Hz	Hertzio
IP₂	Fosfatidilinositol 4, 5, bifosfato
IP₃	Inositol 1, 4, 5, trifosfato
K⁺	Ión potasio
K₁	Constante de velocidad de inicio
K₂	Constante de velocidad de compensación
K_a	Constante de asociación
K_D	Constante de disociación o afinidad
Kg	Kilogramo
L	Litro
LDH	Enzima lactato deshidrogenasa
Log	Logaritmo
μL	Microlitro
mA	Miliamperes
M	Molaridad
mg	Miligramo
min	Minutos

mL	Mililitro
mm	Milimetro
mseg	Milisegundo
mV	Milivolts
Na⁺	Ión sodio
PKC	Proteína cinasa C
PLA	Fosfolipasa A
PLA₂	Fosfolipasa A tipo 2
PLC	Fosfolipasa C
PLD	Fosfolipasa D
R	Receptor
Resp_{máx}	Respuesta máxima
R_i	Receptor inhibido
R_s	Receptor estimulado
seg	Segundo
VD	Ventrículo derecho
VI	Ventrículo izquierdo

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curva teórica log concentración- efecto	11
Figura 2. Curva teórica log concentración- efecto de dos fármacos	11
Figura 3. Curvas teóricas de dos fármacos donde el índice de afinidad K_D equivale $C_{50\%}$	13
Figura 4. Mecanismo de acción de los receptores adrenérgicos α_1 .	17
Figura 5. Reacción química de síntesis de los compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos	19
Figura 6. Rata anestesiada	23
Figura 7. Músculos papilares izquierdos de corazón de rata	23
Figura 8. Esquema de una cámara de órgano aislado	24
Figura 9. Esquema general de trabajo	25
Figura 10. Curvas Concentración – Efecto a LQM 301 en músculo papilar izquierdo y la gráfica doble recíproca	27
Figura 11. Curvas Concentración – Efecto a LQM 318 en músculo papilar izquierdo y la gráfica doble recíproca	28
Figura 12. Curvas Concentración – Efecto a LQM 319 en músculo papilar izquierdo y la gráfica doble recíproca	29
Figura 13. Curvas Concentración – Efecto a LQM 320 en músculo papilar izquierdo y la gráfica doble recíproca	30
Figura 14. Curvas Concentración – Efecto a LQM 322 en músculo papilar izquierdo y la gráfica doble recíproca	31
Figura 15. Curva Concentración-% Efecto a LQM 301 en músculo papilar izquierdo	33
Figura 16. Curva Concentración-% Efecto a LQM 318 en músculo papilar izquierdo	34
Figura 17. Curva Concentración-% Efecto a LQM 319 en músculo papilar izquierdo	34
Figura 18. Curva Concentración-% Efecto a LQM 320 en músculo papilar izquierdo	35
Figura 19. Curva Concentración-% Efecto a LQM 322 en músculo papilar izquierdo	35
Figura 20. Curvas Concentración – Efecto a LQM 301 en tira de ventrículo derecho y la gráfica doble recíproca	37
Figura 21. Curvas Concentración – Efecto a LQM 318 en tira de ventrículo derecho y la gráfica doble recíproca	38
Figura 22. Curvas Concentración – Efecto a LQM 319 en tira de ventrículo derecho y la gráfica doble recíproca	39
Figura 23. Curvas Concentración – Efecto a LQM 320 en tira de ventrículo derecho y la gráfica doble recíproca	40
Figura 24. Curvas Concentración – Efecto a LQM 322 en tira de ventrículo derecho y la gráfica doble recíproca	41
Figura 25. Curva Concentración-% Efecto a LQM 301 en tira de ventrículo derecho	43
Figura 26. Curva Concentración-% Efecto a LQM 318 en tira de ventrículo derecho	44
Figura 27. Curva Concentración-% Efecto a LQM 319 en tira de ventrículo derecho	44
Figura 28. Curva Concentración-% Efecto a LQM 320 en tira de ventrículo derecho	45
Figura 29. Curva Concentración-% Efecto a LQM 322 en tira de ventrículo derecho	45
Figura 30. Gráfica doble recíproca	57
Figura 31. Gráfica doble recíproca para LQM 301 en músculo papilar izquierdo	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estructuras químicas de los compuestos evaluados	20
Tabla 2. Composición de la Solución Fisiológica de Krebs	22
Tabla 3. Afinidad para el músculo papilar izquierdo	32
Tabla 4. Afinidad para la tira de ventrículo derecho	40
Tabla 5. % Efecto en músculo papilar izquierdo	46
Tabla 6. % Efecto en tira de ventrículo derecho	46
Tabla 7. CE ₅₀ en músculo papilar izquierdo	46
Tabla 8. CE ₅₀ en tira de ventrículo derecho	46

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de 5 compuestos **Morfolínicos** (LQM 301) y **Tiomorfolínicos** (LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322) sobre la contracción muscular producida con Fenilefrina caracterizando la función que ejercen estos compuestos sobre el sistema adrenérgico α_1 mediante la obtención de las constantes de afinidad por la representación doble recíproca, utilizando 2 modelos experimentales *in vitro* de preparaciones aisladas de corazón de rata Wistar.

Los estudios se realizaron en músculos papilares izquierdos y en tiras de ventrículo derecho con Fenilefrina (agonista específico de los receptores adrenérgicos α_1) en presencia y en ausencia de antagonistas (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322).

El corazón se extrajo y se colocó en una caja petri con Solución Fisiológica de Krebs, con oxigenación (95% O₂ y 5% CO₂), a temperatura de 32-35 °C. Se disecó el ventrículo derecho y se cortó en tiras de 2 mm, aproximadamente. Posteriormente se disecaron los músculos papilares izquierdos realizando un corte por el séptum. Los tejidos se estimularon con una frecuencia de 1 Hz, con pulsos de duración de 5 mseg y un potencial de 30 mV y la tensión se ajustó en las preparaciones a 0.75 g con la finalidad de producir la contracción isométrica máxima, la cual se registró con sensores integrados en el software ACQ 381 NEWLEDGE. Se dejaron estabilizar las preparaciones por un período de 1 h y se realizaron cambios con solución de Krebs cada 15 min. Posteriormente se administró la Fenilefrina (10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} y 10^{-3} M) realizando las curvas Concentración-Efecto de cada tejido.

Para realizar las curvas Concentración-Efecto con los compuestos LQM 300s, los tejidos se dejaron estabilizar por 1 h y se realizaron cambios con solución de Krebs cada 15 min, posteriormente se incubaron durante 30 min con los antagonistas (10^{-7} M para cada compuesto), transcurrido este tiempo se administró la Fenilefrina para realizar las curvas correspondientes.

Los resultados muestran que el LQM 301 se comporta como un antagonista no competitivo, al disminuir la contracción del músculo papilar izquierdo producida por la Fenilefrina. El LQM 322 presenta un sinergismo aumentando la contracción de la tira de ventrículo derecho.

Estos resultados permiten sugerir que las concentraciones utilizadas no determinaron la significancia de todos los compuestos. Sin embargo, se requiere de continuar con esta investigación con la finalidad de poder caracterizar los efectos de los compuestos LQM 300s sobre los receptores adrenérgicos α_1 , así como, para determinar que efecto ejercen sobre la contracción del músculo cardíaco.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades que afectan al sistema cardiovascular (como insuficiencia cardiaca, hipertensión, entre otras) representan la primera causa de mortalidad en países como España, Canadá, Estados Unidos y Argentina. México no es la excepción debido a que ocupa el primer lugar de mortalidad por estas enfermedades^{1, 2, 3}.

Esto ha sido estímulo para el desarrollo de fármacos distintos que se emplean en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. Para el diseño de medicamentos, en lo que se refiere a la sustancia por experimentar, debe cumplir con todos los requisitos o exigencias que se hacen a los fármacos de origen sintético⁴.

Cuando una sustancia determinada es considerada para utilizarse como medicamento debe tener evaluaciones previas de tipo estructural, funcional y químico. Sin embargo las relaciones más íntimas se establecen con la fisiología normal y patología, es decir un estudio farmacológico completo⁵.

El análisis de la acción medicamentosa busca definir las interacciones químicas y físicas entre el medicamento y la célula "blanco" e identificar la sucesión o secuencia completa y amplitud de acciones de cada agente⁶.

Por lo cual, los receptores se han transformado en el foco de investigación de los fármacos y sus mecanismos de acción (farmacodinamia)⁷.

Ya que los receptores establecen la base para los nuevos fármacos, es importante saber como se descubren los receptores sobre los cuales actúan estos fármacos. La caracterización de receptores comienza mediante el estudio de las relaciones entre los receptores y la acción de un grupo de fármacos en una respuesta mediada convenientemente⁷.

Frecuentemente se emplean sencillas preparaciones de tejidos aislados, *in vitro*, obtenidos de animales diversos inmediatamente después de ser sacrificados para identificar y cuantificar los efectos básicos de los fármacos. Tales tejidos, aunque están aislados del cuerpo, pueden mantenerse (en soluciones fisiológicas adecuadas) en un estado razonablemente satisfactorio durante algún tiempo; en estas circunstancias, la relación entre la concentración y el efecto tenderá a ser más significativa⁸.

Este tipo de experiencias constituyen un modelo sencillo para demostrar la interacción fármaco-receptor directamente, eliminando los factores farmacocinéticos; el efecto observado sólo depende del fármaco (afinidad y actividad intrínseca) y de la sensibilidad de los receptores específicos por ello se pueden emplear concentraciones muy reducidas y poner de manifiesto la relación concentración–efecto⁹.

En el presente trabajo se evaluaron los compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos de la serie LQM 300s, sintetizados en el laboratorio de Química Medicinal a cargo del Dr. Enrique Ángeles Anguiano; los cuales han mostrado efectos en la presión arterial y sobre el ritmo cardiaco al ser evaluados en el laboratorio de Farmacología del Miocardio a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar. En este caso se caracterizó el efecto de los compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos sobre el sistema adrenérgico α en músculo papilar izquierdo y tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar.

2. HIPÓTESIS

Como se sabe el compuesto morfólico LQM 301 y los compuestos tiomorfólicos LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322 han mostrado efectos sobre la presión arterial y el ritmo cardiaco. Los mecanismos mediante los cuales los fármacos son capaces de afectar la función de un sistema biológico suponen una interacción con receptores, en base a la relación entre la magnitud de la respuesta y la concentración del fármaco que la produce, esto constituye un elemento para cuantificar la actividad farmacológica.

Por lo que al evaluar estos compuestos en un modelo experimental *in vitro* se podrá caracterizar la función que ejercen estos compuestos sobre el sistema adrenérgico α utilizando como agonista la Fenilefrina mediante la obtención de las constantes de afinidad y la representación doble recíproca para determinar el tipo de respuesta que ejercen sobre la contracción muscular.

3. OBJETIVOS

3.1 *Objetivo General*

Determinar el efecto de 5 compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos en 2 modelos experimentales *in vitro* para conocer la respuesta sobre la contracción muscular producida con fenilefrina de las preparaciones aisladas del músculo papilar izquierdo y tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar

3.1.1 *Objetivos Particulares*

- Realizar las Curvas Concentración - Efecto a fenilefrina, del compuesto morfolínico LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322 sobre la contracción del músculo papilar izquierdo de corazón de rata
- Realizar las Curvas Concentración - Efecto a fenilefrina, del compuesto morfolínico LQM 301 y los compuestos tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322 sobre la contracción de la tira del ventrículo derecho de corazón de rata
- Realizar la Curva Concentración - % de Efecto a fenilefrina, del compuesto morfolínico LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322 sobre la contracción del músculo papilar izquierdo de corazón de rata para determinar sus constantes de afinidad (K_D)
- Realizar las Curvas Concentración - % de Efecto a fenilefrina, del compuesto morfolínico LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322 sobre la contracción de la tira de ventrículo derecho de corazón de rata para determinar sus constantes de afinidad (K_D)
- Determinar si el compuesto morfolínico LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322 presentan sinergismo o antagonismo sobre la contracción del músculo papilar izquierdo y de la tira de ventrículo derecho de corazón de rata

4. MARCO TEÓRICO

4.1 RECEPTORES FARMACOLÓGICOS Y FARMACODINAMIA

La gran mayoría de fármacos actúan por su interacción específica con distintas macromoléculas presentes en las células del organismo, tales como: receptores, enzimas, sistemas de transporte y componentes macromoleculares del aparato genético. El conocimiento de los mecanismos moleculares mediante los cuales se llevan a cabo diversos procesos fisiológicos, los cuales son modificados por los fármacos, nos ayuda a comprender el mecanismo de acción de éstos. Una gran cantidad de fármacos producen sus efectos por interacción con receptores específicos, los cuales al ser activados desencadenan distintas vías de señalización¹⁰.

Por lo cual los receptores se han transformado en el foco de investigación de los efectos de los fármacos y sus mecanismos de acción⁷.

4.1.1 Definición y función

La farmacodinámica o farmacodinamia, se define como el estudio de los efectos bioquímicos y fisiológicos de los fármacos y sus mecanismos de acción, es decir, analiza como el fármaco se une a su molécula diana, como desencadena uno o varios mecanismos de acción y como posteriormente produce el efecto determinado¹¹. El análisis de la acción medicamentosa busca definir las interacciones químicas o físicas entre el fármaco y la "célula blanco" e identificar la sucesión o secuencia completa y amplitud de acciones de cada agente. La investigación en farmacodinámica permite obtener conocimientos fundamentales de la regulación bioquímica y fisiológica⁶.

Los efectos de casi todos los fármacos son consecuencia de su interacción con componentes macromoleculares del organismo; dichas interacciones modifican la función del componente pertinente y con ello inician los cambios bioquímicos y fisiológicos que caracterizan la respuesta o reacción del fármaco⁶.

De tal manera que cuando se define un fármaco como una sustancia capaz de modificar la actividad celular, se está afirmando que el fármaco no origina mecanismos o reacciones desconocidos por la célula hasta entonces, sino que se limita a estimular o a inhibir los procesos propios de la célula¹².

Los fármacos se unen a un tipo de moléculas que una vez modificadas por el fármaco, originan cambios fundamentales en la actividad de la célula (equilibrio iónico, fenómenos metabólicos, entre otros) ya sea en el sentido de la estimulación o en el de inhibición. Las diversas acciones de los fármacos se producen por estas modificaciones celulares. Las moléculas con que los fármacos son capaces de interactuar selectivamente, generan como consecuencia de ello una modificación constante y específica en la función celular, se denominan **receptores farmacológicos**¹².

Los receptores son estructuras macromoleculares de naturaleza proteica, asociada a veces a radicales lipídicos o hidrocarbonados, que se encuentran localizados en gran número en las membranas externas, en el citoplasma y en el núcleo celular¹³.

El receptor presenta por lo tanto dos funciones fundamentales: unir al ligando específico y promover la respuesta efectora⁵.

4.1.2 Interacciones fármaco-receptor

El papel de un receptor consiste en reconocer una señal química y diferenciar entre esta señal y otras moléculas. La interacción fármaco-receptor se acopla después con un mecanismo efector para proporcionar una respuesta celular apropiada. La presencia de receptores en un sitio anatómico determina la naturaleza selectiva de muchos efectos farmacológicos¹⁴.

Las sustancias que actúan sobre los receptores específicos, se pueden clasificar según su acción sobre el receptor. Los **agonistas** son fármacos que presentan la capacidad de modificar la molécula receptora desencadenando un efecto. Mientras que los agentes **antagonistas** se fijan al receptor pero no inducen su estado activo.

Sin embargo, dado que los antagonistas ocupan el receptor impiden que los agonistas se fijen y, por consiguiente, bloquean su acción. Su presencia reduce la magnitud del efecto del agonista.

Existen dos tipos de antagonistas: competitivos y no competitivos¹⁵.

Los **antagonistas competitivos** se fijan reversiblemente a los receptores y tienen el efecto de diluir los receptores, de tal manera que: el efecto máximo no disminuye. Esto

refleja el hecho de que el efecto del antagonista puede ser superado mediante un aumento de la concentración de agonista, es decir, el bloqueo se puede remontar. En éste caso el receptor que en forma normal sufre un cambio de configuración debido a la combinación con el agonista, la molécula del antagonista puede ocupar el sitio sin producir el cambio esencial en la configuración. La interacción que resulta se caracteriza porque la curva de concentración-efecto en presencia del antagonista es paralela a la correspondiente al agonista solo y se encuentra desplazada a la derecha de ésta y ambas curvas alcanzan el valor máximo de $E_{m\acute{a}x}$ (Efecto máximo). Esta última característica puede observarse con mayor claridad en una gráfica de doble recíproca, la cual se ha aplicado ampliamente para analizar los antagonismos, en la que ambas líneas tienen un punto de intersección común, pero distinta pendiente. El antagonista ha reducido la afinidad del agonista sin afectar su actividad intrínseca o eficacia^{15, 16, 17}.

Algunos antagonistas tienen una gran afinidad por los receptores o los afectan irreversiblemente inactivándolos, por lo que el efecto máximo al agonista no reaparece aunque se aumente la concentración de éste. El antagonista se puede combinar con el receptor en el mismo sitio en que generalmente se combina el agonista, pero en una forma tan firme que no pueda ser desplazado. Alternativamente, el antagonista se puede combinar 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. Más aún, el antagonista puede inducir por sí mismo un cambio en la configuración del receptor que inhiba la reactividad del sitio donde debería interactuar el agonista. Éstos son conocidos como **antagonistas no competitivos** o irreversibles. Deprime el efecto máximo, lo cual refleja el hecho que el efecto del antagonista no puede ser superado mediante la adición de concentraciones mayores de agonista. Se caracteriza por un desplazamiento no paralelo de la curva de concentración-efecto original con depresión de la respuesta máxima. En la gráfica de doble recíproca se mostraría que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca como la afinidad del agonista^{15, 16, 17}.

4.2 ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LA ACCIÓN DEL FÁRMACO.

La relación entre la concentración del fármaco y su efecto, es uno de los aspectos más importantes en farmacología.

Frecuentemente se emplean sencillas preparaciones de tejidos aislados, *in vitro*, para identificar y cuantificar los efectos básicos de los fármacos. Tales tejidos, aunque están aislados del cuerpo, pueden mantenerse en un estado razonablemente satisfactorio durante algún tiempo; en estas circunstancias, la relación entre la concentración y el efecto tenderá a ser más significativa⁸.

4.3 RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIÓN DEL FÁRMACO Y RESPUESTA

La relación entre la concentración de un fármaco y la respuesta clínica observada puede ser compleja; sin embargo, en sistemas *in vitro* cuidadosamente controlados a menudo es sencilla y puede describirse con precisión matemática. Esta relación ideal subyace a la más compleja entre la concentración y el efecto, que cuando se administran fármacos a los pacientes⁷.

4.3.1 Curvas de Concentración – Efecto

Cuando se compara en una gráfica el efecto contra la concentración o el logaritmo de la concentración, la curva es, característicamente, casi simétrica y en forma de “S” o sigmoidal. La representación del efecto de un fármaco esta en función del logaritmo de la concentración empleada, conocida habitualmente como una curva *log concentración-efecto*^{8, 14} (Figura 1).

