



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

EFECTO VASORRELAJANTE E  
HIPOTENSOR DE LA FESCDIPINA  
EN RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A

GEMA MARIA MORENO CRUZ

ASESORES:

DIRECTORA: M. EN C. LUISA MARTINEZ AGUILAR

COASESORA: DRA. GUADALUPE BRAVO



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

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

U. N. A. M.  
SECRETARIA DE EDUCACION  
UNIDAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Q. MA. DEL CARMEN GARCIA MIJARES  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

" Efecto Vasorrelajante e Hipotensor de la Pescalpina en rata"

que presenta la pasante: Gema María Moreno Cruz

con número de cuenta: 8500224-9 para obtener el TITULO de:  
Química Farmacéutica Bióloga .

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 31 de enero de 2001

PRESIDENTE	<u>Q.F.B Maricela Noé Martínez</u>	
VOCAL	<u>M.en C.Luisa Martínez Aguilar</u>	
SECRETARIO	<u>M.en F.C Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M.en C. Francisco López Mejía</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M.en F.C Cecilia Hernández Barba</u>	

## **DEDICATORIAS**

M. en C. Luisa Martínez Aguilar: Maestra Luisa gracias por sus valiosos consejos, apoyo y la confianza que depositó en mí.

Dra. Guadalupe Bravo: Dra. Bravo gracias por todo el apoyo, tiempo y paciencia que me brindó durante todo este tiempo, ya que sin su valiosa colaboración no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Gracias al Centro de Investigación de Estudios Avanzados-IPN por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

## DEDICATORIA ESPECIAL

A mi mamá:

Enriqueta: No tengo palabras para agradecerle todo el apoyo que siempre nos ha brindado no solo a mí, sino a todos mis hermanos, gracias por esas sabias palabras que algún día plasmó en un bello poema, las que nunca he olvidado y que ahora aprovecho para revivirlas:

“En un día muy conmemorativo para mí, aprovecho para despedirme de todos y cada uno de mis maestros y compañeros, también aprovecho para decirle a mis compañeros que debemos voltear hacia atrás y mirar los pocos escalones que hemos recorrido, mirar hacia delante y observar ¡Cuántos escalones nos faltan por recorrer! por eso, si algún día tropezamos y caemos, debemos levantarnos con valor hasta llegar hasta lo más alto que podamos”.

D.A.R

Estas palabras las he llevado y llevaré presentes por siempre.

Gracias mamá.

## DEDICATORIAS

A mi abuelita Carolina y a mi abuelito Antonio Cruz: Abuelita, gracias por su invaluable apoyo y preocupación que siempre mostró por nosotros y a mi abuelito Antonio, que aunque ya no este con nosotros, siempre estará presente en mi memoria.

A mi papá: Papá gracias por estar siempre con nosotros, aunque Usted diga que ya estamos grandes, no es así papá, por que yo todavía lo necesito mucho, gracias por todo papá.

A mis hermanos Hugo y Juan: Hugo y Juanito no tengo palabras para agradecerles todo el apoyo que siempre me han brindado, ya que sin ustedes no hubiera sido posible llegar hasta este escalón, lo único que puede decirles es... *GRACIAS*.

A mi hermana Kitty: Gracias por toda tu ayuda, a lo largo y al final de la carrera.

A mis hermanos: Ale, Leonor, Quique y Mario.

**Gracias a Dios por haberme permitido llegar a este momento.**

# INDICE

## I. INTRODUCCION

I. 1.- Factores que afectan la presión arterial .....	3
I. 1.1.-Herencia .....	3
I. 1. 2.- Sexo .....	3
I. 1.3.- Edad y raza .....	4
I. 1. 4.- Obesidad .....	4
I. 1. 5.- Hábitos (consumo de tabaco y alcohol) .....	4
I.2.- Factores relacionados con la patogenia de la hipertensión arterial .....	5
I.2.1.- El riñón en la regulación de la presión arterial .....	6
I.3. Canales iónicos .....	7
I.3. 1.- Función .....	7
I.3. 2.- Características .....	7
I.3. 3.- Activación .....	8
I.4.- Contracción y relajación muscular en la regulación de la presión arterial .....	12
I.4.1.- Estructura del músculo cardíaco .....	12
I.5.- Papel del $Ca^{2+}$ en la regulación de la presión arterial .....	14

1.5.1.- Importancia del calcio .....	14
1.5.2.- El calcio y la contracción muscular .....	15
1.5.3.- Interacción del Ca <sup>2+</sup> con las proteínas reguladoras .....	15
1.5.4.- Efecto del Ca <sup>2+</sup> sobre la tropomiosina y miosina .....	16
1.5.5.- Interacción del Ca <sup>2+</sup> con la miosina en el músculo liso .....	17
1.5.6.- Movimiento del Ca <sup>2+</sup> durante la relajación muscular .....	18
I.6.- Tratamiento de la hipertensión arterial .....	19
1.6.1.- Clasificación .....	19
1.6.2.- Medidas terapéuticas <i>no</i> farmacológicas .....	19
1.6.3.- Fármacos utilizados en el tratamiento de la hipertensión.....	24
1.6.3.1.- Bloqueadores de canales de calcio.....	25
1.6.3.2.- Relación estructura actividad.....	29
1.6.3.3.- Mecanismo de acción .....	30
I.7.- Síntesis de nuevos fármacos en el Laboratorio de Química	
Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán .....	32
1.7.1.- Antecedentes de la Fescdipina .....	32
<b>II HIPÓTESIS .....</b>	<b>35</b>
<b>III OBJETIVOS .....</b>	<b>36</b>