Las curvas log concentración-efecto al presentar la forma característica de “S”, facilita el análisis estadístico en su sección media ya que es aproximadamente recta.

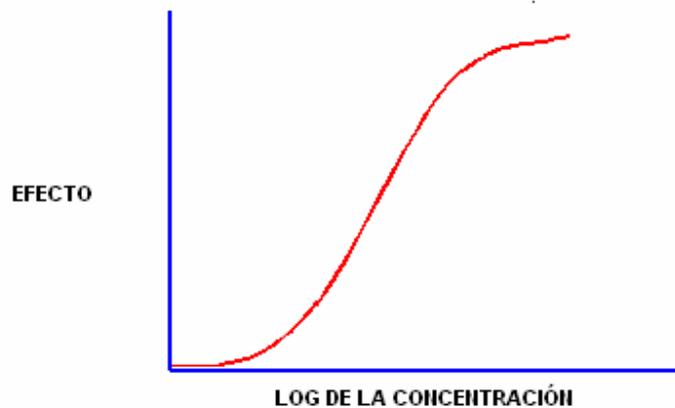


Figura 1. Curva teórica log concentración-efecto, véase forma característica sigmoide.

En la curva de concentración-efecto, obtenida en experimentos con tejidos aislados, se refleja la variación en la sensibilidad de las células individuales que responden en una forma de todo o nada ante el fármaco.

Muchos fármacos cuyo mecanismo de acción es idéntico, o por lo menos similar, producen el mismo efecto. En estos casos puede esperarse que las curvas log concentración-efecto de los fármacos sean paralelas entre sí¹⁸ (Figura 2).

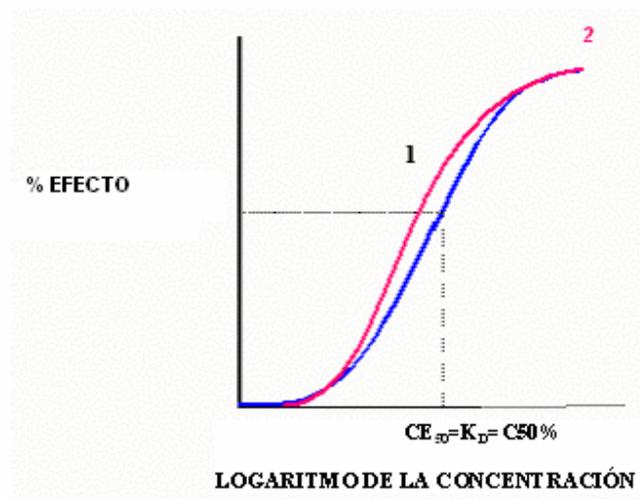


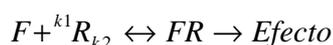
Figura 2. Curva teórica log concentración-efecto de 2 fármacos, tienen un efecto similar con diferentes CE_{50} . Ver texto 4.3.2

4.3.2 Análisis de K_D

Los receptores determinan, en gran parte, las relaciones cuantitativas entre la dosis o concentración de un fármaco y sus efectos farmacológicos. 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^{7, 12}.

Inicialmente, las fuerzas electroestáticas atraen el fármaco hacia el receptor, si la forma o estructura 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 no competitivos, de forma permanente por enlaces covalentes más fuertes que los anteriores. Cuanto mayor es el número de enlaces, mayor es el ajuste complementario entre el fármaco y el receptor, y por tanto, mayor es la afinidad del fármaco por el receptor¹⁵.

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 ecuación¹⁸:



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 compensación¹⁸:

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

con unidades de concentración molar⁻¹. La *constante de disociación*, K_D , es el recíproco de la constante de asociación ($1/K_a$), se expresa en unidades de concentración molar y constituye un índice de afinidad más utilizado, por lo que se le asigna el símbolo K_D ;

también es el nivel de fármaco al que 50% de los receptores están ocupados ($C_{50\%}$ ocupación). Esta constante es igual a la razón de la constante de velocidad de compensación entre la constante de la velocidad de inicio ($K_D=k_2/k_1$)¹⁸.

Así pues, en estas condiciones K_D es igual a la concentración del fármaco que indica aquella concentración de fármaco libre necesaria para saturar el 50% de los receptores (Figura 3). Cuando el valor de la K_D sea bajo la afinidad será alta¹⁴.

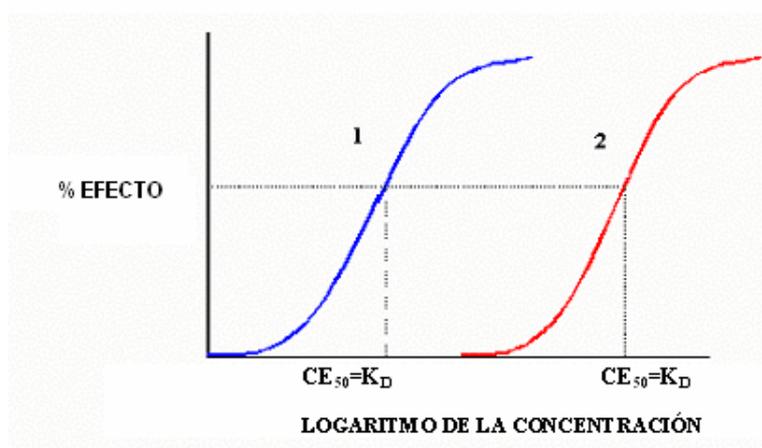


Figura 3. Curvas teóricas de respuesta de dos fármacos 1 y 2, en donde se muestra que el índice de afinidad o K_D equivale al nivel del fármaco que ocupa el 50% de los receptores ($C_{50\%}$), es decir, la dosis efectiva 50 (CE_{50}).

4.4 RECEPTORES ADRENÉRGICOS α

Ya que los fármacos se unen a receptores específicos, activando agonistas e inactivando antagonistas. Los sitios del receptor pueden tomar la forma de receptores de membrana (como en el caso de la mayoría de los fármacos solubles en agua y las hormonas), canales de iones, complejos de receptores, sistemas enzimáticos y otras proteínas citoplasmáticas y nucleares. Los receptores adrenérgicos (ARs) son receptores unidos a la membrana, que a su vez se ligan a las catecolaminas (hormonas endógenas, epinefrina y norepinefrina, y otros fármacos sintéticos)¹⁹.

La unión de fármacos agonistas a la superficie extracelular de los receptores adrenérgicos, produce un cambio en la conformación del receptor, pasando de la forma inactiva a la activa. Esta conformación puede interactuar con el segundo mensajero por el sistema efector en forma directa (E) o por vía intermediaria como las proteínas guanina nucleotídico (G).

4.4.1. Definición

Los receptores adrenérgicos α son un grupo heterogéneo de receptores que median las acciones centrales y periféricas de las aminas adrenérgicas (catecolaminas) noradrenalina y adrenalina. Constituyen una subfamilia de receptores con siete dominios transmembranales que se acoplan a proteínas G. Se ha aceptado la existencia de dos grupos denominados α_1 y α_2 ^{20, 21}.

Para la caracterización de estos subtipos de receptores se han empleado técnicas de clonación molecular y estudios de unión con radioligandos. El empleo de agonistas (como epinefrina, fenilefrina, norepinefrina) y antagonistas (fentolamina) ha permitido la caracterización del perfil farmacológico de cada subtipo. Distintos agonistas que interactúan con un mismo subtipo de receptor activan con diferente intensidad las mismas vías de señalización^{20, 22, 23, 24}.

Seis subtipos de receptores adrenérgicos han sido descritos: α_{1a} , α_{1b} , α_{1d} , α_{2a} , α_{2b} , α_{2c} . No obstante, la farmacología cardiovascular todavía se basa en los cuatro receptores adrenérgicos clásicos²⁵:

- Receptores alfa₁ (α_1)
- Receptores alfa₂ (α_2)
- Receptores beta₁ (β_1)
- Receptores beta₂ (β_2)

4.4.2. Distribución

Los receptores adrenérgicos α están distribuidos diferencialmente en varios tejidos y órganos de mamíferos que incluyen al humano. Entre los tejidos en que se han localizado incluyen cerebelo, corteza cerebral, hipocampo, tallo cerebral, próstata, riñón, bazo, hígado, pulmón, corazón, músculo esquelético, entre otros. Cada subtipo presenta distintos perfiles de distribución tisular, incluso distinta distribución subcelular por ejemplo el subtipo α_{1a} se localiza predominantemente en el espacio intracelular y el subtipo α_{1b} se encuentra principalmente en la superficie celular^{20, 23, 26}.

4.4.3. Respuesta adrenérgica α sobre músculo cardiaco

Estos receptores se encuentran en la membrana postsináptica de los órganos efectores y pueden mediar muchos efectos característicos, que se designaron de forma inicial como adrenérgicos α , incluida la contracción del músculo liso²⁷.

El primer evento que ocurre en la acción adrenérgica, es la interacción fármaco receptor, donde ocurre un proceso en la membrana que permite un cambio conformacional producido en el receptor, que se transmite a moléculas de proteínas G. Existen receptores y proteínas G estimuladoras (Rs y Gs) e inhibidoras (Ri y Gi).

La interacción con el complejo fármaco - receptor produce modificaciones en la proteína G, la cual se desprende de GDP (guanosina difosfato) y se une a GTP (guanosina trifosfato), procedente del citoplasma. La fijación de GTP capacita a la proteína Gs (proteína G estimuladora) para activar a la adenilato ciclasa²⁸.

4.4.3.1. Características del ventrículo derecho y músculo papilar^{29, 30}.

Existe escasa información en los libros de Cardiología y Fisiología actuales sobre la mecánica del ventrículo derecho (VD). Durante varias décadas en contraste con el ventrículo izquierdo (VI), motivo de exhaustivos estudios acerca de su función, el VD ha sido relegado en importancia, adjudicándole las mismas propiedades mecánicas que para el VI con la salvedad de tener una presión y fracción de eyección menores.

Diversos hechos anatómicos definen morfológicamente al ventrículo derecho e izquierdo, los cuales también presentan músculos papilares derechos e izquierdos. Estos hechos anatómicos son sus características en la configuración externa e interna. Externamente, el VD tiene una forma triangular y una pared fina en cambio el VI tiene un contorno redondeado recordando la forma de una bala con pared gruesa. Pero son los rasgos morfológicos internos los que definen y diferencian ambos ventrículos. Un corte transversal de ambos ventrículos, entre la punta y la base permite completar la concepción morfológica de ambos ventrículos: la forma cilíndrica del VI frente a la forma semilunar del VD. A nivel muscular, el VD presenta trabéculas musculares gruesas, poco numerosas y rectas, en cambio en el VI son finas, numerosas y

oblicuas. Los músculos papilares en el VD son pequeños, numerosos, a nivel septal y de su pared libre. En cambio, en el VI, existen dos músculos papilares grandes, bien desarrollados (anterolateral y posteromedial), unidos únicamente a su pared libre (“septofóbicos”).

También a nivel bioquímico, *in vitro*, se han encontrado diferencias en el VD tanto en la generación, como en la utilización de la energía química. Así, con respecto al VI, el VD tiene menor densidad de mitocondrias, una menor velocidad máxima de oxidación de los sustratos, una más baja actividad de la enzima lactato dehidrogenasa (LDH) y creatinquinasa (CK) y una más elevada relación de las isoformas de miosina de cadena pesada alfa/beta. Estas características del miocardio del VD están de acuerdo con un menor requerimiento metabólico con respecto al del VI.

Analizando el efecto fuerza-velocidad, en experimentos realizados en músculos papilares, se demuestra que a bajas cargas los músculos papilares del VD tienen una mayor velocidad de acortamiento que los correspondientes al del VI. Esta diferencia se debería a la mayor proporción de una isoforma de miosina en el músculo papilar del VD con respecto al del VI. Esto indicaría que el VD está “organizado” o “programado” para realizar una contracción más rápida y con un menor costo energético, así como para el desarrollo fundamentalmente de acortamiento que dé fuerza o tensión durante la contracción muscular.

4.4.4. Vías de señalización

Principalmente los receptores adrenérgicos α_1 están asociados a la hidrólisis de fosfatidilinositol por activación de fosfolipasa C (PLC) a través de proteína G, en menor grado producen incremento de los niveles de AMPc, por acción sobre adenililciclase a través de la proteína G_s , activan el intercambiador de Na^+/H^+ , abren los canales de K^+ , potencian corrientes de Ca^{2+} tipo L, promueven la liberación de ácido araquidónico probablemente por activación de fosfolipasa A (PLA) y fosfolipasa D (PLD)^{20, 22, 24, 26, 31, 32, 33}.

Los receptores α_2 inhiben la acumulación de AMPc a través de las proteínas G_i en menor grado activan PLC, activan el intercambiador Na^+/H^+ , provocan influjo de Ca^{2+} a

través de canales operados por receptor, inhiben otros tipos de canales Ca^{2+} y activan PLA_2 ^{20, 24, 31, 32}.

4.4.5. Vía de señalización de la interacción Fenilefrina-receptor adrenérgico α_1

La fenilefrina es un agente adrenérgico sintético de acción directa que se une en forma dominante a los receptores α , más a los de tipo α_1 y menos a los α_2 . La fenilefrina es un vasoconstrictor que eleva la presión sistólica y diastólica²⁷.

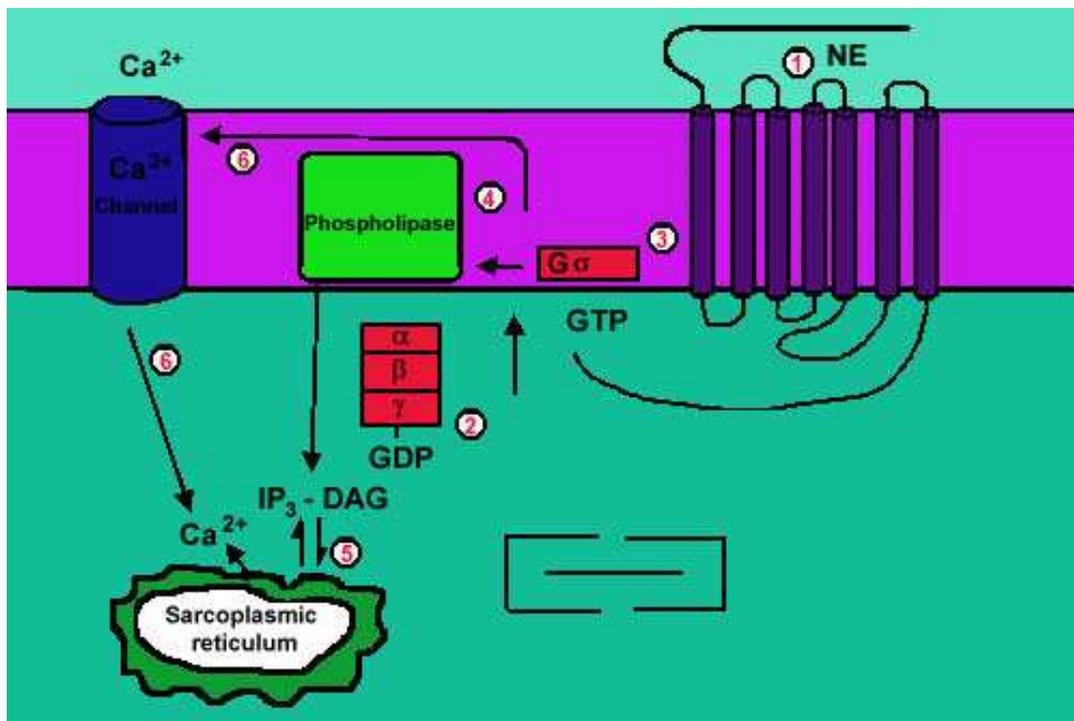


Figura 4. Mecanismo de acción de los receptores adrenérgicos α_1 en la contracción del músculo. 1. La fenilefrina (NE) se une al receptor α_1 del músculo. El receptor activa una proteína G típica con 7 regiones acopladas a la membrana. 2. En el estado de unión a la proteína G se desprende GDP. 3. El receptor promueve intercambio de GDP para GTP y descenso de $\text{G}^{\alpha}/\text{GTP}$. 4. La proteína G activa una fosfolipasa C que lleva a un aumento intracelular de segundos mensajeros, inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG). 5. IP_3 liga a los sitios específicos en el retículo sarcoplásmico y estimula el descenso de Ca^{2+} intracelular. 6. La entrada de Ca^{2+} se activa.

Los receptores adrenérgicos α_1 activan a una proteína G (tipo G_9 o G_{11}) y ésta a una PLC, que hidroliza selectivamente al fosfatidilinositol, 4, 5 bifosfato (IP_2) en dos mensajeros, el diacilglicerol (DAG) que activa a la proteína cinasa C (PKC) y del inositol 1, 4, 5 trifosfato (IP_3) que es capaz de liberar calcio de depósitos intracelulares con un aumento en la actividad de proteínas contráctiles sensibles a este ión²⁰ (Figura 4).

Durante el potencial de acción cardiaco se produce la activación de los canales voltaje-dependientes de calcio tipo L de la membrana y se genera una corriente lenta de entrada de calcio, la cual libera el calcio almacenado en el retículo sarcoplásmico, incrementando la concentración intracelular de calcio, lo que conduce a un incremento de la fuerza contráctil. Sin embargo, el DAG también formado por la activación de la PLC, estimula la PKC y ésta pudiera fosforilar el canal de Ca^{2+} tipo L modulando su actividad. De hecho, la PKC puede provocar un aumento en Ca^{2+} intracelular en células ventriculares^{34, 35}.

Cabe señalar que los receptores adrenérgicos α_1 en miocitos de ventrículo de rata potencian corrientes de Ca^{2+} tipo L de forma dependiente de PKC (proteína cinasa C). El aumento de Ca^{2+} intracelular y la activación del PKC activan estos canales^{22, 31}.

4.5. Compuestos Morfolínicos

En el laboratorio de Química Medicinal de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan Campo-1, se ha llevado a cabo la investigación en el diseño y síntesis de compuestos, entre ellas, la reacción química entre un fenol sustituido, un formaldehído más una molécula de morfolína o tiomorfolína (Figura 5 y Tabla 1), obteniendo así una serie de compuestos con clave LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322, a los cuales se les realizó el estudio de la actividad biológica dentro del Laboratorio de Farmacología del Miocardio, a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar, de la misma entidad académica, encontrándose que estos compuestos derivados del fenol mostraban una respuesta hipotensora, al ser probados en un modelo invasivo de rata normotensa e hipertensa espontánea, lo cual es un gran logro dentro de la investigación científica dentro de la institución académica y del país; por lo cual se espera que esta serie de compuestos resulten ser más selectivos y potentes^{36, 37}.

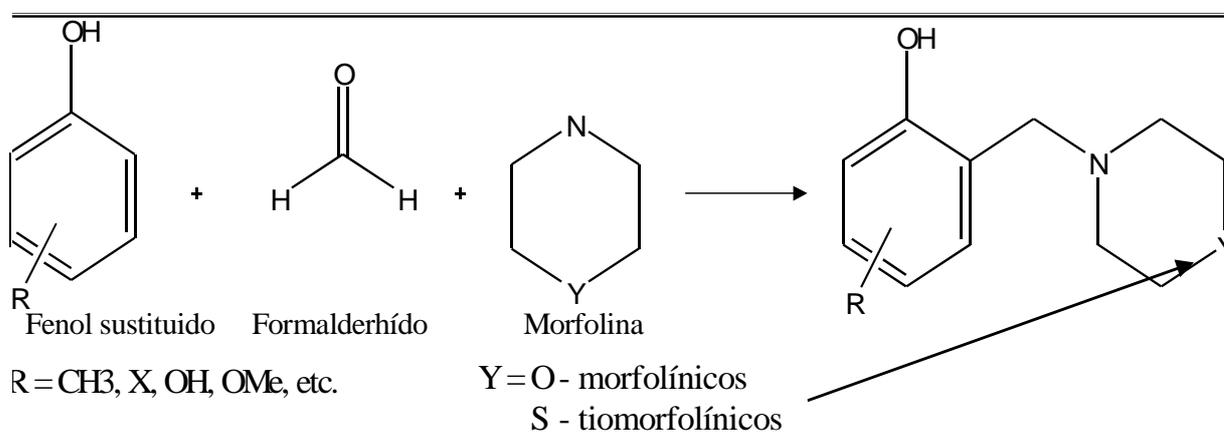
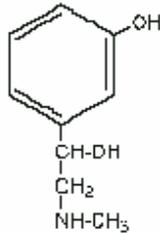
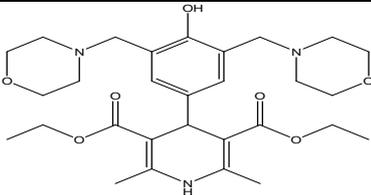
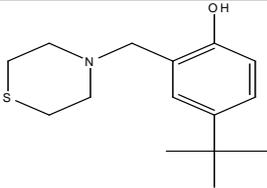
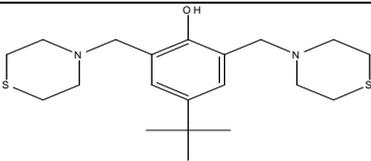
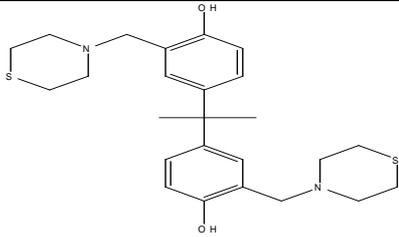
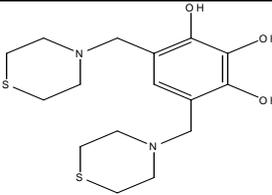


Figura 5. Reacción química de síntesis de la serie de compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos.

Tabla 1: Estructuras químicas de los compuestos evaluados en los tejidos del músculo papilar izquierdo y la tira de ventrículo derecho corazón de rata Wistar.

COMPUESTO	ESTRUCTURA
FENILEFRINA	
LQM 301	
LQM 318	
LQM 319	
LQM 320	
LQM 322	

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material

Soluciones:

- Solución Fisiológica de Krebs
- Carbógeno (**PRAXAIR**: 95% O₂ y 5% CO₂)
- Compuestos a evaluar (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322)
- Solución de HCl (0.01 M, Reactivo analítico **MONTERREY®**)
- Pentobarbital Sódico (**ANESTESAL®** 0.063 g/mL)

Material:

- Estuche de disección
- Tabla de disección
- Jeringas de insulina (1 mL)
- Cajas petri
- Hilo seda de 5/0
- Micropipetas **Transferpette®** de 100 µL y 1000 µL
- Viales ámbar

Material Biológico:

- Animales de Laboratorio proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Medicina-UNAM (Ratas Wistar macho, peso promedio entre 250-350g)

Equipo:

- Computadora integrada con el software **ACQ 381 KNOWLEDGE**.
- Fuente de poder **STMISOC BIOPAC Systems** (hasta 1mA)
- Baño **PolyScience® 801** (0-150 °C)
- Termómetro **Widder®** (-20 - +110 °C)
- Balanza Analítica **Sartorius® BL60S** (0.1 mg – 60 g)
- Balanza granataria **OHAUS®** (0.1 – 2610 g)

5.2 Preparación de soluciones

- Preparación de la solución fisiológica Krebs. Los compuestos fueron pesados (ver Tabla 2) el día de su uso y disueltos en agua destilada.

Tabla 2. Composición de la solución fisiológica de Krebs, cantidades necesarias para preparar 1 L de solución.

SOLUCIÓN DE KREBS	
COMPUESTO	PESO (g)
NaCl (Tecsiquim®)	6.9
Dextrosa (Anasol®)	2.1
NaHCO ₃ (Meyer®)	2.1
KCl (Anasol®)	0.35
MgSO ₄ *7H ₂ O (Anasol®)	0.29
KH ₂ PO ₄ (Anasol®)	0.16
CaCl ₂ *2H ₂ O (Anasol®)	0.37
Ca-Na-EDTA (Anasol®)	0.01

- Para determinar la curva Concentración-Efecto a Fenilefrina, se adicionaron las concentraciones de: 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M en un volumen de 0.1 mL. Para éste compuesto se realizó una n = 6.
- Todos los compuestos problema (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322), fueron disueltos en un volumen de 0.1 a 0.3 mL de HCl 0.01 M y se llevaron a un volumen total de 1 mL con solución fisiológica de Krebs. Se inicia preparando la concentración de 0.001 M y de ésta se hicieron diluciones de 1:10; trabajando con una concentración de 10^{-7} M de cada compuesto.

5.3 Metodología

Determinación de la curva Concentración-Efecto gradual a Fenilefrina

- Se anestesió a la rata vía intraperitoneal con Pentobarbital Sódico en una dosis de 45 mg/Kg.

- Se colocó sobre la tabla de disección y realizó una toracotomía al animal (Figura 6).

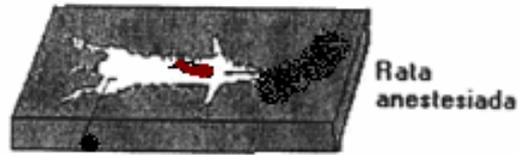


Figura 6. Muestra del animal en la tabla de disección.

- Se extrajo el corazón y se colocó en una caja petri con solución fisiológica de Krebs, (limpiándolo con esta misma solución), con oxigenación (95% O₂ y 5% CO₂), a una temperatura entre 32 - 35 °C.
- Se disecó el ventrículo derecho y se cortó longitudinalmente en tiras de 2 mm de ancho, aproximadamente; posteriormente, se realizó un corte por el séptum localizando los músculos papilares izquierdos (Figura 7) para su disección.

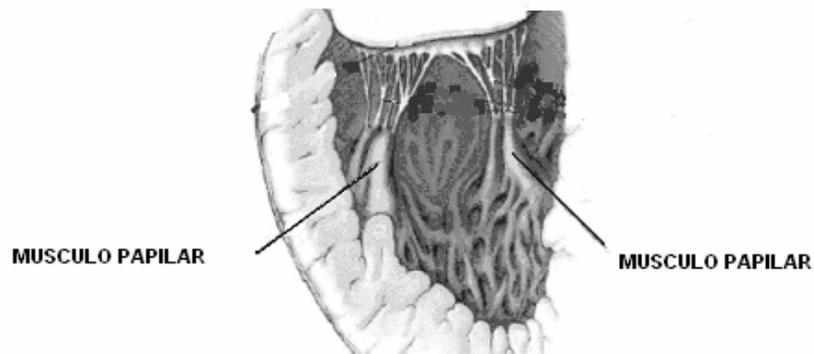


Figura 7. Ubicación de los dos músculos papilares de corazón de rata; mostrados a mayor tamaño.

Montaje de las Preparaciones

- Se colocaron los tejidos en las cámaras de tejido aislado que en su cámara interior contienen solución fisiológica de Krebs, oxigenación y una temperatura de 32 °C (Figura 8). Los músculos papilares izquierdos y las tiras de ventrículo derecho se estimularon con una frecuencia de 1 Hz, con pulsos de duración de 5 ms y un potencial de 30 mV, y la tensión se ajustó en la

preparación a 0.75 g con la finalidad de producir la contracción isométrica máxima.

- Las tensiones fueron registradas en el equipo utilizado, en específico el software ACQ 381 KNOWLEDGE.

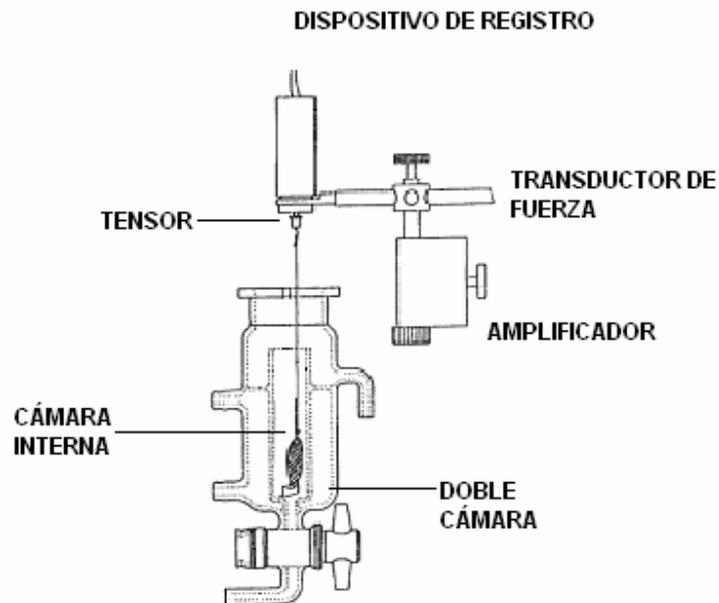


Figura 8: Esquema de una cámara de órgano aislado. Compuesta de una cámara interna que aloja al tejido en un medio líquido en condiciones fisiológicas. El tejido se halla sujeto en ambos extremos, uno fijo y otro móvil unido a un tensor, un transductor de fuerza, un amplificador y un dispositivo de registro. Existe una doble cámara que permite la circulación de agua a 32 °C para mantener la temperatura constante.

- Se dejaron estabilizar las preparaciones por un período de 1 h y se realizaron cambios con solución de Krebs cada 15 min en cada una de las cámaras.
- Posteriormente se administró la fenilefrina en concentraciones graduales, registrando un valor de contracción (g) en el efecto de los mismos.
- Se repitió éste procedimiento hasta obtener n=6 de cada compuesto con músculo papilar izquierdo y tira de ventrículo derecho; se determinó la respuesta a fenilefrina sola.

Determinación de la curva Concentración-Efecto a los compuestos LQM 300s

- Para la administración de los compuestos problema se realiza el mismo procedimiento hasta el tiempo de estabilización (1 hr).
- Posteriormente, los músculos papilares izquierdos y las tiras de ventrículo derecho se incubaron durante 30 min con el compuesto problema (10^{-7} M) para observar el efecto de éstos sobre los receptores adrenérgicos α_1 . al final del periodo de incubación se administró la fenilefrina en concentraciones graduales, registrando un valor de contracción (g) en el efecto de los mismos.

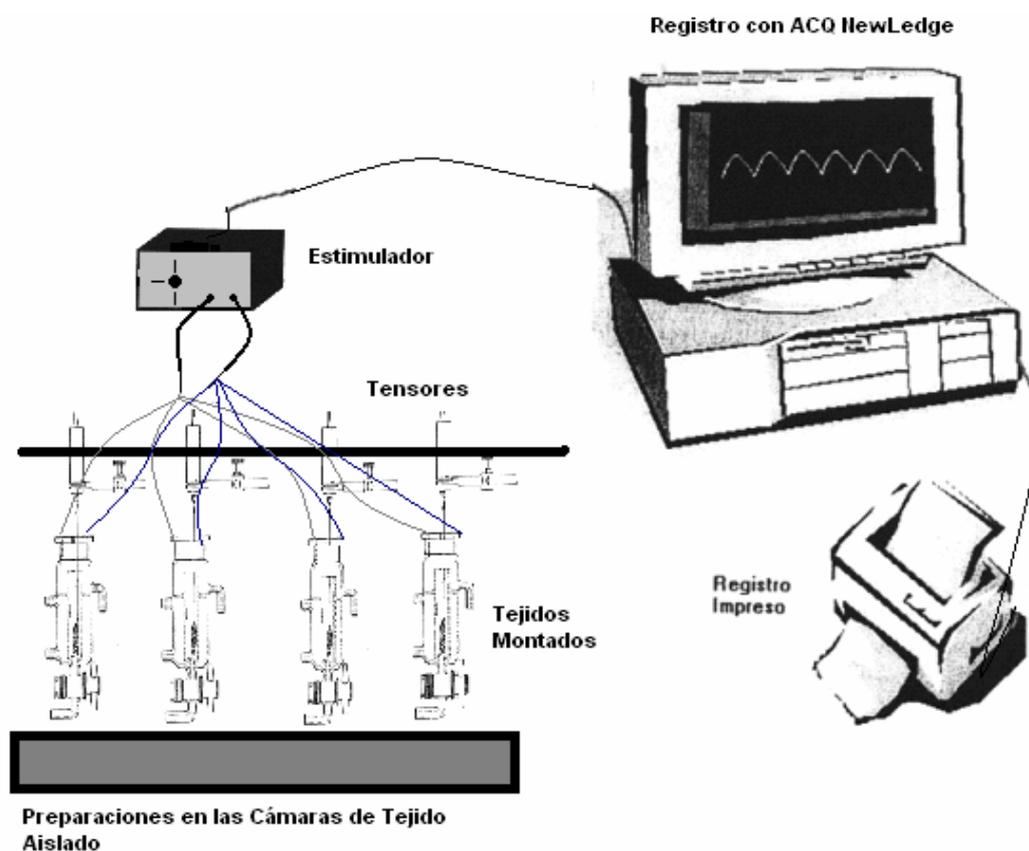


Figura 9. Esquema general de trabajo. Se muestran las cámaras, el sistema de tensión, el estimulador y el dispositivo de registro.

- Se repitió éste procedimiento hasta obtener $n = 6$ de cada compuesto con músculo papilar izquierdo y tira de ventrículo derecho. Se determinó la respuesta a fenilefrina en presencia de los compuestos LQM 300s.

6. RESULTADOS

6.1 Determinación del efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en músculo papilar izquierdo

Las Curvas Concentración-Efecto se realizaron con la finalidad de determinar el efecto que presentan los compuestos de la serie LQM 300s (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322) sobre los receptores adrenérgicos α_1 , mediante la contracción producida con el agonista específico a estos receptores, Fenilefrina.

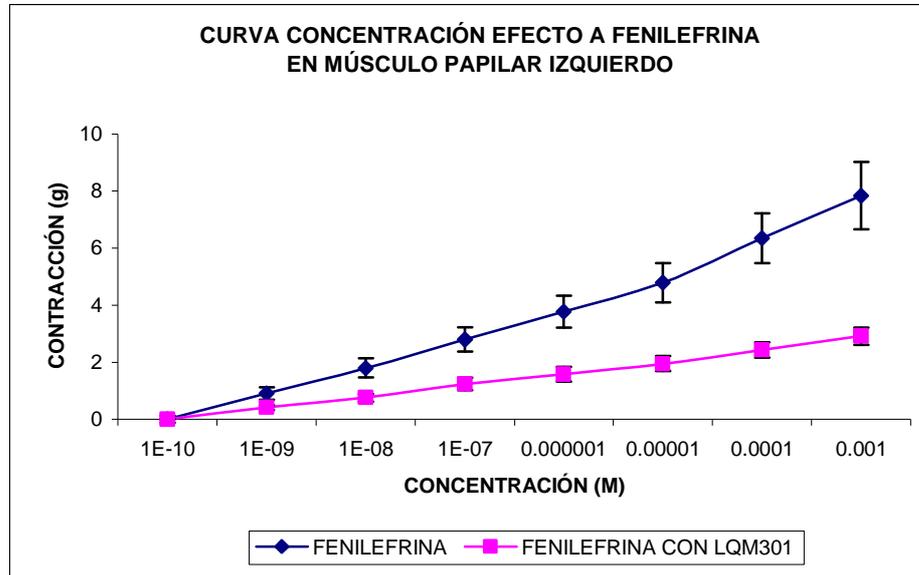
De los compuestos LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322, obsérvese (Figura 10 A) que la disminución de la contracción muscular está dada por el compuesto LQM 301 para el cual su efecto es significativo; mientras que los demás compuestos no presentan un efecto significativo en relación al producido con la Fenilefrina a pesar de que muestran una separación entre ambas curvas.

Se realizaron las gráficas de doble recíproca (ver Anexo I), las cuales muestran la relación lineal entre concentración y efecto cuando se grafican los recíprocos de éstas. Éstas gráficas se elaboraron para calcular las constantes de afinidad de cada compuesto así como para determinar el tipo de antagonismo entre estos compuestos.

Las figuras 10, 11, 12, 13 y 14 muestran los efectos antagónicos de los compuestos LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322 sobre la contracción producida por fenilefrina. El compuesto LQM 301 muestra que su efecto sobre el efecto de la fenilefrina es de tipo no competitivo siendo significativo (Figura 10 B). Por otro lado los compuestos el LQM 318, LQM 319 y el LQM 322 tienden a demostrar que su efecto sobre la contracción en músculo papilar izquierdo, es de un antagonismo de tipo no competitivo porque el efecto máximo es menor al de la fenilefrina y su K_D no cambia. Por último el compuesto LQM 320 (Figura 14 B) muestra una tendencia de un antagonismo de tipo competitivo debido a que el efecto máximo no se modifica y la K_D disminuye.