**IV MATERIAL Y METODOS .....37**

IV.1.- Material..... 37

IV.2.- Métodos. .... 37

IV.3.- Fármacos y reactivos..... 42

**V. RESULTADOS**

V. 1.- Curvas dosis respuesta a la fenilefrina en presencia  
de cetona propilenglicol (30-70%), vehículo de la Fesdipina ..... 43

V. 2.- Curvas dosis respuesta a la Fesdipina en anillos  
de aorta precontraídosconfenilefrina ..... 43

V.3.- Curvas dosis respuesta de la Fesdipina y amlodipina.  
Comparación de estos efectos ..... 45

V.4.- Efecto de la amlodipina sobre la presión arterial y frecuencia  
cardíaca en ratas SHR. .... 48

V.5.- Efecto de la Fesdipina sobre la presión arterial y frecuencia  
cardíaca en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) .....48

V.6.- Efecto de la amlodipina y la Fesdipina sobre la  
presión arterial y frecuencia cardíaca en ratas SHR..... 48

V.7.- Efecto sobre la PAM y frecuencia cardíaca después  
de suspender el tratamiento con amlodipina ..... 52

V.8.-Efecto sobre la presión arterial y frecuencia  
cardíaca después de suspender el tratamiento con Fesdipina ..... 52

<b>VI.- DISCUSIÓN</b> .....	55
<b>VII.- CONCLUSIÓN</b> .....	60
<b>VIII.- REFERENCIAS</b> .....	61

## RESUMEN

Entre las enfermedades cardiovasculares la hipertensión arterial (HA) presenta una alta incidencia de mortalidad a nivel mundial. Los fármacos utilizados en el tratamiento de esta enfermedad disminuyen la presión mediante efectos sobre la resistencia periférica, el gasto cardíaco o ambos. En la amplia gama de fármacos utilizados mencionaremos a los bloqueadores de la entrada de calcio, los cuales se clasifican en 3 grupos las 1,4-dihidropiridinas (1,4-DHP), fenilalkilaminas y las benzodiazepinas. Las 1,4-DHP constituyen indudablemente la clase más importante desde el punto de vista de la química de síntesis y en la terapéutica de la HTA. Su importancia en este padecimiento ha despertado el interés en la síntesis de nuevos compuestos buscando mejorar la eficacia de los que actualmente están en el mercado. El Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán sintetizó a la Fescdipina con un perfil semejante a la nifedipina, una 1,4-DHP. De acuerdo los resultados obtenidos de los estudios *in vitro* e *in vivo* demostramos que la Fescdipina comparada con la amlodipina (1,4-DHP ampliamente utilizada en clínica) inhibe la contracción del músculo liso vascular *in vitro*; disminuye la presión arterial media (PAM) pero no modifica la frecuencia cardíaca (FC) en ratas SHR (*in vivo*). Los efectos de la Fescdipina como inhibidor de los canales de calcio son similares a las 1,4-DHP aunque demostró una potencia menor con respecto a la amlodipina.

## I. INTRODUCCION

En la población adulta de nuestro país, existe una alta frecuencia de enfermedades cardiovasculares en parte como consecuencia de la elevación sostenida de la presión arterial (PA), que caracteriza a la hipertensión arterial (HTA). Esta condición ocasiona una serie de complicaciones como: insuficiencia cardíaca, enfermedad coronaria, infarto del miocardio y muerte súbita.

Entre los factores de mayor importancia que contribuyen a la reducción de la esperanza de vida se encuentran: hipertensión, tabaquismo, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, obesidad, estrés, vida sedentaria. La sola presencia de estos factores de riesgo es suficiente para asociarse con una elevación de las cifras de presión arterial sobre los valores consideradas como normales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como presión arterial normal en el adulto, una presión arterial sistólica de 120 mm Hg y la diastólica debe mantenerse en valores menores a los 80 mm Hg. La PA es el resultado de complejos mecanismos donde intervienen: corazón, vasos sanguíneos, riñón, volumen extracelular y una serie de mecanismos reguladores neurogénicos y endócrinos. Se considera que una persona padece de hipertensión arterial cuando la presión sistólica es mayor de 140 mmHg y la diastólica de 80 mm Hg, según el

Comité Nacional de detección, evaluación y tratamiento de presión arterial alta (1993) .

El aumento de la PA constituye un factor de riesgo en la aparición de accidentes cerebrovasculares como consecuencia del aumento continuo de la presión en las arterias cerebrales ocasionando trombosis o rupturas vasculares. Estas lesiones pueden causar la muerte o secuelas muy variadas. La función renal también se ve afectada en los sujetos hipertensos presentándose con mas frecuencia la insuficiencia renal. Otra alteración común en estos pacientes es la aterosclerosis, caracterizada por el desarrollo de placas endoteliales (ateromas) que con el tiempo pueden conducir a la trombosis y las consecuencias dependen de la arteria lesionada.

A pesar de los avances en la investigación de las causas que originan la HTA, ésta se desconoce en el 90% de los casos; esta forma se le designa como *hipertensión arterial primaria o esencial* (Guyton, 1997; Orozco, R 1988). Se caracteriza principalmente por aumento de la resistencia arterial periférica, la PA media aumenta un 40-60%, la tasa de filtrado glomerular con frecuencia es casi normal, no hay gran variación en el gasto cardíaco, la resistencia periférica total aumenta aproximadamente un 40-60%. Sin embargo el hallazgo más importante en este tipo de hipertensión es la disfunción renal. Los riñones no excretan las cantidades adecuadas de sal y agua a menos que la PA este elevada. Otra serie de factores que conviene señalar y que suelen estar presentes en la mayoría de sujetos hipertensos es la herencia, el sexo, la edad, la raza que son innatos para

cada individuo; otros en los que el mismo sujeto puede tener una influencia directa como son: hábitos alimenticios, obesidad, ingesta de sal, consumo excesivo de alcohol, anticonceptivos orales, vida sedentaria, etc. (Orozco,R, 1988). Dada la importancia de estos factores, se resumen a continuación:

## **I. 1.- FACTORES QUE AFECTAN LA PRESION ARTERIAL**

### **I. 1.1.-Herencia**

De padres a hijos se transmite una tendencia o predisposición a desarrollar cifras elevadas de PA; se desconoce su mecanismo exacto. Se ha demostrado que cuando existe una historia familiar de HTA, la posibilidad de desarrollar la enfermedad es mayor que en el resto de la población. Como aún no se ha identificado el gen o los genes responsables (en el caso de que intervengan los genes realmente en este proceso) es conveniente que no solo los padres hipertensos sino también los hijos verifiquen su PA por lo menos una vez por año y presten especial atención a sus hábitos alimenticios (Stamler y col., 1979).

### **I. 1. 2.- Sexo**

Los hombres tienen más predisposición a desarrollar HTA que las mujeres. Esto probablemente es debido a la producción de estrógenos en la mujer en la etapa fértil ya que a partir de la menopausia la frecuencia en ambos sexos tiende a igualarse.

### **I. 1.3.- Edad y raza**

La edad es otro factor que influye sobre las cifras de PA. La PA sistólica y diastólica aumentan con la edad tanto en hombres como en mujeres. En cuanto a la raza, se ha reportado que en individuos de raza negra la probabilidad de desarrollar HTA es del doble con respecto a la raza blanca.

### **I. 1. 4.- Obesidad**

La relación que existe entre el peso y PA y entre sobrepeso e HTA se conoce desde hace mucho tiempo. Un individuo con sobrepeso esta más expuesto a tener más alta la PA que un individuo con peso normal. A medida que se aumenta de peso se eleva la PA, los mecanismos no están dilucidados, pero se ha involucrado a un aumento de gasto cardíaco, expansión de volumen, aumento de resistencia periférica, de la viscosidad sanguínea y posibles trastornos metabólicos (Maxwell, 1984).

### **I. 1. 5.- Tabaquismo**

La acción de tabaco sobre la HTA ha sido motivo de controversia durante muchos años. Hoy se conoce que la nicotina, principal componente activo de los cigarrillos, actúa a nivel presináptico, produciendo la liberación de acetilcolina, noradrenalina, dopamina, serotonina, vasopresina, hormona de crecimiento, interacción con los receptores nicotínicos de ganglios autonómicos, médula

espinal y suprarrenal, produciendo el aumento de adrenalina circulante y consecuentemente elevación de PA, así mismo se ha observado que la distensibilidad de grandes arterias disminuye inmediatamente después de fumar un cigarrillo (Dollery et al., 1988).

## **I.2.- FACTORES RELACIONADOS CON LA PATOGENIA DE LA HIPERTENSION ARTERIAL**

La comprensión de los mecanismos que causan la hipertensión esta basada fundamentalmente en una observación sólida: una alteración estructural, que consiste en el aumento del espesor de la pared vascular (Folkow, 1990). Este cambio estructural juega un papel importante en el aumento de la resistencia periférica que se observa en la HTA crónica. En la búsqueda de los cambios responsables del aumento de la resistencia vascular en la hipertensión, se han considerado prácticamente todos los mecanismos conocidos que participan en la regulación de la contracción o crecimiento del músculo liso vascular.

Desde un punto de vista general, se considera que la resistencia periférica es el resultado de un balance entre la vasoconstricción y la vasodilatación; éstas son mediadas por el sistema nervioso central, el sistema nervioso autónomo, influencias endócrinas y por mecanismos que regulan el flujo sanguíneo en cada lecho vascular. El aumento anormal de la resistencia periférica en la HTA puede

ser ocasionado por un incremento de la influencia de los mecanismos presores, por la disminución de la actividad de uno o varios de los mecanismos vasodilatadores o por la combinación de ambas alteraciones. A continuación se mencionarán algunos de los factores que juegan un papel importante en la regulación de la PA .