LQM 301

A



B

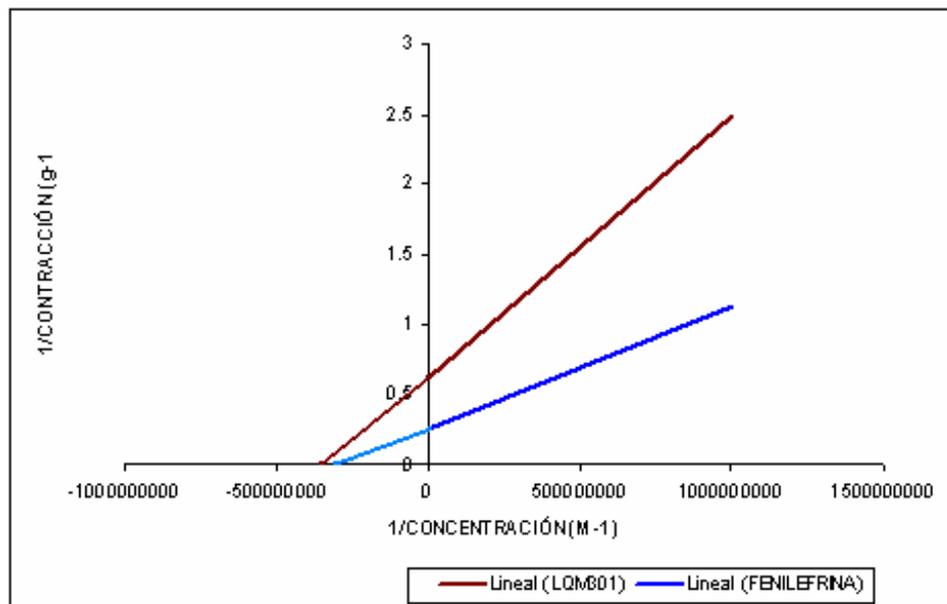
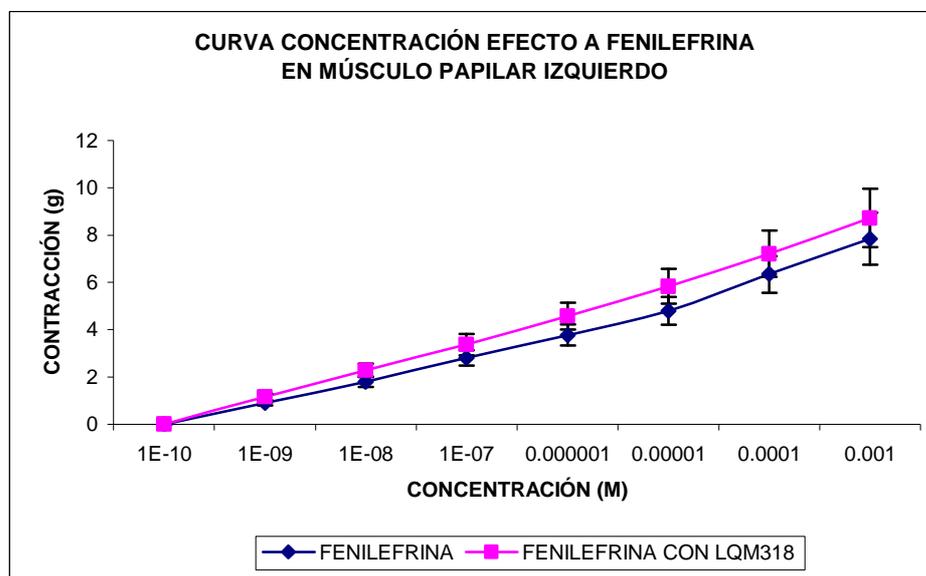


Figura 10. A. Curvas Concentración-Efecto a LQM 301 en un modelo in vitro sobre el músculo papilar izquierdo de rata Wistar. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con fenilefrina en presencia del LQM 301. Los resultados corresponden a un valor promedio \pm error estándar con una $n=6$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 301 fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

LQM 318

A



B

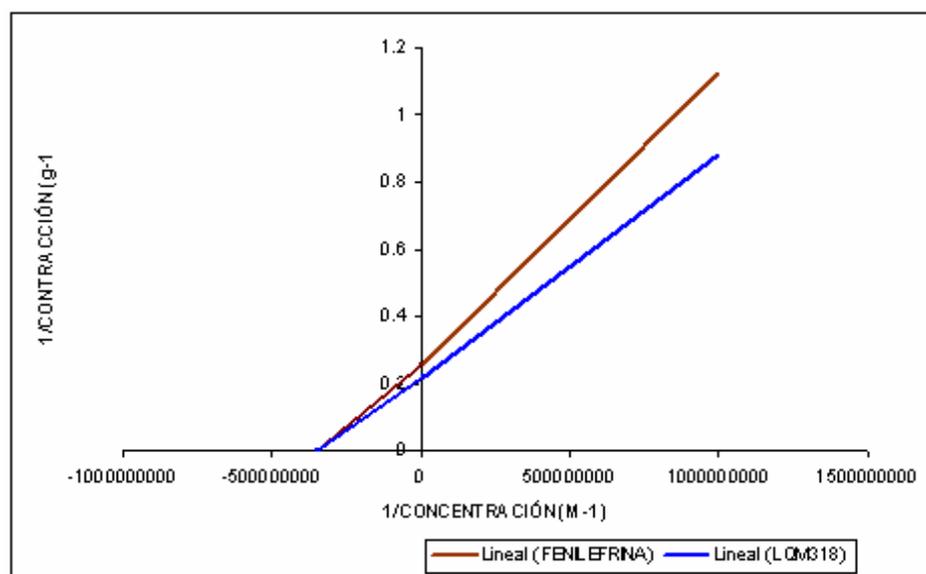
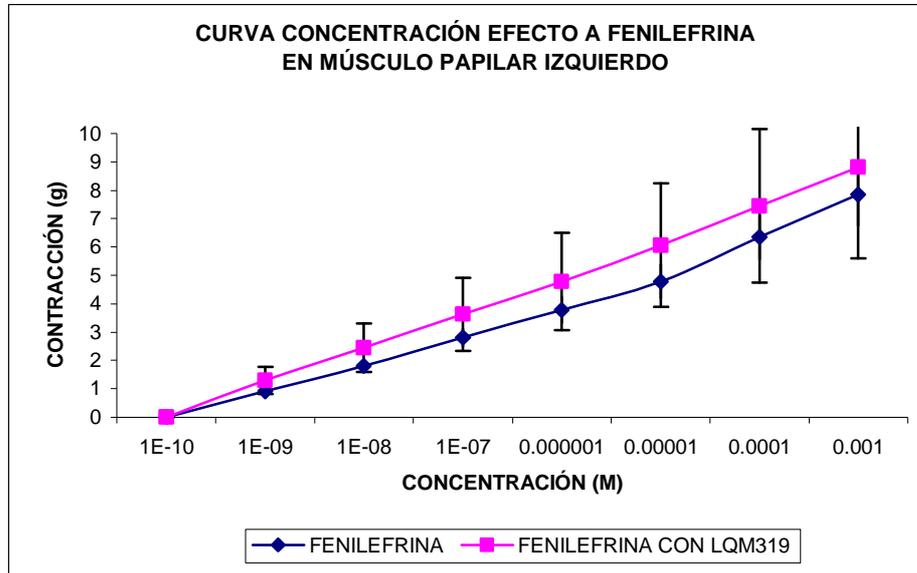


Figura 11. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 318 en un modelo in vitro sobre el músculo papilar izquierdo de rata Wistar. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con fenilefrina en presencia del LQM 318. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n=6, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 318 no fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

LQM 319

A



B

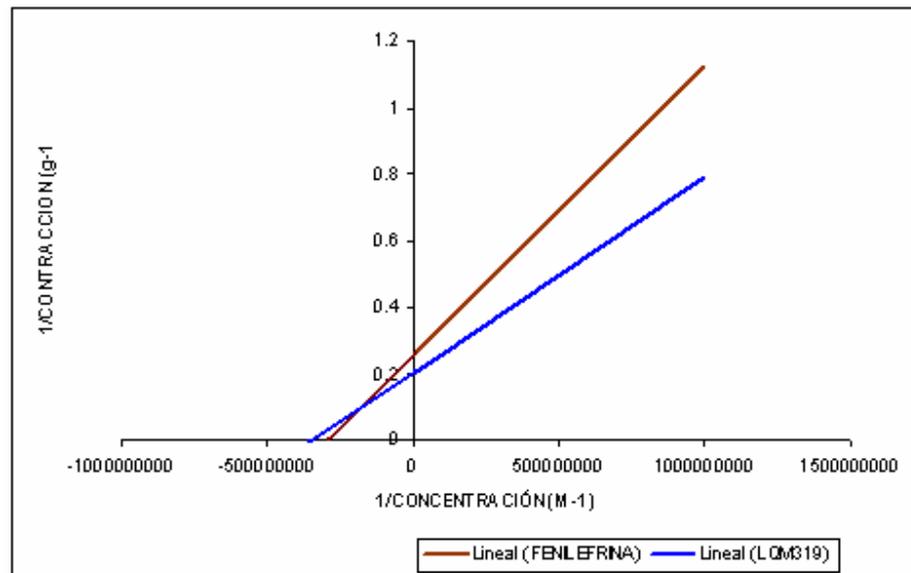
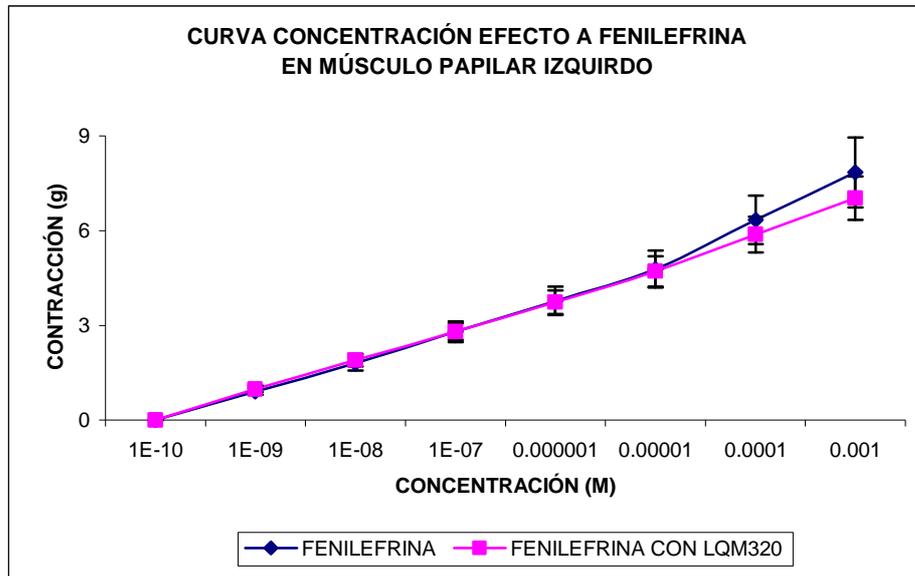


Figura 12. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 319 en un modelo in vitro sobre el músculo papilar izquierdo de rata Wistar. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con fenilefrina en presencia del LQM 319. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n=6, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una p=0.05, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 319 no fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

LQM 320
A



B

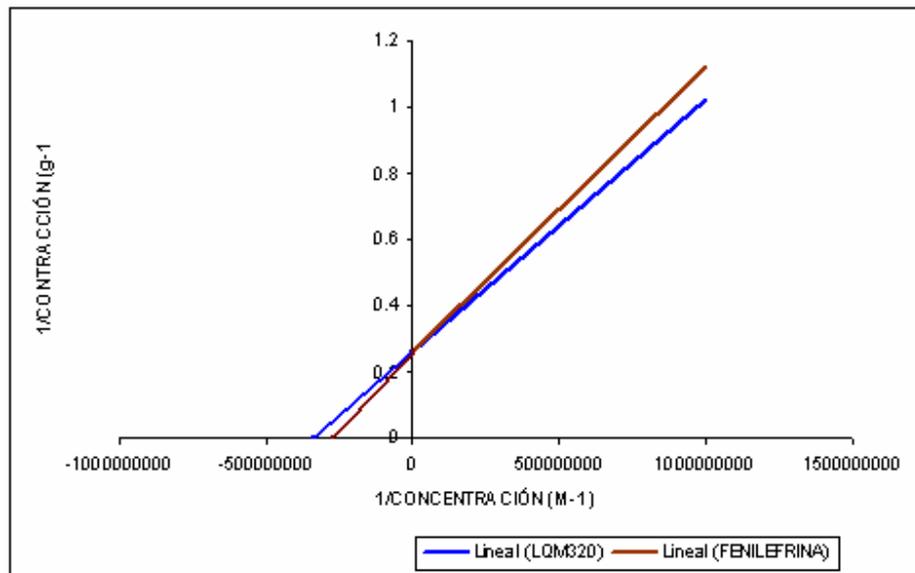
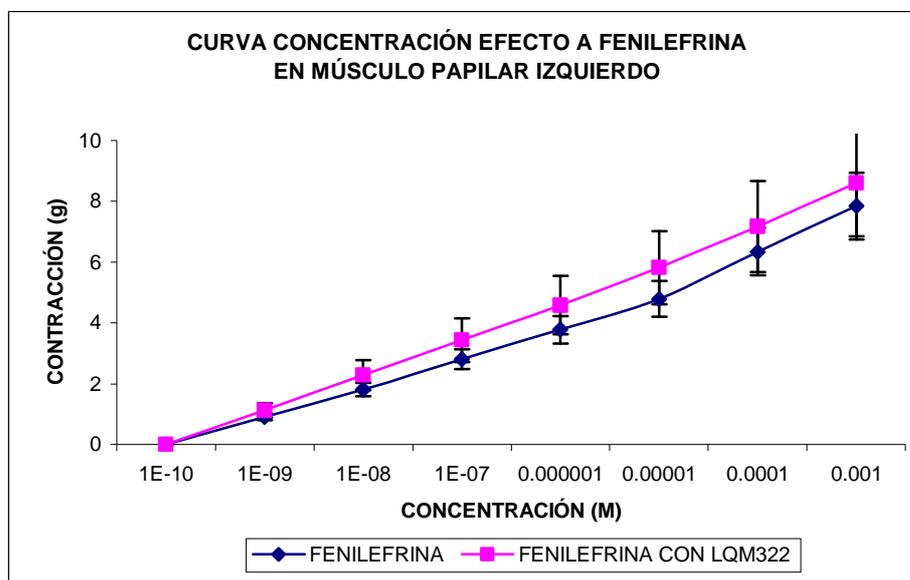


Figura 13. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 320 en un modelo in vitro sobre el músculo papilar izquierdo de rata Wistar. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con fenilefrina en presencia del LQM 320. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n=6, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 320 no fue significativo. Se puede observar que sigue un efecto muy similar al de la Fenilefrina. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista, el agonista conserva su actividad intrínseca (mismo punto de intersección de las ordenadas, mismo efecto máximo) pero disminuye su afinidad.

LQM 322

A



B

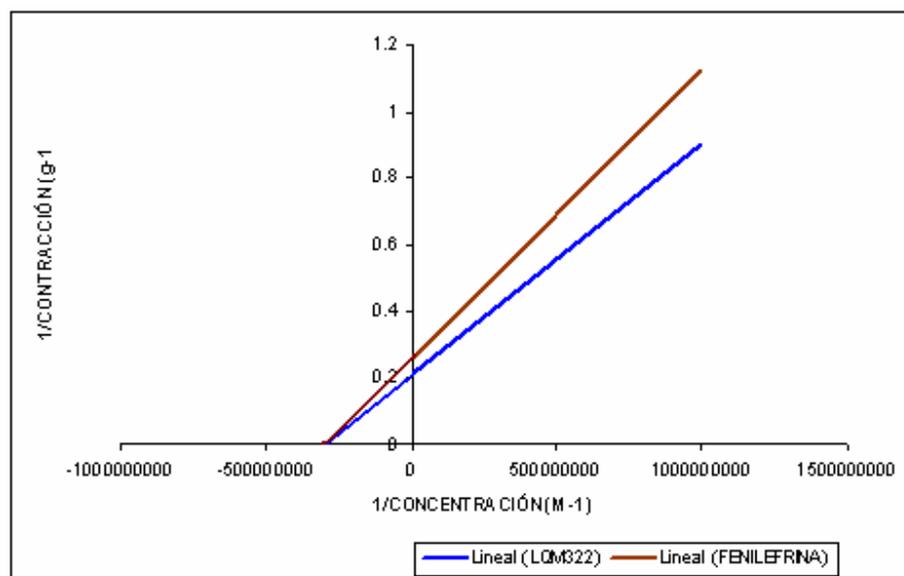


Figura 14. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 322 en un modelo in vitro sobre el músculo papilar izquierdo de rata Wistar. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con fenilefrina en presencia del LQM 322. Los resultados corresponden a un valor promedio +/- error estándar con una n=6, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una p=0.05, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 322 no fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

6.2 Determinación de K_D

Al ajustar la curva Concentración-efecto a fenilefrina y a los compuestos LQM 300s (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322) , en una recta “reciproca doble” se determinaron las constantes de afinidad (K_D), por tanto la afinidad.

Tabla 3. Afinidad obtenida para el músculo papilar, tomando como referencia a la fenilefrina

COMPUESTO	AFINIDAD (10^{-9}) M
	Músculo Papilar Izquierdo
Fenilefrina	3.35 ± 0.1
LQM 322	3.24 ± 0.1
LQM 318	3.10 ± 0.1
LQM 301	2.96 ± 0.3
LQM 320	2.92 ± 0.1
LQM 319	2.86 ± 0.1

6.3 Determinación del % de Efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en el músculo papilar izquierdo.

En base a las Curvas Concentración-Efecto se determinó el % de Efecto de la serie de compuestos morfolínicos (LQM 301), y tiomorfolínicos (LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322) sobre la contracción del músculo papilar izquierdo de corazón de rata Wistar, con la finalidad de obtener las K_D y potencias respectivas a cada compuesto y conocer así su afinidad por el receptor adrenérgico α_1 utilizando como referencia a la Fenilefrina.

Entre los compuestos que muestran una disminución del efecto máximo sobre el músculo papilar en presencia de la fenilefrina, se encuentra el LQM 301 (figura 15), mostrando una diferencia significativa; los compuestos LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM 322, no muestran una diferencia significativa.

LQM 301

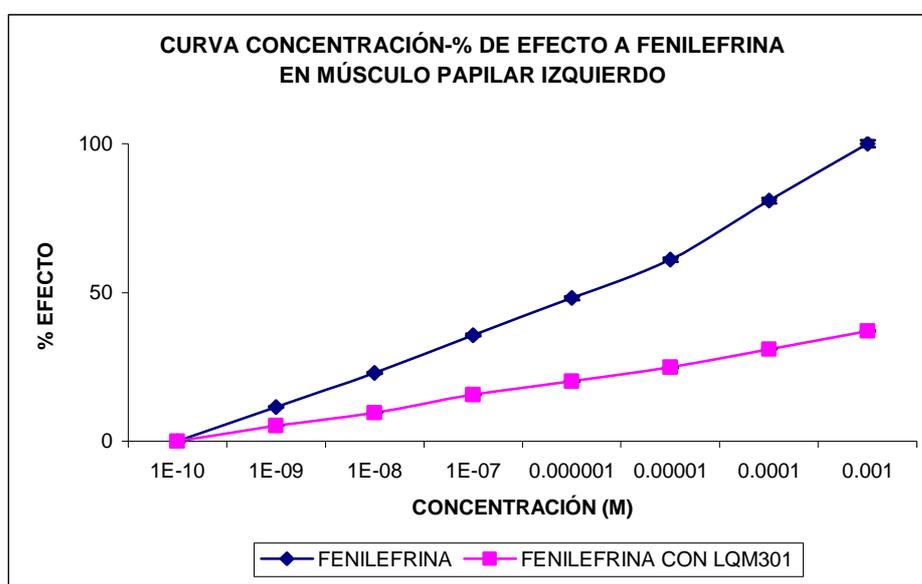


Figura 15. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 301. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 301. La potencia del compuesto morfolínico LQM 301 < Fenilefrina.

LQM 318

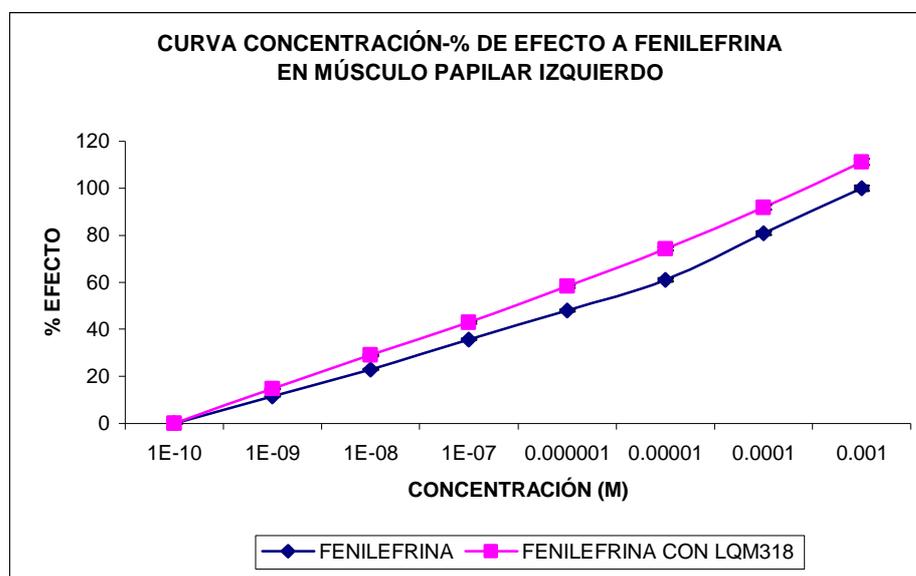


Figura 16. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 318. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 318. El compuesto tiomorfolínico LQM 318 no muestra una potencia significativa en referencia de la Fenilefrina.

LQM 319

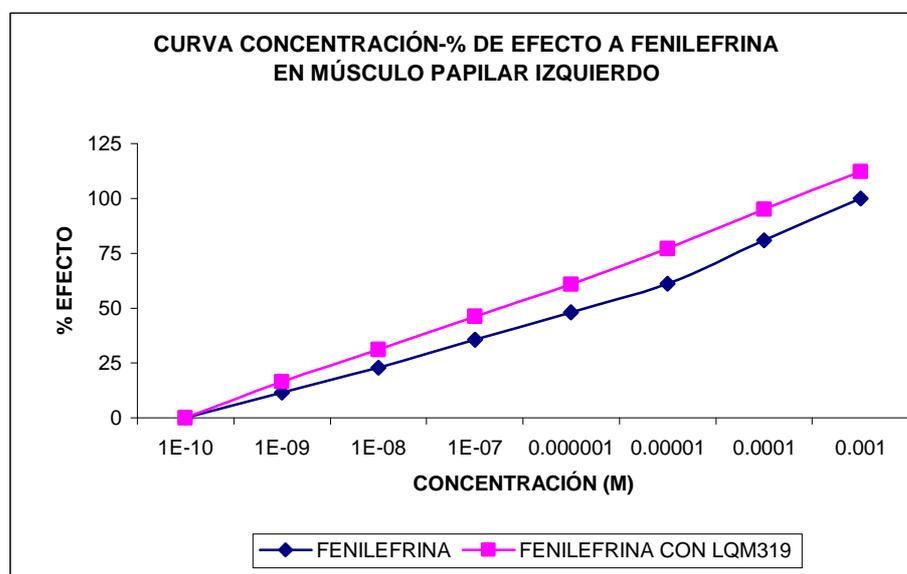


Figura 17. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 319. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 319. El compuesto tiomorfolínico LQM 319 no muestra una potencia significativa sobre la Fenilefrina.

LQM 320

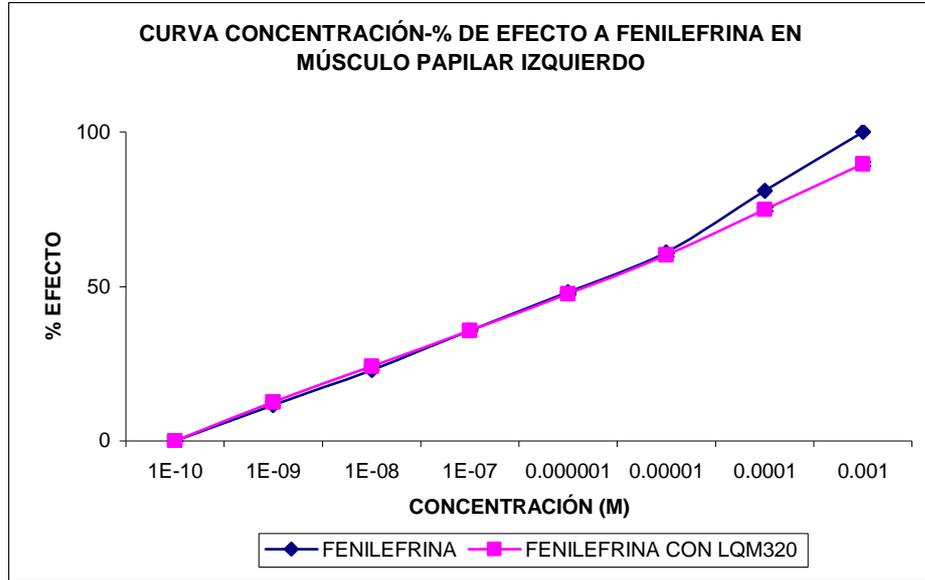


Figura 18. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 320. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 320. La potencia del compuesto tiomorfolínico LQM 320 no es significativa sobre la Fenilefrina

LQM 322

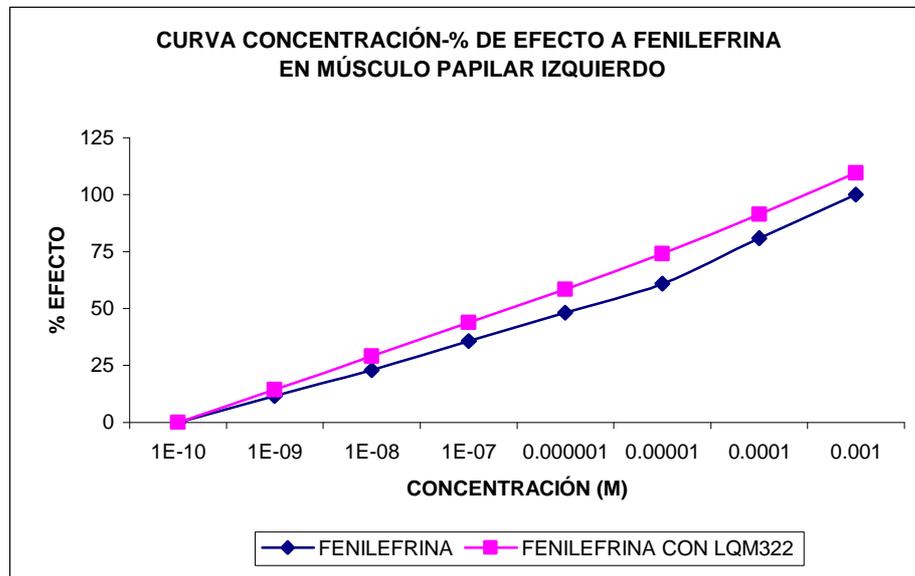


Figura 19. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 322. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 322. El compuesto tiomorfolínico LQM 322 no muestra significancia en referencia a la Fenilefrina

6.4 Determinación del efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en la tira de ventrículo derecho

Las Curvas Concentración-Efecto se realizaron con la finalidad de determinar el efecto que presentan los compuestos de la serie LQM 300s (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322) sobre los receptores adrenérgicos α_1 , mediante la contracción producida con Fenilefrina.

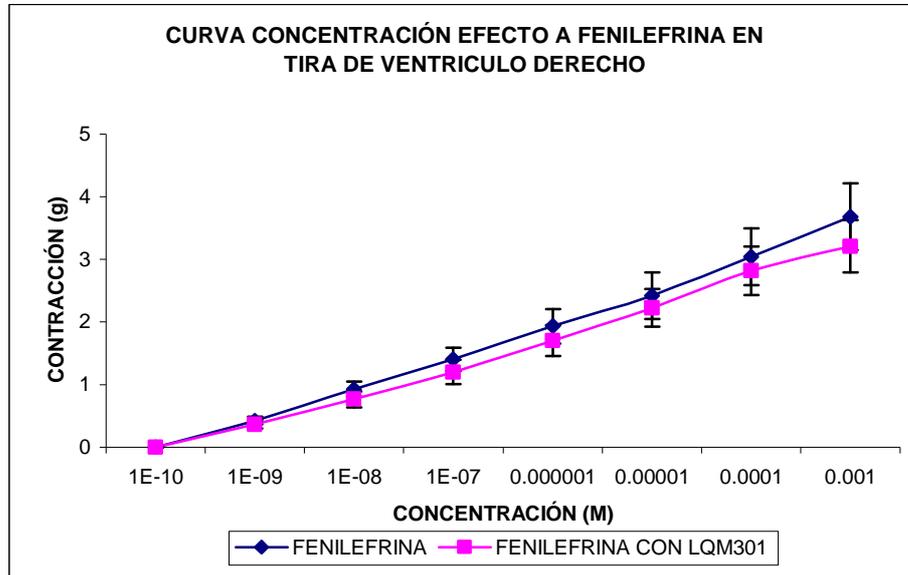
En las figuras 20, 21, 22, 23 y 24 nótese que el aumento de la contracción muscular esta dada por el compuesto LQM 322 para el cual su efecto es significativo; mientras que los demás compuestos a pesar de seguir la tendencia de la Fenilefrina no presentan un efecto significativo.

De igual manera se realizaron las gráficas de doble recíproca (ver Anexo I), la cual se muestra como la relación lineal entre concentración y efecto cuando se grafican los recíprocos de éstas; las cuales se elaboraron para calcular las constantes de afinidad de cada compuesto así como para realizar el análisis de antagonismo.

Obsérvese que todos los compuestos LQM 300s tienden a presentar un antagonismo de tipo no competitivo, siendo sólo significativo para el compuesto LQM 322 (Figura 24 B). Para los demás compuestos la concentración utilizada del antagonista no determina la significancia.

LQM 301

A



B

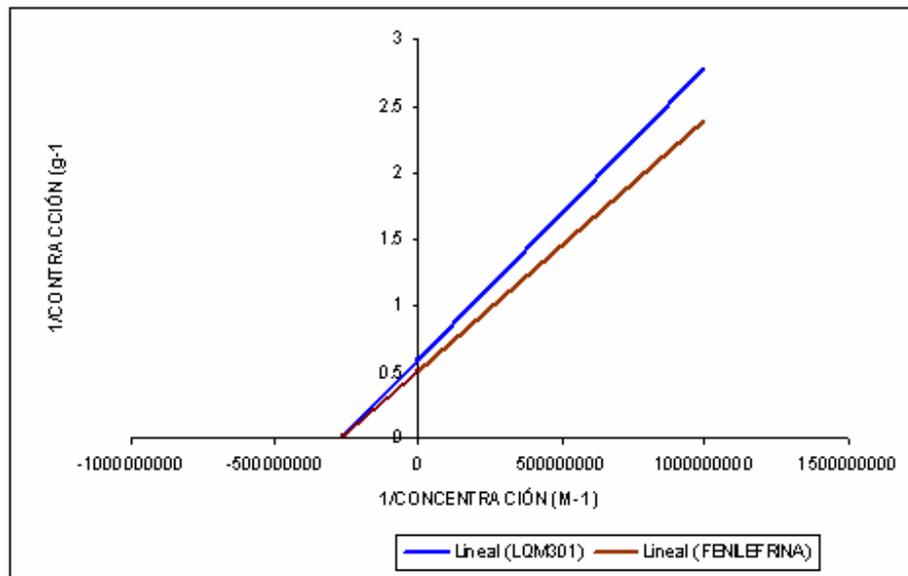
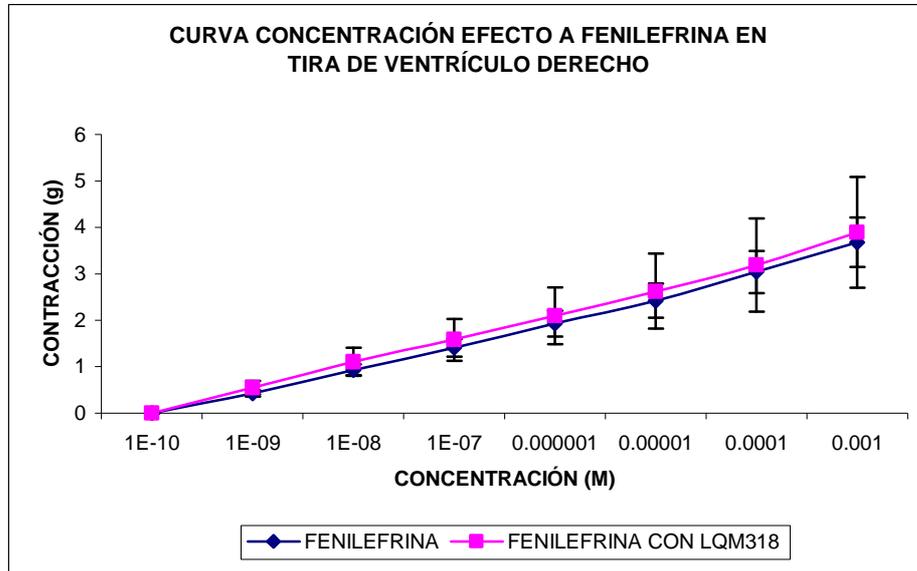


Figura 20. A. Curvas Concentración-Efecto a LQM 301 en un modelo in vitro sobre la tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar macho. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 301. Los resultados corresponden a un valor promedio \pm error estándar con una $n=6$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 301 no fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

LQM 318

A



B

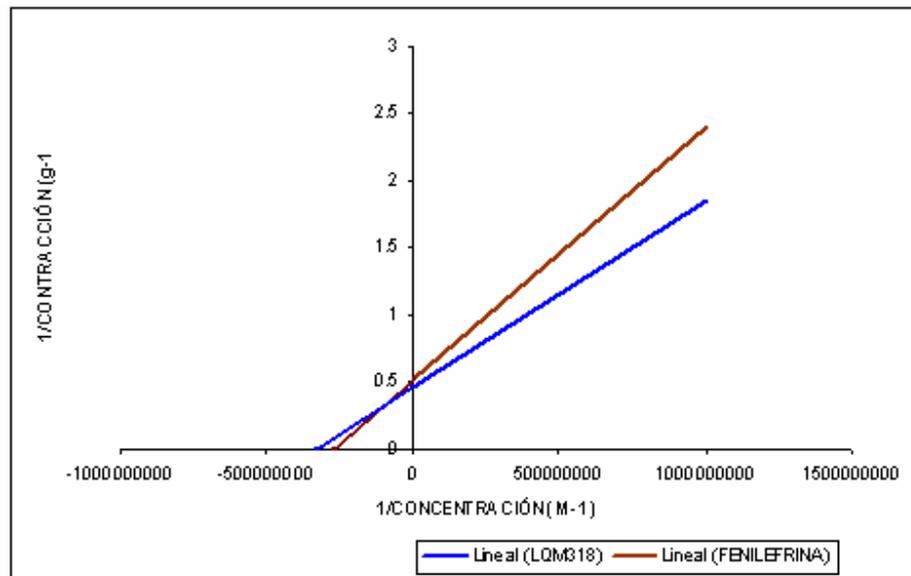
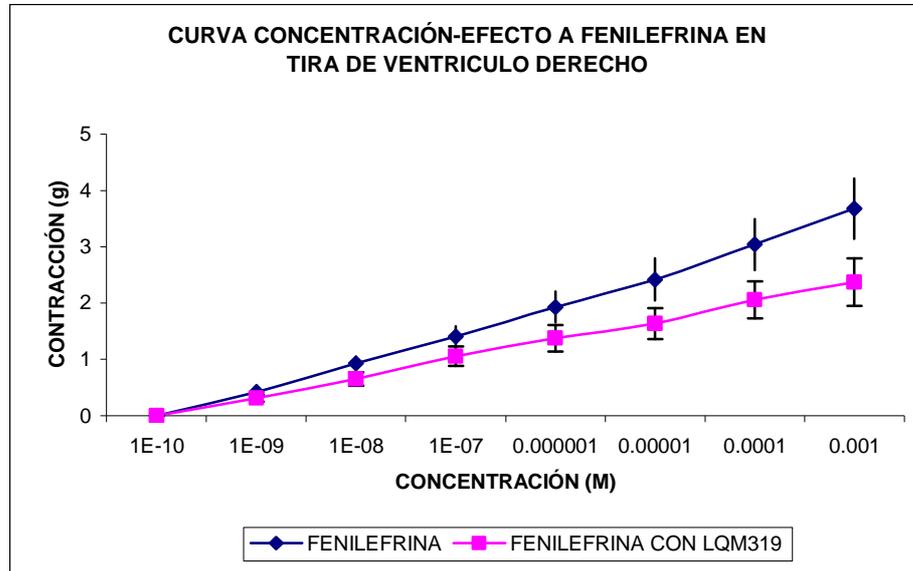


Figura 21. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 318 en un modelo in vitro sobre la tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar macho. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 318. Los resultados corresponden a un valor promedio \pm error estándar con una $n=6$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 318 no fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

LQM 319

A



B

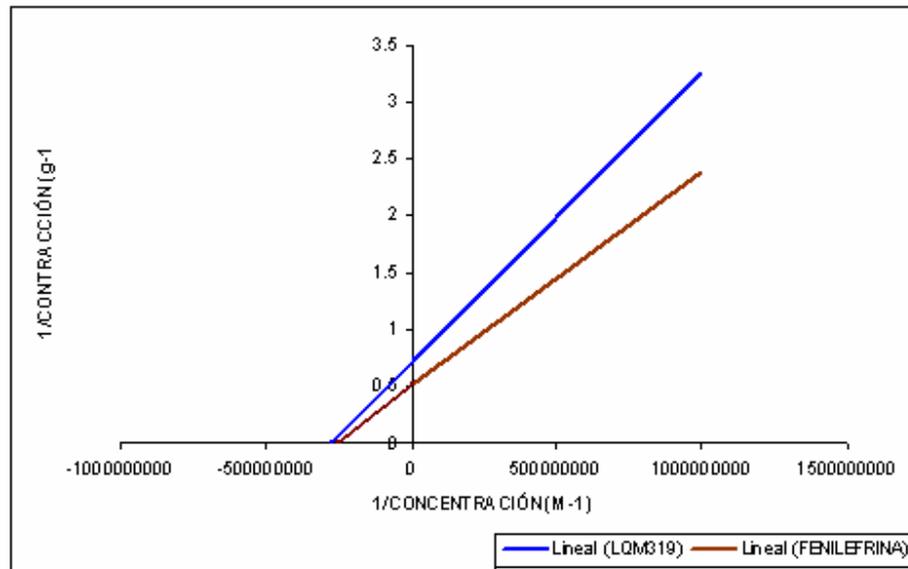
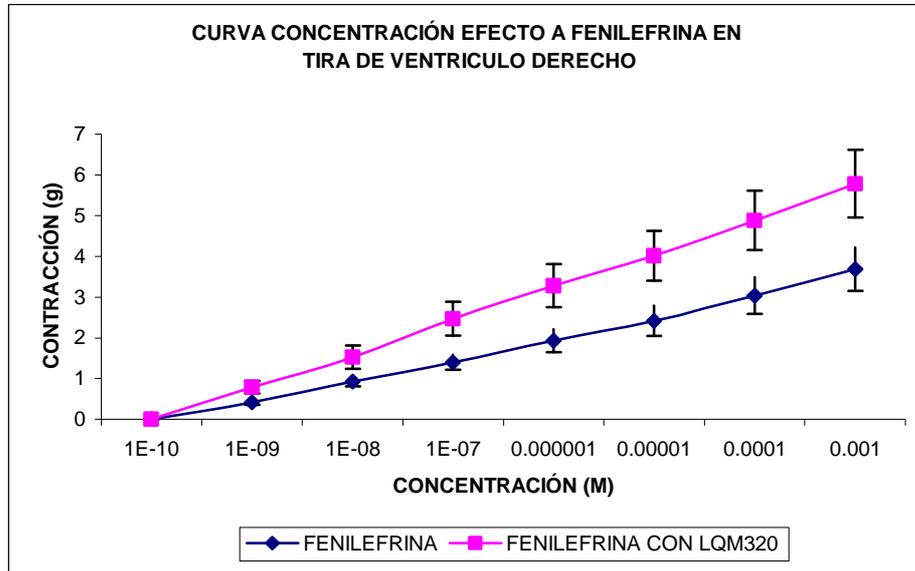