### **1.2.1.- El riñón en la regulación de la PA**

El riñón desempeña un papel fundamental en la regulación de la PA. Realiza esta función por dos mecanismos, uno inmediato mediado por la liberación de renina con la consecuente formación de angiotensina II y el otro que se activa lentamente y que opera sobre el volumen de los líquidos corporales y el sodio. Por ejemplo, si desciende la presión arterial, en forma inmediata se libera renina del complejo yuxtglomerular y se forma angiotensina II que causa vasoconstricción y aumento de la presión arterial. Si la situación no se corrige, entra en operación el segundo mecanismo por medio del cual ocurre retención de sodio y agua, aumenta el volumen extracelular y el intravascular y se eleva la presión arterial. La situación contraria ocurre cuando se eleva la presión arterial, en tal condición disminuye la liberación de renina y aumenta la excreción de sodio en la orina (natriuresis) y el volumen urinario (diuresis). Sin embargo en la hipertensión arterial esencial no opera correctamente este mecanismo fisiológico y se observa retención de sodio y agua. Debido a la importancia de este fenómeno

fisiopatológico, el sistema renina-angiotensina es un blanco para la manipulación farmacológica en el tratamiento de la HTA.

### **I.3. CANALES IONICOS**

#### **I.3. 1.- Función de los canales iónicos.**

La permeabilidad selectiva de la membrana para los flujos pasivos de iones crea una diferente concentración iónica ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , etc.) a ambos lados de la membrana. Debido a que los iones no se pueden mover con libertad a través de la membrana, existen mecanismos de transporte especializados que bajo cierto estímulo permiten el flujo de un ión en especial y en forma controlada. Este transporte iónico es realizado por proteínas integrales de membrana (Triggle, 1980). Tales proteínas constituyen los llamados "canales iónicos" y en general los "canales" permiten el paso solamente de un ión (Gaves, 1985). Además existen sistemas proteicos de membrana que hace un intercambio de iones, como ejemplo esta la ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ .

#### **I.3. 2.- Características de los canales iónicos.**

Se considera que los canales iónicos operados por voltaje tienen dos compuertas (o sensores de voltaje) una externa y otra interna. Estas puertas son en realidad extensiones de las moléculas proteicas (fig 1) .

Los canales dependientes de voltaje como los canales de  $\text{Na}^+$  o varios tipos de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  son responsables de la generación del potencial de acción en neuronas y otras células excitables como las fibras cardíacas y las células de los músculos liso y estriado (Lori Isom, 1994). Este tipo de canales contienen varias subunidades, generalmente en número de 4 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ) (Fig 2).

De acuerdo con el esquema de la figura 1, la cinética de los canales iónicos puede ser resumida de la siguiente forma:

- 1.- Apertura de los canales (activación),
- 2.- Conducción de los iones a través del canal,
- 3.- Inactivación de los canales conduciendo al cierre.
- 4.- Reactivación. Proceso por el cual los canales recuperan la disponibilidad para repetir el proceso (este paso generalmente es dependiente de voltaje y de tiempo).

### **I.3. 3.- Activación de los canales iónicos**

Los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje se abren a medida que ocurre la despolarización. Mediciones eléctricas sensibles sugieren que la apertura de cada canal se acompaña del movimiento de varias cargas positivas en la proteína, desde la superficie interna a la superficie externa de la membrana; luego un mayor número de cargas positivas recorren una pequeña distancia a través de la membrana y el desplazamiento de estas cargas de compuerta o

sensores de voltaje desencadenan un cambio conformacional en la proteína dando como resultado la apertura del canal y el flujo de iones al interior de la célula .

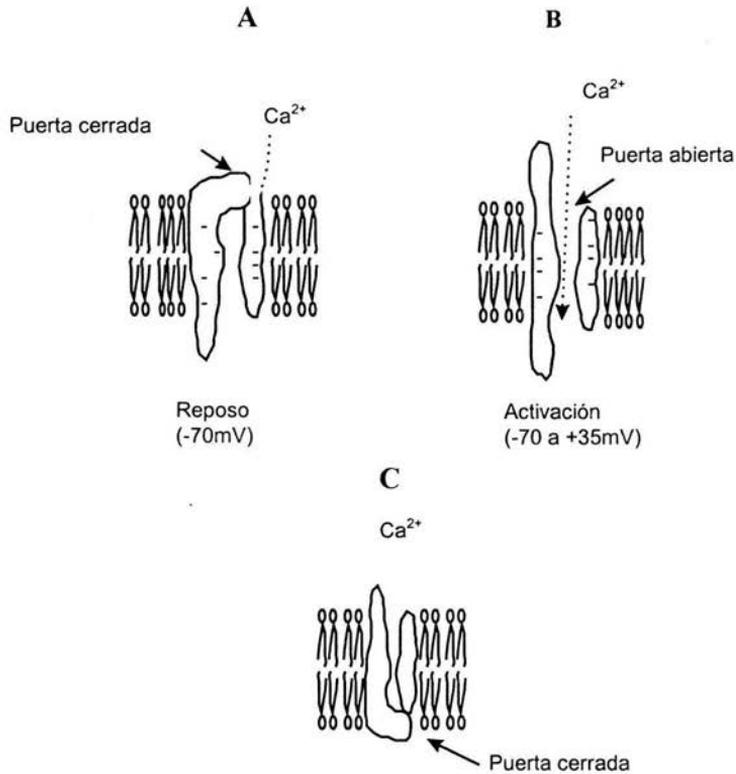


Fig. 1 Características de los canales de calcio con compuertas de voltaje, a) con un potencial negativo inicial en el interior de la célula: la puerta permanece cerrada, b) la proteína presenta un cambio conformacional debido a la despolarización permitiendo la entrada de iones calcio hacia el interior de la célula y c) la puerta interna se cierra cuando la membrana repolariza.

Los canales de calcio están constituidos por 6 subtipos: L,N,P,Q,R y T; de estos los más importantes son los canales de tipo "L" y "T" . Los canales de tipo "L" se encuentran en mayor número en las células del miocardio y se activan a un potencial intracelular de aproximadamente -30 mV. El canal de tipo "T" es más abundante en las células del músculo liso vascular y en el nodo senoauricular; su bloqueo disminuye la corriente de calcio hacia el interior del miocito y como consecuencia disminuye la contracción inducida por agonistas. El canal "L" se activa durante la despolarización de la membrana y es inhibido por los bloqueadores de estos canales de calcio, disminuyendo significativamente la corriente de calcio hacia el interior de las células del músculo liso vascular y en menor grado en el nodo senoauricular (Godfraind, 1968). En el músculo liso vascular los canales de tipo "L" son los determinantes de la corriente de entrada de calcio (Vogalist, 1991; Ganitrevich, 1991). La apertura de los canales de  $Ca^{2+}$  se controla mediante estímulos eléctricos a través de la membrana celular, permitiendo la entrada de calcio al interior de la célula. En condiciones de reposo, la compuerta externa esta cerrada y la interna abierta. El cambio de voltaje de la corriente de despolarización abre la compuerta externa y permite fluir lentamente el  $Ca^{2+}$  al interior de la célula hasta un nivel de concentración que cierra la compuerta interna, ambas compuertas vuelven al estado inicial cuando el calcio es expulsado de la célula.

Los estímulos  $\beta$ -adrenérgicos en el corazón y  $\alpha$ -adrenérgicos en las arterias provocan un mayor influjo de calcio en las células musculares

aumentando la frecuencia y fuerza de contracción, conductibilidad en el miocardio y contractilidad en las arterias (Braunwald, 1982).

## **I.4.- CONTRACCION Y RELAJACION MUSCULAR EN LA REGULACION DE LA PRESION ARTERIAL**

### **I.4.1.- Estructura del músculo estriado**

La PA esta regulada por la contracción y relajación de los músculos liso y cardíaco. El músculo liso se encuentra rodeando órganos huecos así como pequeños y grandes vasos sanguíneos, por lo que la contracción y relajación de este músculo controla el diámetro de los vasos sanguíneos. El músculo cardíaco se considera como el músculo principal en el mantenimiento y sostenimiento de la PA. El miocardio es el encargado de llevar a cabo las contracciones continuas e involuntarias necesarias para bombear la sangre a todo el cuerpo.

El mecanismo de contracción en los tres tipos musculares (liso, estriado y cardíaco) es muy similar, siendo el más representativo el músculo estriado por su organización regular de filamentos contráctiles de actina y miosina distribuidos en bandas.

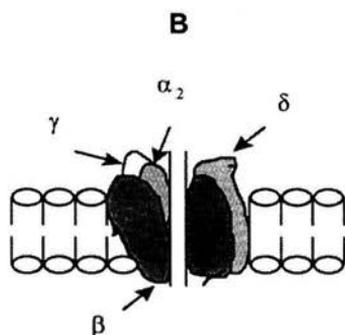
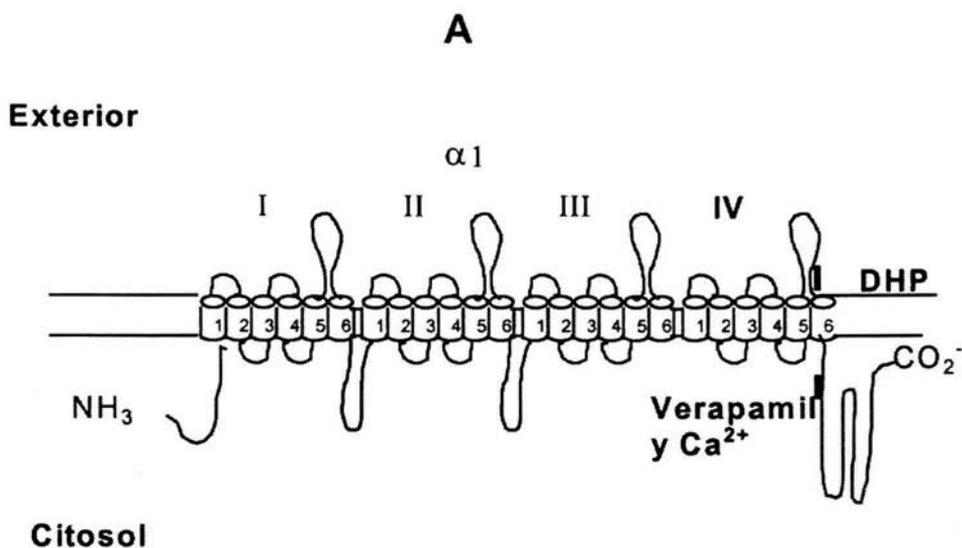


Fig. 2 A) estructura transmembranal propuesta para los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje. B) conformación tridimensional de las subunidades de los canales de calcio

El músculo cardíaco al igual que el músculo estriado esta constituido por fibras, en donde cada una contiene haces de filamentos llamados miofibrillas. Cada miofibrilla esta formada por una serie repetida de sarcómeras, siendo este último la unidad funcional de la contracción. La sarcómera contiene 2 tipos de proteínas, filamentos gruesos (miosina) y filamentos delgados (actina). Durante la contracción la actina se desliza sobre la miosina dentro de las sarcómeras. Cada miofibrilla esta rodeada por una red de membrana lisa denominada retículo sarcoplásmico (RS).