Figura 22. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 319 en un modelo in vitro sobre la tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar macho. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 319. Los resultados corresponden a un valor promedio \pm error estándar con una $n=6$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 319 no fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

LQM 320

A



B

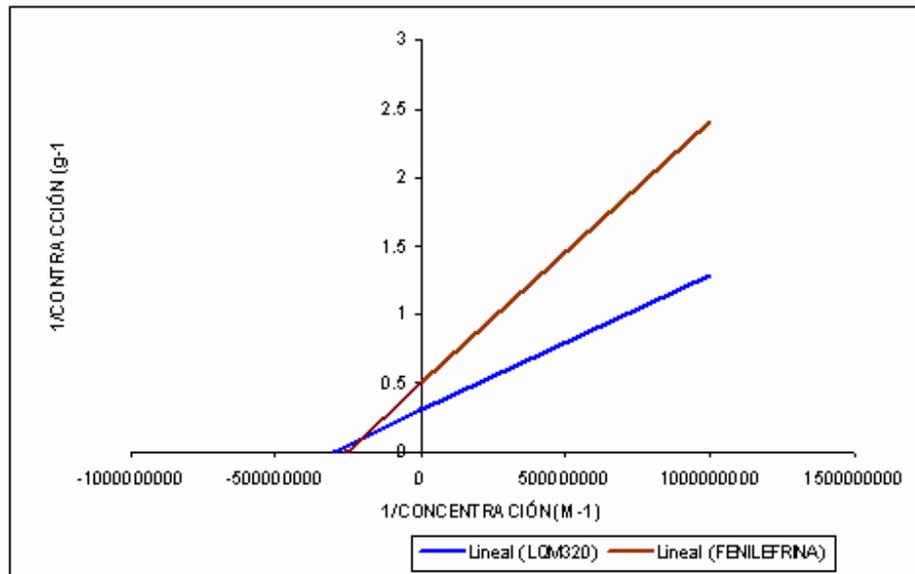
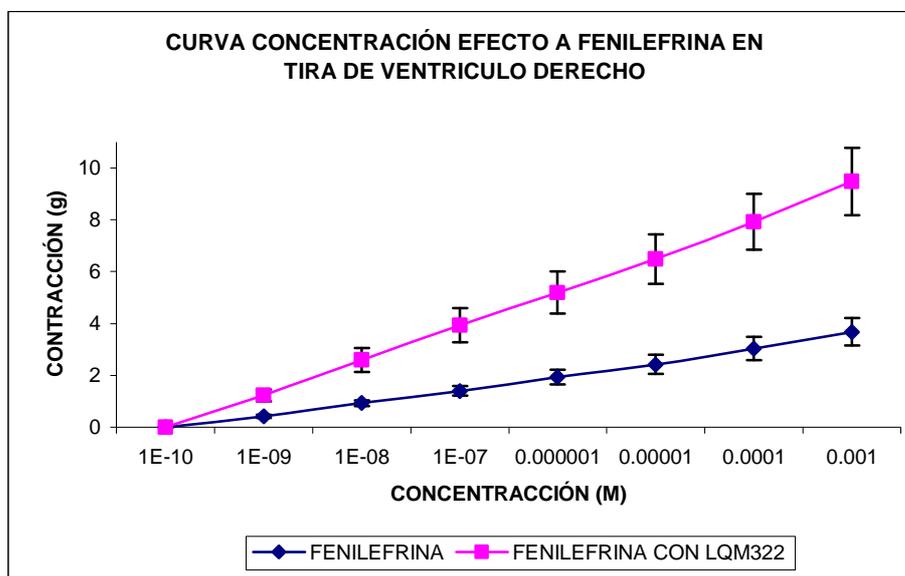


Figura 23. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 320 en un modelo in vitro sobre la tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar macho. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 320. Los resultados corresponden a un valor promedio \pm error estándar con una $n=6$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. El efecto sobre la contracción muscular del compuesto LQM 320 no fue significativo. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

LQM 322

A



B

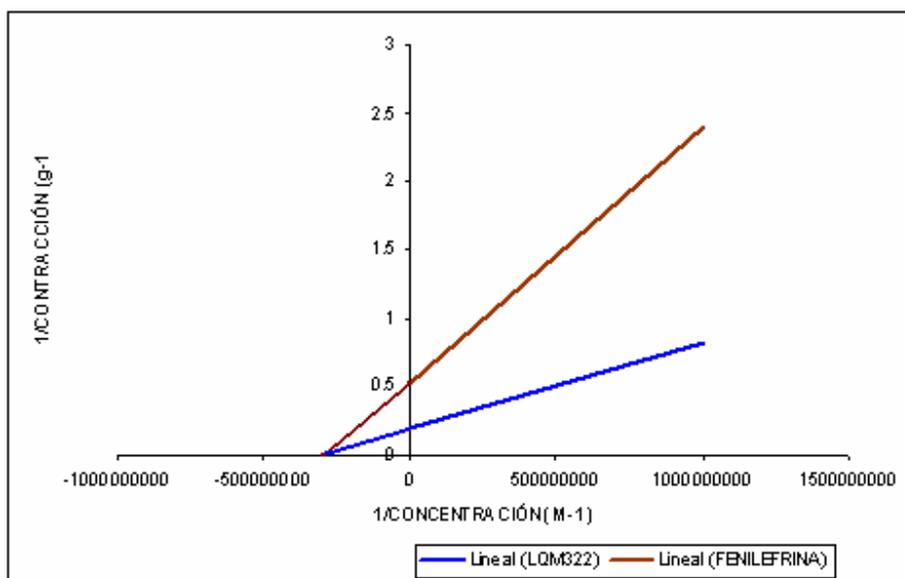


Figura 24. A Curvas Concentración-Efecto a LQM 322 en un modelo in vitro sobre la tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar macho. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 322. Los resultados corresponden a un valor promedio \pm error estándar con una $n=6$, comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una $p=0.05$, *F-Fisher*. Para el compuesto LQM 322 es significativo (mayor al 100%) comparado con la Fenilefrina. **B.** Gráfica de doble recíproca que muestra que en presencia del antagonista disminuyen tanto la actividad intrínseca (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas, menor efecto máximo) como la afinidad del agonista.

6.5 Determinación de K_D

Al ajustar la curva Concentración-efecto a fenilefrina y a los compuestos LQM 300s (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322) , en una recta “reciproca doble” se determinaron las constantes de afinidad (K_D), por tanto la afinidad.

Tabla 4. Afinidad obtenida para la tira de ventrículo derecho, tomando como referencia a la fenilefrina

COMPUESTO	AFINIDAD (10^{-9}) M
	Tira de Ventrículo Derecho
Fenilefrina	3.70 ± 0.3
LQM 301	3.70 ± 0.3
LQM 319	3.45 ± 0.3
LQM 322	3.40 ± 0.1
LQM 320	3.18 ± 0.1
LQM 318	3.01 ± 0.2

6.6 Determinación del % de Efecto de los compuestos morfolínicos LQM 301 y tiomorfolínicos LQM 302, LQM 303, LQM 304, LQM 305 sobre la respuesta adrenérgica α_1 en la tira de ventrículo derecho.

En base a las Curvas Concentración-Efecto se determinó el % de Efecto de la serie de compuestos morfolínicos (LQM 301), y tiomorfolínicos (LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322) sobre la contracción de la tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar, con la finalidad de obtener las K_D y potencias respectivas a cada compuesto y conocer así su afinidad por el receptor adrenérgico α_1 utilizando como referencia a la Fenilefrina.

Obsérvese como el efecto máximo esta dado por el compuesto LQM 322 (figura 29), mayor al obtenido con la fenilefrina; mientras que los compuestos LQM 301, LQM 318, LQM 319 y LQM 320 mantienen un efecto similar a la Fenilefrina sin ser significativo su efecto.

LQM 301

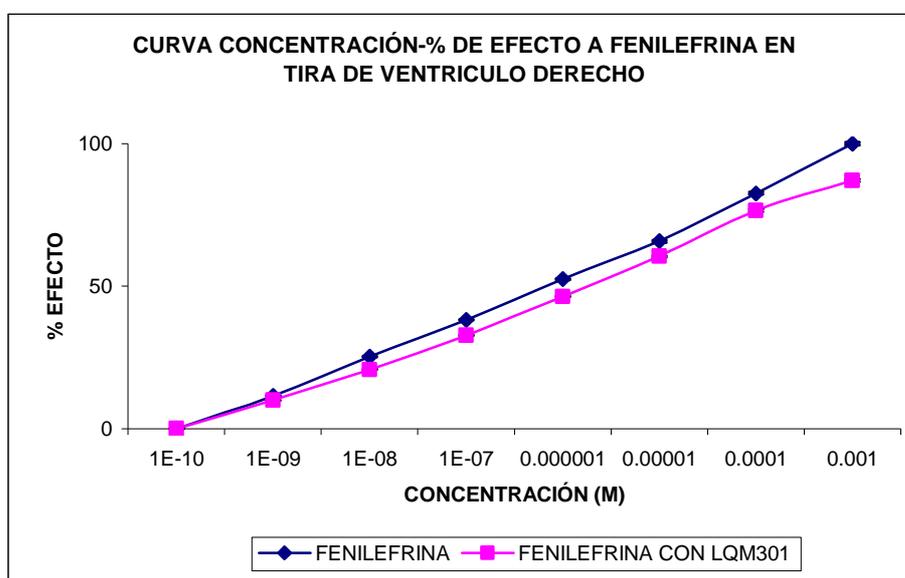


Figura 25. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 301. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 301. La potencia del compuesto morfolínico LQM 301 no es significativa en referencia a la Fenilefrina

LQM 318

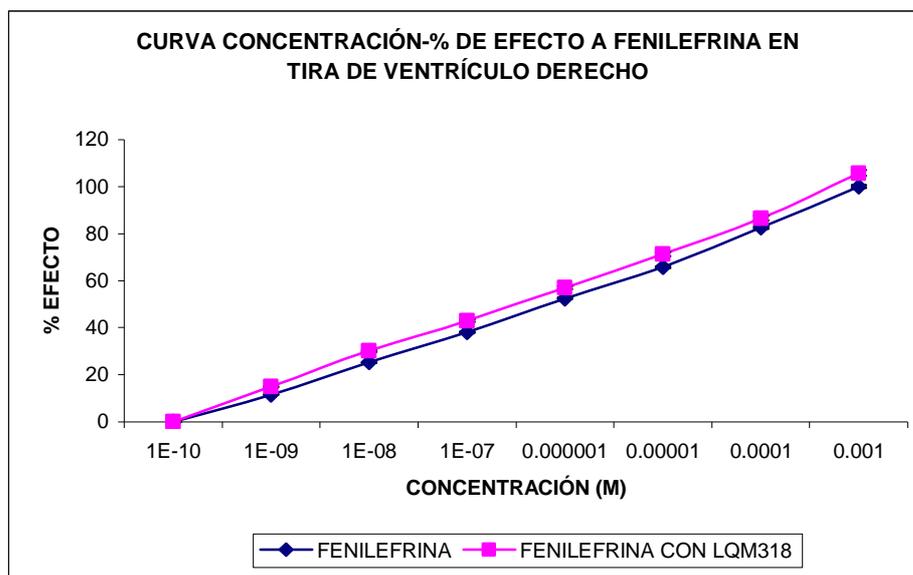


Figura 26. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 318. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 318. La potencia el compuesto tiomorfolínico LQM 302 no es significativo en referencia a la Fenilefrina.

LQM 319

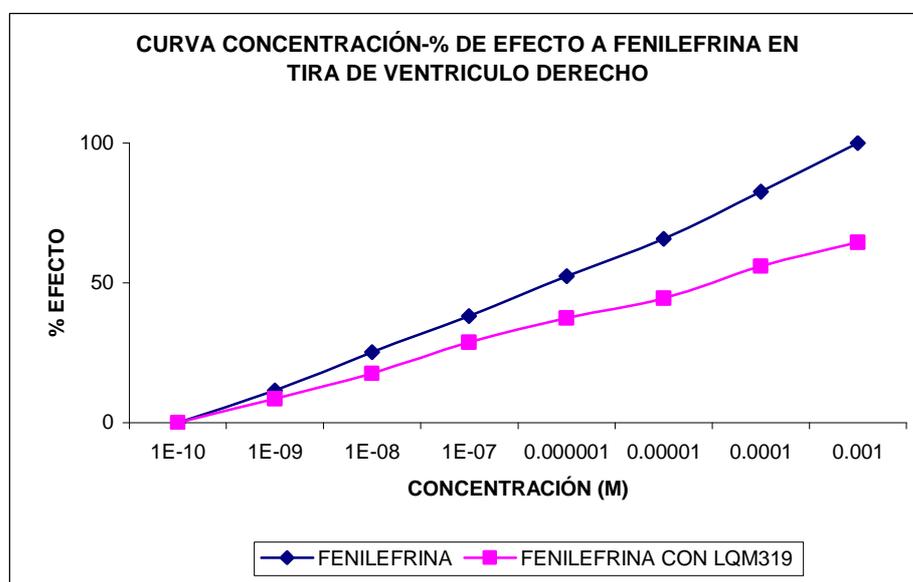


Figura 27. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 319. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 319. La potencia el compuesto tiomorfolínico LQM 319 no es significativo en referencia a la Fenilefrina.

LQM 320

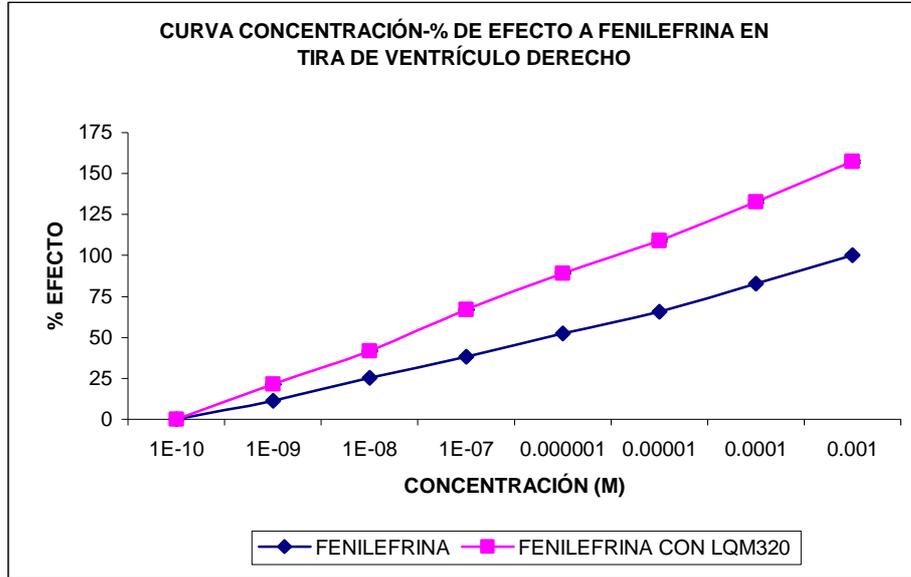


Figura 28. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 320. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 320. La potencia el compuesto tiomorfolínico LQM 320 no es significativo en referencia a la Fenilefrina.

LQM 322

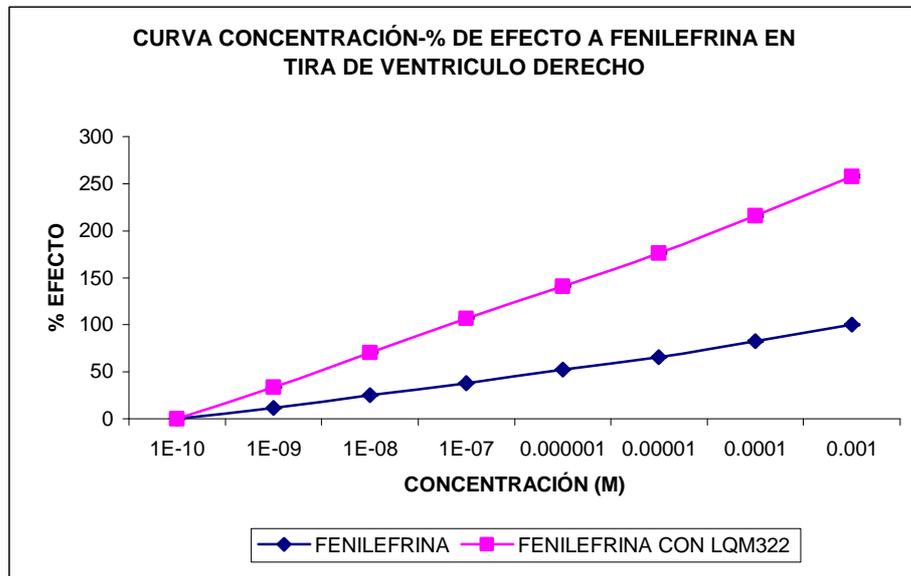


Figura 29. Curvas Concentración- % Efecto a LQM 305. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 305. La potencia el compuesto tiomorfolínico LQM 305 > Fenilefrina

Efecto de la serie de compuestos LQM 300s en la contracción del músculo cardiaco sobre el músculo papilar izquierdo según el efecto máximo obtenido.

Tabla 5. % Efecto para el músculo papilar izquierdo, tomando como referencia a la fenilefrina.
*Efecto significativo $p < 0.05$

COMPUESTO	% EFECTO
	Músculo Papilar Izquierdo
LQM 319	112
LQM 318	111
LQM 322	109
Fenilefrina	100
LQM 320	89
LQM 301	37*

Efecto de la serie de compuestos LQM 300s en la contracción del músculo cardiaco sobre la tira de ventrículo derecho según el efecto máximo obtenido.

Tabla 6. % Efecto para la tira de ventrículo derecho, tomando como referencia a la fenilefrina.
*Efecto significativo $p < 0.05$

COMPUESTO	% EFECTO
	Tira de Ventrículo Derecho
LQM 322	258*
LQM 320	157
LQM 318	106
Fenilefrina	100
LQM 301	87
LQM 319	64

Se obtuvieron las concentraciones de cada compuesto al 50% del efecto alcanzado para cada uno, esa concentración es llamada concentración eficaz 50 o CE_{50} .