## **I.5.- INTERACCION DEL $Ca^{2+}$ EN LA REGULACION DE LA PRESION ARTERIAL**

### **I.5.1.- Importancia del calcio**

El calcio es un elemento indispensable para la vida humana, participa en múltiples reacciones enzimáticas, en la hemostasia, metabolismo del tejido óseo, proceso de excitación celular, en la contracción del tejido muscular liso y estriado; además se ha demostrado que una sobrecarga de calcio intracelular es responsable de la muerte celular. Tomando en consideración esto último, es de suma importancia regular la entrada de calcio al interior de las células, siendo esta la primordial función de los inhibidores de la entrada de calcio, los antagonistas de calcio constituyen una nueva clase de fármacos que prometen

el control terapéutico de las funciones celulares antes mencionadas (Braunwald, 1982).

### **1.5.2.- El calcio y la contracción muscular**

La concentración del  $\text{Ca}^{2+}$  es un factor importante en la génesis o sostenimiento de la PA, el citosol del músculo en reposo tiene una concentración libre de aproximadamente  $10^{-7}$  M, si se genera un estímulo éste provocará un aumento en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  a un valor aproximado de  $10^{-6}$  M y se iniciará la contracción muscular. El modo en que el calcio regula la contracción varía en los diferentes tipos de músculo. En el músculo estriado, la regulación de  $\text{Ca}^{2+}$  afecta a los filamentos delgados de actina, mientras que en el músculo liso la regulación implica principalmente a la miosina (Huxley, 1988).

La activación de las proteínas contráctiles (miosina y actina) depende del incremento de la permeabilidad de la membrana celular para el  $\text{Ca}^{2+}$  o el movilizado de los reservorios existentes en el retículo sarcoplásmico (RS).

### **1.5.3.- Interacción del $\text{Ca}^{2+}$ con las proteínas reguladoras**

En el miocardio existen otras proteínas involucradas en el acoplamiento de la actina y miosina: el complejo llamado troponina-tropomiosina. La tropomiosina es una proteína de molécula larga y delgada, y la troponina es una molécula globular compuesta por 3 subunidades (Blaustein, 1984).

La subunidad troponina I (T-I) es capaz de inhibir la interacción actina miosina; la troponina-calcio (T-C), fija el calcio disponible para el comienzo de la contracción y suprime la acción inhibitoria de T-I, permitiendo la activación de la actina, y la tercera subunidad, troponina-tropomiosina cuya función es ligar las subunidades T-I y T-C a la tropomiosina de una manera definida para permitir el libre deslizamiento de los filamentos de actina sobre los de miosina. Durante el proceso de contracción se utilizan grandes cantidades de energía suministrada por la hidrólisis de ATP. En ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  la presencia de troponina y tropomiosina en los filamentos delgados inhibe la unidad con actividad de ATPasa mediante la inhibición de la interacción de las cabezas de actina y miosina iniciándose el proceso de relajación del músculo (Brenner, 1987).

#### **I.5.4.- Efecto del $\text{Ca}^{2+}$ sobre la tropomiosina y la miosina**

En estado de reposo, la tropomiosina esta unida a los dominios externos de actina; cada tropomiosina se encuentra unida a un complejo de troponina (no unido al calcio). En estado activo la troponina se une a iones  $\text{Ca}^{2+}$ , provocando que T-C Y T-I se alejen de la tropomiosina. La tropomiosina liberada sufre una rotación hasta unirse a los monómeros de actina en una posición ligeramente más interna. La rotación de la tropomiosina permite que las cabezas de miosina se unan fuertemente a la actina induciendo la contracción.

### **I.5.5.- Interacción del $\text{Ca}^{2+}$ con la miosina en el músculo liso**

A diferencia del músculo cardíaco que se contrae rápidamente, la contracción en el músculo liso es de manera tónica y prolongada y mientras en el miocardio es el complejo troponina-tropomiosina el responsable de la contracción, en el músculo liso son la calmodulina y el caldesmon (complejos proteicos).

En el músculo liso, la unión miosina actina depende principalmente de la activación de las cadenas ligeras de la miosina estimulada por el  $\text{Ca}^{2+}$ . Las contracciones en el músculo liso están reguladas principalmente por una red compleja de fosforilaciones y desfosforilaciones de las cadenas ligeras de miosina, donde interviene la enzima *miosina kinasa C-L*, que activa la ATPasa de la miosina provocando la contracción.

Debido a que se requiere calcio para la activación de la miosina C-L, el nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  es el que regula la cantidad de fosforilaciones de la C-L y de este modo la contracción. El calcio se une inicialmente a la calmodulina y el complejo calmodulina- $\text{Ca}^{2+}$  se une y activa a la C-L quinasa induciendo la contracción (fig 3). En la vía de la calmodulina- $\text{Ca}^{2+}$ , la miosina C-L quinasa activa se forma cuando la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  es  $\geq 10^{-6}\text{M}$ ; la subsiguiente fosforilación de la cadena ligera lleva a la contracción muscular cuando la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  desciende hasta  $10^{-7}\text{M}$ , el  $\text{Ca}^{2+}$  y la calmodulina se disocian de la quinasa inactivándola. Bajo estas condiciones, la miosina C-L fosfatasa que no depende del  $\text{Ca}^{2+}$  para ser activa, desfosforila la cadena ligera de la miosina, provocando la relajación muscular. (Darnell J., 1996)

El segundo mecanismo de control sobre la contracción en el músculo liso es mediada por el caldesmon, proteína alargada, que en ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  se une a lo largo de la tropomiosina a los filamentos de actina y limita la capacidad de la miosina de unirse con la actina. Un aumento en el nivel de calcio desencadena la unión calmodulina- $\text{Ca}^{2+}$  con el caldesmon liberando al caldesmon de la actina, entonces la miosina puede unirse con la actina e iniciar la contracción (fig 4).

A bajas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $< 10^{-6}$  M) , el caldesmon se une a la tropomiosina y a la actina reduciendo la unión a la miosina y manteniendo el músculo en estado de relajación. A concentraciones superiores de  $\text{Ca}^{2+}$ , la calmodulina- $\text{Ca}^{2+}$  se une al caldesmon liberándolo de la actina, de este modo la actina se puede unir con la miosina y el músculo se puede contraer (Darnell J., 1996).

#### **5.6.- Movimiento del $\text{Ca}^{2+}$ durante la relajación muscular**

Son varios los mecanismos que involucran la contracción con altas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular:

- Despolarización de la membrana y cambio conformacional de los canales tipo "L" del RS, permitiendo la entrada de iones  $\text{Ca}^{2+}$  al citosol procedentes del medio extracelular.

- El calcio citosólico tal vez funcione como una señal de retroalimentación positiva para aumentar la salida de calcio procedente de los reservorios del RS a través de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  sensibles al voltaje.
- Liberación y regreso de  $\text{Ca}^{2+}$  del citosol a los sitios de reserva RS durante la repolarización y relajación mediante la ATPasa de  $\text{Ca}^{2+}$  presente en el retículo sarcoplásmico (Fig. 5)

Puesto que la despolarización se conduce a lo largo del sistema de túbulos transversales de la membrana del RS en milisegundos. Todos los sarcómeros de cada célula se contraen simultáneamente. La estimulación continua del músculo mantiene el nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico elevado. Cuando la estimulación cesa el calcio es expulsado de la célula.

## **I.6.- TRATAMIENTO DE LA HIPERTENSION ARTERIAL**

### **I.6.1.- Medidas terapéuticas *no* farmacológicas.**

En el tratamiento de la hipertensión arterial las medidas no farmacológicas contribuyen en gran medida en el descenso de la PA. Las medidas no farmacológicas para reducir la PA por lo general son recomendables como procedimiento inicial en el tratamiento de los sujetos que tienen presiones diastólicas de 80 a 90 mmHg (hipertensión leve) y aumentan la eficacia de la

farmacoterapia en los casos de hipertensión moderada o severa. La reducción de peso, restricción de sal y moderación del consumo de alcohol, suspensión del consumo de tabaco y ejercicio dinámico favorecen la disminución de la PA y mejoran la eficacia de la farmacoterapia (Valdez G, 1988).

### REGULACION MEDIANTE CALMODULINA-Ca<sup>2+</sup>

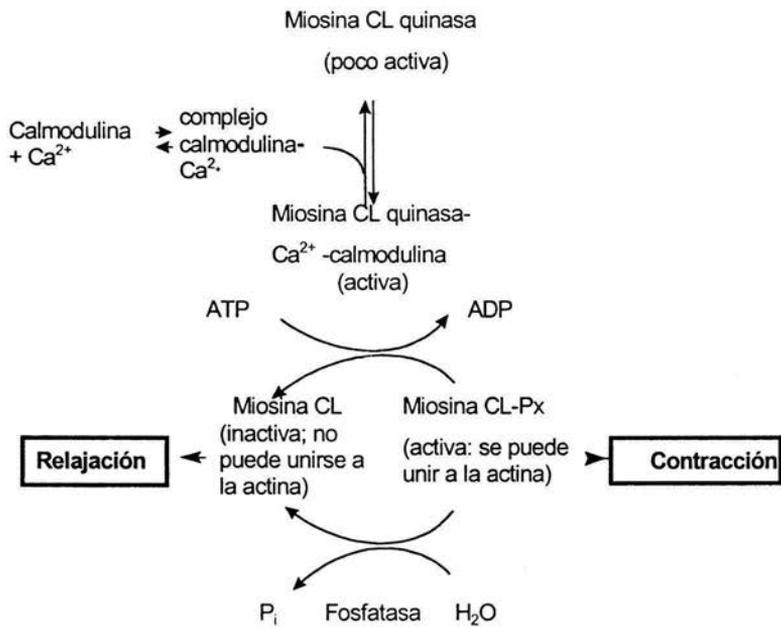


Fig. 3 Mecanismos que regulan la contracción y relajación del músculo liso mediada por el Ca<sup>2+</sup> y la calmodulina.