Tabla 7. CE_{50} para el músculo papilar izquierdo.

COMPUESTO	CE_{50} (10^{-9}) M
	Músculo Papilar Izquierdo
Fenilefrina	3.4
LQM 322	3.2
LQM 318	3.1
LQM 301	3.0
LQM 320	2.9
LQM 319	2.9

Tabla 8. CE_{50} para la tira de ventrículo derecho

COMPUESTO	CE_{50} (M^{-9})
	Tira de Ventrículo Derecho
Fenilefrina	3.7
LQM 301	3.7
LQM 319	3.5
LQM 322	3.5
LQM 320	3.2
LQM 318	3.0

7. ANÁLISIS

La elección de un modelo experimental depende en gran medida del problema que se va a examinar y de la hipótesis que se va a someter a prueba. El modelo aquí descrito se puede usar para responder una amplia gama de preguntas concernientes a la fisiología, la fisiopatología y la farmacología cardiaca, teniendo una serie de limitantes que, si se controlan y se discuten juiciosamente, permiten obtener datos de muy buena calidad y relevancia, paso fundamental para un buen análisis del diseño experimental. Muchas respuestas fisiológicas, fisiopatológicas y farmacológicas del corazón se han descubierto y estudiado desde hace más de 100 años usando esta preparación de órgano aislado lo cual ha generado invaluable aportes a nuestro conocimiento sobre el corazón mamífero. Es así que en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan en la Unidad de Investigación y Posgrado, se ha aplicado este tipo de modelo experimental *in vitro* dentro del Laboratorio de Farmacología del Miocardio a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar, evaluando el efecto de una serie de compuestos **Morfolínicos**: (LQM 301) y **Tiomorfolínicos** (LQM 302, LQM 303, LQM 304, LQM 305), sobre el sistema adrenérgico α_1 de músculo cardiaco.

Los receptores α_1 están acoplados a una proteína G que produce la activación de la fosfolipasa C (PLC). La PLC produce la formación de inositol 1, 4, 5, trifosfato (IP_3) y de diacilglicerol (DAG). El IP_3 produce la liberación de calcio (Ca^{2+}) desde almacenes intracelulares (retículo sarcoplásmico) incrementando la concentración intracelular de calcio. Por otro lado, el DAG activa a una proteína cinasa C (PKC), la cual tiene un efecto sobre los canales de calcio tipo L similar al de la proteína cinasa A (PKA), produciendo un incremento en el Ca^{2+} intracelular^{31, 38}.

El proceso rítmico de contracción y relajación cardiaca está asociado a un aumento y una disminución de la concentración de Ca^{2+} libre en la célula cardiaca.

La relación gráfica entre la magnitud de la respuesta y la dosis que la produce, constituye el elemento fundamental para la cuantificación de la actividad farmacológica y permite estudiar las características de la interacción fármaco-receptor.

Para comprobar la presencia de un efecto adrenérgico α_1 sobre el músculo cardiaco, se utilizó el agonista específico de estos receptores, la fenilefrina; presentándose

gráficamente la relación entre el efecto conseguido por dosis crecientes de dicho agonista. La fenilefrina, como la mayor parte de los fármacos adrenérgicos, se deriva de la feniletilamina beta. La sustitución en la posición 3 del anillo de benceno y en la cadena lateral de etilamina, con un OH respectivamente, determina la capacidad para diferenciar los receptores α_1 y por lo tanto la afinidad hacia el mismo (Tabla 1)²⁷.

Dos características estructurales importantes de estos fármacos, que determinan la afinidad y potencia: son el número y la localización de las sustituciones OH en el anillo de benceno y el tipo de sustituyente en el nitrógeno del grupo amino²⁷.

Dentro de esta serie se evaluó el compuesto LQM 301 químicamente constituido por dos anillos de morfolina, además de la presencia de dos ésteres de ácidos carboxílicos, para quien su efecto sobre la contracción del músculo papilar izquierdo es significativo (Figura 10 A), sugiriendo que quizá se deba al carácter hidrofílico que le aportan los grupos carboxilo a la molécula, permitiéndole tener una mayor interacción sobre el receptor adrenérgico α_1 para llevar a cabo su efecto y con ello una disminución de la contracción del músculo cardíaco debida a una disminución en la concentración de Ca^{2+} intracelular.

Los compuestos LQM 318 y LQM 322 no presentan un efecto significativo sobre la contracción del músculo cardíaco, su conformación química la cual consiste en un sólo anillo de tiomorfolina, para el primer compuesto, y la presencia de dos anillos de tiomorfolina, así como grupos OH para el segundo compuesto, los cuales sin embargo, no presentan un efecto considerable sobre la contracción del músculo papilar izquierdo en referencia al producido por la fenilefrina. En el caso del LQM 322, la presencia de los grupos OH pudieran incrementar su afinidad (Tabla 3) por los receptores adrenérgicos α_1 , sugiriendo así, que el compuesto LQM 318 requiera de éste tipo de sustituyentes en su molécula.

El compuesto LQM 320, para quien su efecto no es significativo en la contracción del músculo cardíaco, con la característica de que este compuesto se encuentran sustituido por dos anillos de tiomorfolina, que como se ha mencionado antes la falta de sustituyentes OH en su estructura, pudo limitar la afinidad hacia los receptores adrenérgicos α_1 localizados en el músculo papilar izquierdo, al igual que su efecto (Figura 13).

El LQM 319, tiene la característica de ser un compuesto dimorfolínico con un radical terbutil, en donde se sugiere que este radical limite la estimulación del receptor α_1 acoplado a la proteína G y los mecanismos que producen el cambio en la concentración de Ca^{2+} en el interior de la célula cardiaca, ya que éste compuesto no presenta un efecto significativo sobre la contracción del músculo papilar izquierdo, así mismo para la afinidad por el receptor, posiblemente debido a sus propiedades fisicoquímicas.

Con el fin de conocer los efectos antagónicos de los compuestos LQM 300s, las gráficas dobles recíprocas muestran de manera más exacta el comportamiento de estos compuestos en relación a la Fenilefrina. Partiendo así del concepto de antagonismo no competitivo como aquel que en presencia del antagonista disminuye el efecto máximo y la afinidad (mayor K_D) del agonista^{16, 17}. Dentro de los compuestos que presentan este tipo de antagonismo se encuentra el LQM 301 (Figura 10 B), que presenta un efecto significativo sobre el músculo papilar izquierdo. Sin embargo, los compuestos LQM 318, LQM 319 y LQM 322 (Figuras 11, 12, y 14, B respectivamente), aunque siguen esta tendencia no es de significancia por lo que se sugiere que la concentración de antagonista (compuestos LQM 300s) debieran ser mayores.

En el antagonismo competitivo, donde el agonista presenta el mismo efecto máximo pero disminuye su afinidad, tenemos que el compuesto LQM 320 (Figura 13 B) en referencia con la Fenilefrina sigue el patrón de este tipo de antagonismo, sin embargo, la concentración del compuesto no fue suficiente para determinar la significancia^{16, 17}.

En la tira de ventrículo derecho el compuesto tiomorfolínico LQM 322 (Figura 24 A) mostró un efecto significativo aumentando la contracción del músculo cardiaco debido a un aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} libre en las células de éste tejido, mostrando el mayor efecto sobre el receptor adrenérgico α_1 en referencia con la fenilefrina; este compuesto tiene la característica de estar sustituido con grupos OH y dos anillos de tiomorfolína, que para éste caso resulta contrario a lo mencionado para el músculo papilar, ya que no presenta la máxima afinidad por el receptor, se sugiere que estos sustituyentes impidan su acoplamiento con el receptor α_1 disminuyendo la afinidad, pero aumentando su efecto sobre el músculo cardiaco.

Así mismo, los compuestos LQM 319 y LQM 320 (Figuras 22 y 23, A respectivamente), para quienes su efecto no fue significativo sobre la Fenilefrina, ambos constituidos por dos anillos de tiomorfolina que posiblemente les permita acoplarse con los receptores adrenérgicos α_1 con un cambio en la concentración de Ca^{2+} libre en la célula para mostrar un efecto significativo.

Para el compuesto LQM 318, es preciso mencionar su baja afinidad por el receptor adrenérgico α_1 de la tira de ventrículo derecho, posiblemente a que solo posea un anillo de morfolina, no teniendo un efecto significativo sobre la contracción del músculo cardiaco.

El compuesto LQM 301, para quien su efecto no es significativo en la contracción de la tira de ventrículo derecho, constituido químicamente con dos anillos de morfolina y dos ésteres de ácidos carboxílicos, en donde se sugiere que la presencia de los ácidos carboxílicos aumenta la interacción fármaco-receptor, siguiendo la misma tendencia que la Fenilefrina sin ser significativa.

Al evaluar el efecto antagónico de los compuestos LQM 300s en la tira de ventrículo derecho, se determinó que éstos siguen la tendencia de un antagonismo no competitivo, sin embargo, aunque esta tendencia se hace evidente en las gráficas dobles recíprocas (Figuras 20, 21, 22, 23, 24 y 25, B respectivamente), no son significativas atribuido a que la concentración utilizada no fue suficiente para determinar la significancia.

Se determinó que el compuesto LQM 322 incrementó significativamente la contracción de la tira de ventrículo derecho (hasta un 150%) en referencia a la Fenilefrina (Tabla 6). Esto se conoce como antagonismo anómalo el cual indica que un antagonista de tipo irreversible (LQM 322) se podría combinar muy firmemente con un sitio alostérico en el receptor (no en un sitio de Fenilefrina); por tanto, induce los cambios de conformación que reducen la afinidad del agonista por su sitio, pero a concentraciones más altas de agonista se puede producir una respuesta máxima a pesar de la existencia de la firme unión del antagonista. Determinando así que el LQM 322 ante la Fenilefrina presenta un sinergismo¹⁷.

Debido a que el músculo papilar izquierdo mecánicamente presenta una menor velocidad de acortamiento y una mayor fuerza o tensión durante la contracción

muscular, es importante destacar que el efecto producido por la Fenilefrina es mayor en éste tejido; por otro lado el ventrículo derecho está organizado para realizar una contracción más rápida pero con una tensión menor durante la contracción muscular, por lo cual la tira de ventrículo derecho presenta un efecto de contracción menor dada por la Fenilefrina en comparación con el músculo papilar.

En general como se pudo observar el efecto que ejercen estos 5 compuestos morfólinicos y tiomorfolínicos con referencia a la Fenilefrina, resultó muy variable al activar los receptores adrenérgicos α_1 , por ende, sobre la contracción del músculo papilar izquierdo y la tira de ventrículo derecho, indicando que se ha logrado un gran avance dentro de la investigación y desarrollo de nuevos fármacos, con este tipo de modelo experimental dentro de la FES-Cuautitlán, buscando con esto ofrecer una solución a la población mexicana que sufre los efectos de las enfermedades cardiovasculares.

La historia ha demostrado que la Medicina experimental ha sido uno de los pilares que actualmente soporta gran parte de nuestros conocimientos en Medicina clínica y es por esto que debemos dedicar buena parte de nuestros esfuerzos a comprender y usar adecuadamente este tipo de modelos experimentales, ya que la Farmacología investiga, busca y crea nuevas sustancias que sean útiles para el alivio y el tratamiento de las enfermedades que nos afectan. Sin embargo, es una actividad larga y muy costosa que requiere especialistas de diversas áreas para completar un proceso que finalmente nos ofrezca un fármaco, del cual se conozca cómo y dónde actúa sobre el organismo y cómo influye sobre él, para que finalmente tengamos al alcance un producto eficaz y seguro.

8. CONCLUSIONES

Se aplicó el modelo experimental de las preparaciones aisladas de músculo papilar izquierdo y tira de ventrículo derecho de corazón de rata Wistar, para evaluar el efecto de la serie de compuestos Morfolínicos (LQM 301) y Tiomorfolínicos (LQM 318, LQM 319, LQM 320 y LQM322) con respecto a la contracción ejercida por la Fenilefrina.

El compuesto morfolínico LQM 301 mostró un antagonismo no competitivo significativo sobre la contracción del músculo papilar izquierdo al poseer grupos carboxilo en la molécula.

El compuesto tiomorfolínico LQM 322 mostró un sinergismo sobre la contracción de la tira de ventrículo derecho sumando efecto sobre la Fenilefrina, al poseer sustituyentes hidroxilo en la molécula.

En base a los resultados obtenidos, se sugiere, utilizar concentraciones más altas de los compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos para determinar la concentración necesaria para antagonizar el efecto contráctil de la Fenilefrina en ambas preparaciones para estimar el efecto antagónico no competitivo por parte de los compuestos tiomorfolínicos LQM 318, LQM 319 y LQM 320.

9. REFERENCIAS

1. The Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. **The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure**. Arch Intern Med 1997; 157:2413-46.
2. BROTONS C, RUE M, RIVERO E, PÉREZ G. **Tendencia de la mortalidad por enfermedades cardiovasculares en Catalunya: años 1975-1992**. Med Clin (Barc) 1993; 101:604-8.
3. SALAS R. Silvia. Scior J. Thomas. Bravo E. Manuel. **“Plantas Medicinales: la digitales, entre efecto cardiotónico y cardiotóxico”**. Informaceútico 2005; Vol. 12; No. 5: 40-60
4. VILLAFUERTE Robles, Leopoldo. **“El diseño de medicamentos al inicio del siglo XXI”**. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (IPN). México. Informaceútico 2006; Vol. 13; No. 1:
5. LITTER, Manuel. 1992. **“Compendio de Farmacología”** 4ª. Edición. EL ATENEO. Buenos Aires. Argentina. Pág. 2, 3.
6. GOODMAN & GILMAN.1996. **“Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica”**. 9ª. Edición. Vol. 1. McGraw-Hill Interamericana. México. México.
7. KATZUNG, Bertram. 2005. **“Farmacología básica y clínica”**. 9ª. Edición. Manual Moderno. México. México. Pág. 13.
8. BEVAN, John. 1982. **“Fundamentos de Farmacología”** Introducción a los principios de acción de los fármacos. 2ª. Edición. HARLA. México. México. Pág. 7.
9. VELASCO, Alfonso; González, José. 2004. **“Curso Práctico de Farmacología”** Manual de Laboratorio. 4ª. Edición. Universidad de Valladolid. Sevilla. España.
10. MAZARIEGOS, J. J. 2001. **“Vías de señalización de los receptores alfa 1 y beta adrenérgicos, muscarínicos y de dopamina”**. UNAM. Q. F. B. México
11. ALBANELL, Joan. 2002. **“Farmacodinámica en el desarrollo de Fármacos”**. *Servicio de Oncología Médica*. Hospital del Mar, Barcelona.

12. FLOREZ, Jesús. 2001. **“Farmacología Humana”**. 3ª. Edición. Editorial MASSON. Barcelona. España. Pág. 7.
13. VELÁZQUEZ. 2005. **“Farmacología Básica y Clínica”**. 17ª. Edición. Editorial Panamericana. Págs. 61, 64.
14. GOTH, Andrés. 1984. **“Farmacología Médica”** Principios y Conceptos. 11ª. Edición. Ediciones DOYMA. España. Pág. 8,9.
15. DAWSON, James S. 2001. **Lo esencial en Farmacología**. 2ª. Edición. ELSEVIER. Madrid. España, Págs. 9,10.
16. VIDRIO, Horacio; Rojas Ramírez J. A. 1987. **Principios de Farmacología General**. 1ª Edición. Pronfopab. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, UNAM. México. México. Págs. 65-78.
17. GOLDSTEIN Avram, Aranov Lewis, Kalman Sumner. 1979. **Farmacología**. 1ª Edición. LIMUSA. México. México. Págs. 99-101, 130, 131.
18. KALANT, Harold. 1998. **“Principios de Farmacología Médica”**. 6ª. Edición. OXFORD University Press. México. México. 91, 92 pp.
19. LEYTON C. Virya. **Farmacología de los Fármacos Alfa-Adrenérgicos**. (http://www.scare.org.co/rca/archivos/articulos/1997/vol_1/HTML/Farmacologia%20de%20las%20drogas.htm)
20. LOMASNEY, V. W. Catecchia S., Lefkowitz, R. J. and Caron, M. G. **“Molecular biology of α -adrenergic receptors: implications for receptor classification and for structure-function relationships”**. Biochim. Biophys. Acta 1991; 1095: 127-139.
21. GANONG, William F. 2006. **“Fisiología Médica”**. 20a. Edición. Editorial El Manual Moderno. México. México. 427-430 pp.
22. ZHONG, H.; Minneman, K. P. **“ α_1 adrenoceptor subtypes”**. European Journal of Pharmacology. 1999. 375 (1/3); 261-276.
23. BYLUND, D.B.; **Subtypes of α_1 – and α_2 adrenergic receptor**. The FASEB Journal 6:832-839, 1992.
24. RUFFOLO, R. R., Nichols, A. and Hieble, J. *Minireview* **K Metabolic regulation by α_1 and α_2 - adrenoceptors**. Life Sciences 49(3) 171-183, 1991.

25. PALOMINO, Manuel. **"Receptores de Fármacos"**. Dermatol. Perú 1999; 9 (1):35-44
26. GARCÍA-Sainz, V. Vázquez-Prado, J. and Villalobos-Molina, R. **α_1 – adrenoceptors: Subtypes, signaling, and roles in health and disease.** Archives of Medical Research 30:449-458, 1999.
27. MYCEK, Mary J. (et al). 2006. **"Farmacología"**. 2a. Edición. McGraw-Hill. México. México.
28. OPIE, Lionel H. 2002. **"Fármacos en Cardiología"**. 5ª. Edición. McGraw-Hill Interamericana. México. Pág. 1, 3, 136
29. GRIGNOLA, Juan C.; Ginés, Fernando. **Mecánica del ventrículo derecho.** Laboratorio de Fisiología Cardiovascular, Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. Actas de Fisiología, 6: 131-163, 2000.
30. BROOKS WW, Bing OHL, Blaustein AS, Allen PD. **Comparison of the contractile state of myosin isozymes of rat right and left ventricular myocardium.** *J Mol Cell Cardiol* 19: 433-440; 1987.
31. COTECCHIA, S.; Kobilka, B.; Daniel, K.; Nolan, R.; Lopetina, E.; Caron, M.; Letkowitz, R. and Regan, J. **Multiple second Messenger pathways of α -adrenergic receptor subtypes expressed in eukaryotic cells.** The Journal of Biological Chemistry 265 (1): 63-69, 1990.
32. SCHOLZ, J.; Troll, V.; Sanding, P.; Schmitz, W.; Schulte, A. **Existence and α_1 -adrenergic stimulation of inositol polyphosphates in mammalian heart.** Molecular Pharmacology 42 (19): 134-140, 1992.
33. VARMA, D. R. and Deng, X. **Cardiovascular α_1 -adrenoceptor subtypes: Functions and signaling.** Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 78 (4): 297-292, 2000.
34. FERRER Tania, Talavera Karel, Álvarez Julio L. **Efectos de la estimulación α_1 -adrenérgica sobre las corrientes de calcio tipos T Y L en células cardíacas aisladas.** Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Laboratorio de Electrofisiología. Rev. Cubana *Cardiol Cir Cardiovasc* 1999;13(2):104-15

35. TSENG GN, Boyden PA. **Different effects of intracellular Ca +2 and protein kinase C on cardiac T and L Ca +2 currents.** *Am J Physiol* 1991; 261:H364-H369.
36. PARKER, C. A. and Thibodeau G. 1985. **Anatomía y Fisiología.** 10a. Edición. Interamericana México. México. Pág. 401-413
37. TAPIA, L. E. 2006. **Determinación del efecto hipotensor de la serie de compuestos diseñados por computadora dimorfolínicos y tiomorfolínicos.** México. Pág. 32, 33.
38. HIRASAWA, A.; Awayi, T.; Xu, Z.; Tsujimoto, G. **Regulation of subcellular localization of α_1 adrenoceptor subtypes.** *Life Sciences* 68 (19/20): 2259-2267, 2001.

ANEXO I

GRÁFICA DOBLE RECÍPROCA

La ecuación que establece la forma en que la respuesta depende de la concentración del fármaco corresponde a una hipérbola:

$$Respuesta = \frac{\alpha [F][R]}{K + [F]}$$

donde K , es la constante de disociación del complejo fármaco-receptor. A esta ecuación, es posible transformarla en una ecuación lineal:

$$\frac{1}{Resp} = \frac{1}{Resp_{m\acute{a}x}} + \frac{K}{Resp_{m\acute{a}x}} \times \frac{1}{[F]}$$

en la cual $Resp$ 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 es 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.

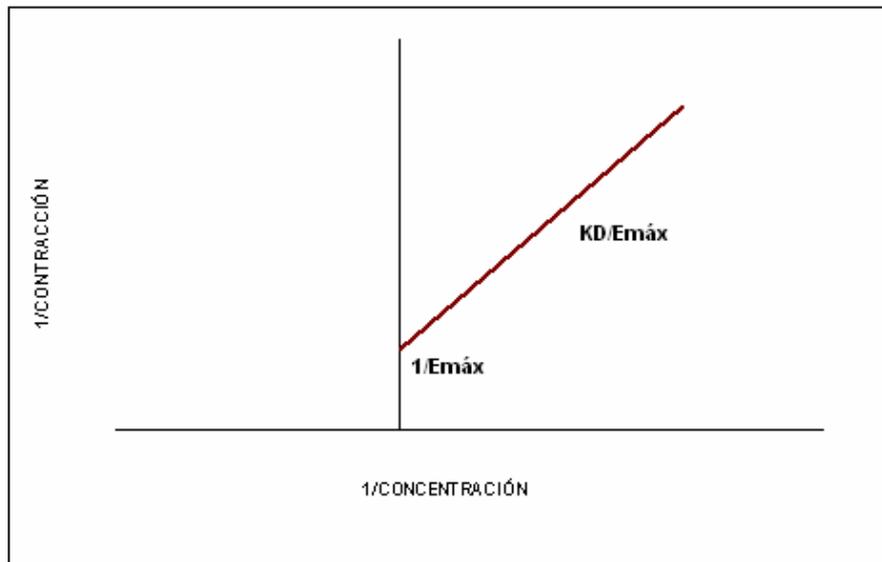


Figura 30. Gráfica doble recíproca. Relación entre la concentración y el efecto cuando se grafican las recíprocas de la concentración y del efecto. En esta gráfica de doble recíproca se pueden calcular la eficacia de un fármaco ($E_{m\acute{a}x}$) y su constante de disociación (K_D). El punto en el que la recta interseca el eje de las ordenadas corresponde a $1/E_{m\acute{a}x}$, y la pendiente es igual a $K_D/E_{m\acute{a}x}$.

La Figura 31 es una nueva gráfica de los datos de la Fenilefrina sola y Fenilefrina en presencia de LQM 301, registrados de esta forma.

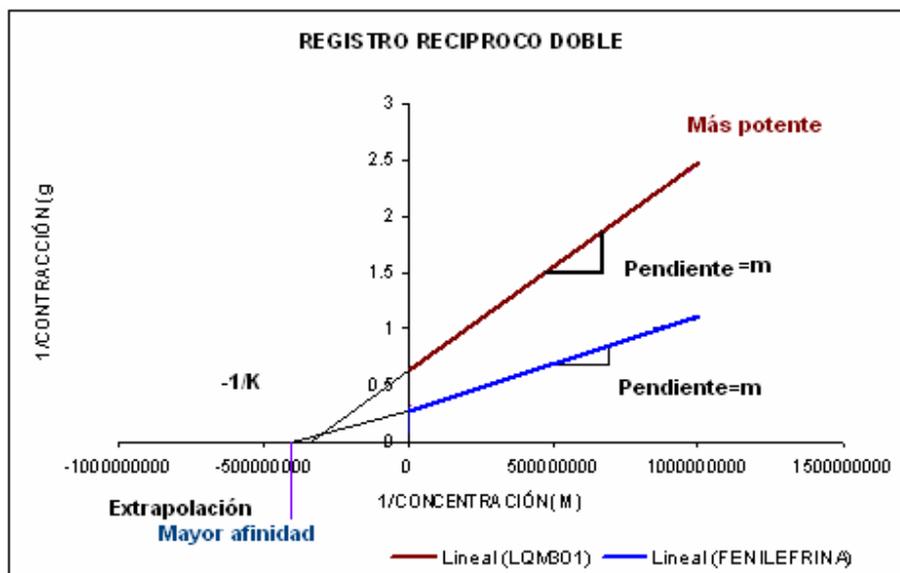


Figura 31. Gráfica doble recíproca para el LQM 301 en MPI. Se muestra que en presencia del antagonista disminuye tanto la afinidad (mayor pendiente, mayor K_D) y el efecto (desplazamiento del punto de intersección de las ordenadas) sobre la contracción del músculo papilar izquierdo. La línea azul, señala los valores de contracción con Fenilefrina sola. La línea roja muestra los valores de contracción con Fenilefrina en presencia del LQM 301.

De tal manera que si:

$$\frac{1}{Re\ sp} = \frac{1}{Re\ sp_{m\acute{a}x}} + \frac{K}{Re\ sp_{m\acute{a}x}} \times \frac{1}{[F]} \quad \equiv y = b + mx, \quad \text{entonces podemos obtener los siguientes datos.}$$

POR EXTRAPOLACIÓN

COMPUESTO	K_D M (10^{-9})
Fenilefrina	3.3
LQM 301	3.0

COMPROBACIÓN POR REGRESIÓN LINEAL

Para Fenilefrina, en Músculo Papilar Izquierdo:

$$b = 0.2586 = \frac{1}{\text{Re } sp_{\text{máx}}}$$

$$\text{Re } sp_{\text{máx}} = 3.8655 \text{ g}$$

$$m = 8.6725 \times 10^{-10} = \frac{K}{\text{Re } sp_{\text{máx}}}$$

$$K = 3.3523 \times 10^{-9} \text{ M}$$

Extrapolando :

$$x = -298295691.8$$

$$K = -\frac{1}{K} = -3.3523 \times 10^{-9}$$

Para LQM 301, en Músculo Papilar Izquierdo:

$$b = 0.6288 = \frac{1}{\text{Re } sp_{\text{máx}}}$$

$$\text{Re } sp_{\text{máx}} = 1.5901 \text{ g}$$

$$m = 1.8623 \times 10^{-9} = \frac{K}{\text{Re } sp_{\text{máx}}}$$

$$K = 2.9612 \times 10^{-9} \text{ M}$$

Extrapolando :

$$x = -337600029.6$$

$$K = -\frac{1}{K} = -2.9612 \times 10^{-9}$$

Se realizó éste procedimiento para obtener las K_D (constantes de afinidad) de cada compuesto sobre el músculo papilar izquierdo y tira de ventrículo derecho de corazón de rata.

ANEXO II

ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CADA COMPUESTO DE LA SERIE EVALUADA

En este apartado se muestran los análisis estadísticos de varianza (ANOVA) para cada compuesto, de los datos obtenidos por el método “recíproco doble”, lo cual nos permitió tener una visión con respecto a la diferencia significativa en el estudio biológico llevado a cabo para determinar el efecto de la serie de compuestos morfolínicos (LQM 301) y tiomorfolínicos (LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322) mediante dos modelos in vitro de corazón de rata Wistar.

Para ello se plantean las siguientes hipótesis:

H₀: El valor de las medidas control son iguales a las medidas de las Curvas Concentración-Efecto

H₁: Un par de medias son diferentes.

Los cuales se corroboraron con los valores de F para una n = 8 y una $\alpha = 0.05$ de significancia para cada compuesto evaluado, considerando entonces que:

Si $F_{exp} < F_{tablas}$ SE ACEPTA H₀

Si $F_{exp} > F_{tablas}$ SE RECHAZA H₀

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 301

CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO PAPILAR IZQUIERDO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	1.1041	0.555	0.3568	0.2649	0.2088	0.1575	0.1274
LQM301	0	2.439	1.3206	0.813	0.6315	0.5133	0.4108	0.3432
Análisis de varianza de un factor								
RESUMEN								
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza				
Columna 1	2	0	0	0				
Columna 2	2	3.5431	1.7715	0.8909				
Columna 3	2	1.8756	0.9378	0.293				
Columna 4	2	1.1698	0.5849	0.104				
Columna 5	2	0.8964	0.4482	0.0671				
Columna 6	2	0.7221	0.361	0.0463				
Columna 7	2	0.5683	0.2841	0.032				
Columna 8	2	0.4706	0.2353	0.0232				
ANÁLISIS DE VARIANZA								
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F		
Entre grupos	4.3117	7	0.6159	3.3819	0.0545	3.5004		
Dentro de los grupos	1.457	8	0.1821					
Total	5.7687	15						

Se acepta H₀, para la contracción del músculo papilar izquierdo con el compuesto LQM 301

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 318

CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO PAPILAR IZQUIERDO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	1.1041	0.555	0.3568	0.2649	0.2088	0.1575	0.1274
LQM318	0	0.8664	0.439	0.2974	0.2186	0.1715	0.1386	0.1146
Análisis de varianza de un factor								
RESUMEN								
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza				
Columna 1	2	0	0	0				
Columna 2	2	1.9705	0.9852	0.0282				
Columna 3	2	0.994	0.497	0.0067				
Columna 4	2	0.6542	0.3271	0.0017				
Columna 5	2	0.4835	0.2417	0.001				
Columna 6	2	0.3803	0.1901	0.0006				
Columna 7	2	0.2961	0.148	0.0001				
Columna 8	2	0.242	0.121	0				
ANÁLISIS DE VARIANZA								
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F		
Entre grupos	1.3363	7	0.1909	39.3922	0.00001	3.5004		
Dentro de los grupos	0.0387	8	0.0048					
Total	1.3751	15						

Se rechaza Ho, para la contracción del músculo papilar izquierdo con el compuesto LQ M 318

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 319

CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO PAPILAR IZQUIERDO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	1.1041	0.555	0.3568	0.2649	0.2088	0.1575	0.1274
LQM319	0	0.7732	0.4077	0.276	0.209	0.165	0.1342	0.1134
Análisis de varianza de un factor								
RESUMEN								
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza				
Columna 1	2	0	0	0				
Columna 2	2	1.8773	0.9386	0.0547				
Columna 3	2	0.9627	0.4813	0.0108				
Columna 4	2	0.6328	0.3164	0.0032				
Columna 5	2	0.4739	0.2369	0.0015				
Columna 6	2	0.3738	0.1869	0.0009				
Columna 7	2	0.2917	0.1458	0.0002				
Columna 8	2	0.2408	0.1204	0				
ANÁLISIS DE VARIANZA								
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F		
Entre grupos	1.2074	7	0.1724	19.2323	0.0002	3.5004		
Dentro de los grupos	0.0717	8	0.0089					
Total	1.2792	15						

Se rechaza Ho, para la contracción del músculo papilar izquierdo con el compuesto LQ M 319

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 320

CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO PAPILAR IZQUIERDO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	1.1041	0.555	0.3568	0.2649	0.2088	0.1575	0.1274
LQM320	0	1.0089	0.527	0.3566	0.2677	0.2119	0.1701	0.1422
Análisis de varianza de un factor								
RESUMEN								
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza				
Columna 1	2	0	0	0				
Columna 2	2	2.113	1.0565	0.0045				
Columna 3	2	1.082	0.541	0.0003				
Columna 4	2	0.7134	0.3567	0.00E+00				
Columna 5	2	0.5326	0.2663	0.00E+00				
Columna 6	2	0.4207	0.2103	0.00E+00				
Columna 7	2	0.3276	0.1638	0				
Columna 8	2	0.2696	0.1348	0.0001				
ANÁLISIS DE VARIANZA								
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F		
Entre grupos	1.53	7	0.2185	341.4559	2.88E-09	3.5004		
dentro de los grupos	0.0051	8	0.0006					
Total	1.5351	15						

Se rechaza Ho, para la contracción del músculo papilar izquierdo con el compuesto LQ M 320

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 322

CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO PAPILAR IZQUIERDO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	1.1041	0.555	0.3568	0.2649	0.2088	0.1575	0.1274
LQM322	0	0.8906	0.4385	0.2908	0.2178	0.1718	0.1393	0.1163
Análisis de varianza de un factor								
RESUMEN								
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza				
Columna 1	2	0	0	0				
Columna 2	2	1.9947	0.9973	0.0227				
Columna 3	2	0.9935	0.4967	0.0067				
Columna 4	2	0.6476	0.3238	0.0021				
Columna 5	2	0.4827	0.2413	0.0011				
Columna 6	2	0.3806	0.1903	0.0006				
Columna 7	2	0.2968	0.1484	0.0001				
Columna 8	2	0.2437	0.1218	0				
ANÁLISIS DE VARIANZA								
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F		
Entre grupos	1.3679	7	0.1954	46.2861	7.53E-06	3.5004		
dentro de los grupos	0.0337	8	0.0042					
Total	1.4017	15						

Se rechaza Ho, para la contracción del músculo papilar izquierdo con el compuesto LQ M 322

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 301

CONTRACCIÓN DE LA TIRA DE VENTRÍCULO DERECHO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	2.3584	1.0757	0.7125	0.5179	0.4134	0.3289	0.2717
LQM301	0	2.7262	1.3073	0.8323	0.5864	0.4492	0.3546	0.3117

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	2	0	0	0
Columna 2	2	5.0846	2.5423	0.0676
Columna 3	2	2.383	1.1915	0.0268
Columna 4	2	1.5448	0.7724	0.0071
Columna 5	2	1.1043	0.5521	0.0023
Columna 6	2	0.8626	0.4313	0.0006
Columna 7	2	0.6835	0.3417	0.0003
Columna 8	2	0.5834	0.2917	0.0008

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	8.9715	7	1.2816	96.9564	4.22E-07	3.5004
Dentro de los grupos	0.1057	8	0.0132			
Total	9.0773	15				

Se rechaza H_0 , para la contracción de la tira de ventrículo derecho con el compuesto LQM 301

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 318

CONTRACCIÓN DE LA TIRA DE VENTRÍCULO DERECHO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	2.3584	1.0757	0.7125	0.5179	0.4134	0.3289	0.2717
LQM318	0	1.8248	0.9018	0.6334	0.4768	0.381	0.3139	0.2569

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	2	0	0	0
Columna 2	2	4.1832	2.0916	0.1423
Columna 3	2	1.9775	0.9887	0.0151
Columna 4	2	1.3459	0.6729	0.0031
Columna 5	2	0.9947	0.4973	0.0008
Columna 6	2	0.7944	0.3972	0.0005
Columna 7	2	0.6428	0.3214	0
Columna 8	2	0.5286	0.2643	0.0001

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	5.9196	7	0.8456	41.708	0.00001	3.5004
Dentro de los grupos	0.1622	8	0.0202			
Total	6.0818	15				

Se rechaza H_0 , para la contracción de la tira de ventrículo derecho con el compuesto LQM 318

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 319

CONTRACCIÓN DE LA TIRA DE VENTRÍCULO DERECHO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	2.3584	1.0757	0.7125	0.5179	0.4134	0.3289	0.2717
LQM319	0	3.2	1.5372	0.9447	0.7276	0.6104	0.4856	0.422

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	2	0	0	0
Columna 2	2	5.5584	2.7792	0.3541
Columna 3	2	2.6129	1.3064	0.1064
Columna 4	2	1.6572	0.8286	0.0269
Columna 5	2	1.2455	0.6227	0.0219
Columna 6	2	1.0238	0.5119	0.0194
Columna 7	2	0.8145	0.4072	0.0122
Columna 8	2	0.6937	0.3468	0.0112

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	10.5365	7	1.5052	21.7926	0.0001	3.5004
Dentro de los grupos	0.5525	8	0.069			
Total	11.089	15				

Se rechaza Ho, para la contracción de la tira de ventrículo derecho con el compuesto LQM 319

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 320

CONTRACCIÓN DE LA TIRA DE VENTRÍCULO DERECHO								
CONCENTRACION (M-1)	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	2.3584	1.0757	0.7125	0.5179	0.4134	0.3289	0.2717
LQM320	0	1.2667	0.6532	0.4055	0.3047	0.2493	0.2047	0.1728

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	2	0	0	0
Columna 2	2	3.6251	1.8125	0.5959
Columna 3	2	1.7289	0.8644	0.0892
Columna 4	2	1.118	0.559	0.0471
Columna 5	2	0.8226	0.4113	0.0227
Columna 6	2	0.6627	0.3313	0.0134
Columna 7	2	0.5336	0.2668	0.0077
Columna 8	2	0.4445	0.2222	0.0048

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4.4991	7	0.6427	6.5831	0.0082	3.5004
Dentro de los grupos	0.781	8	0.0976			
Total	5.2802	15				

Se rechaza Ho, para la contracción de la tira de ventrículo derecho con el compuesto LQM 320

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA AL COMPUESTO LQM 322

CONTRACCIÓN DE LA TIRA DE VENTRÍCULO DERECHO								
CONCENTRACION (M-1)								
	10000000000	1000000000	100000000	10000000	1000000	100000	10000	1000
FENILEFRINA	0	2.3584	1.0757	0.7125	0.5179	0.4134	0.3289	0.2717
LQM322	0	0.8143	0.3868	0.2538	0.1925	0.1541	0.126	0.1053
Análisis de varianza de un factor								
RESUMEN								
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza				
Columna 1	2	0	0	0				
Columna 2	2	3.1727	1.5863	1.1921				
Columna 3	2	1.4625	0.7312	0.2372				
Columna 4	2	0.9663	0.4831	0.1052				
Columna 5	2	0.7104	0.3552	0.0529				
Columna 6	2	0.5675	0.2837	0.0336				
Columna 7	2	0.4549	0.2274	0.0205				
Columna 8	2	0.377	0.1885	0.0138				
ANÁLISIS DE VARIANZA								
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F		
Entre grupos	3.4407	7	0.4915	2.3751	0.1243	3.5004		
dentro de los grupos	1.6556	8	0.2069					
Total	5.0963	15						

Se acepta H_0 , para la contracción de la tira de ventrículo derecho con el compuesto LQM 322