## REGULACION POR CALDESMON

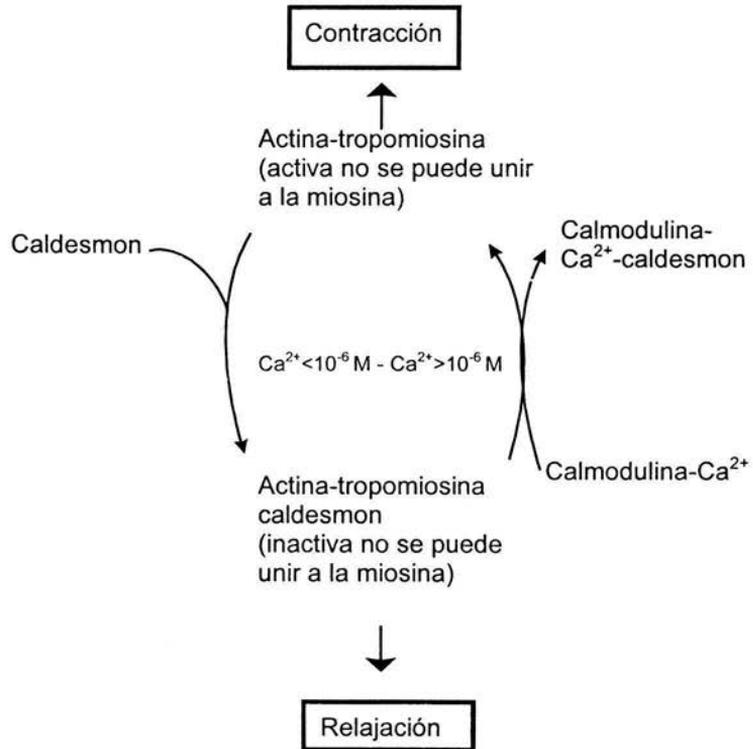


Fig 4 Mecanismo que regula la contracción y relajación del músculo liso mediado por el calcio y el caldesmon.

## INTERCAMBIO DE IONES DURANTE LA CONTRACCION Y RELAJACION

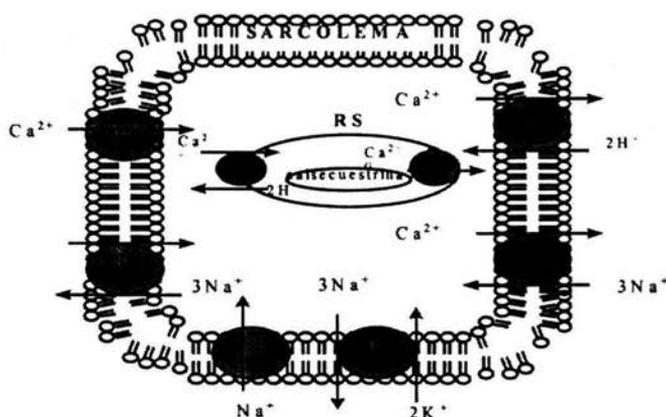


Fig 5. Los iones de  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$  entran en la célula del músculo cardíaco a través de los canales de  $Ca^{2+}$  (G) durante cada ciclo de despolarización de la membrana, señal que provoca la liberación de altas concentraciones de  $Ca^{2+}$  de los depósitos del retículo sarcoplásmico (RS). El  $Ca^{2+}$  intracelular interactúa con la troponina (C); éste activa los filamentos de actina y miosina, originando la contracción. La ATPasa  $Na^+, K^+$  sarcolémica (D) expulsa de la célula  $Na^+$ , en tanto la mayor parte del  $Ca^{2+}$  citosólico es realmacenado en el RS mediante una ATPasa de  $Ca^{2+}$  ( $F_1$ ), donde se une a la calsecuestrina; el exceso de  $Ca^{2+}$  es transportado hacia el exterior mediante una ATPasa de  $Ca^{2+}$  ( $F_2$ ) o una proteína de intercambio de cationes  $Na^+-Ca^{2+}$  (B, E) intercambiando  $3 Na^+$  por cada ion  $Ca^{2+}$  (Goodman and Gilman, 1996).

### **I.6.2.- Fármacos utilizados en el tratamiento de la Hipertensión**

Además de los recursos no farmacológicos, los fármacos utilizados en el tratamiento de HTA disminuyen la presión mediante efectos sobre la resistencia periférica, el gasto cardíaco o ambos. Diversos antihipertensivos disminuyen la actividad del sistema nervioso simpático del sistema renina-angiotensina, los canales de calcio así como el equilibrio de sodio y agua.

El objetivo de la terapia antihipertensiva es la reducción de la presión sanguínea a valores normales (Kaplan, 1995). Por su sitio de acción los antihipertensivos se clasifican en 5 grupos (Goodman and Gilman, 1996):

### **CLASIFICACIÓN DE LOS AGENTES ANTIHIPERTENSORES**

#### **I. Agentes que reducen el volumen de los líquidos corporales**

- A) Diuréticos tiazídicos (clorotiazida)
- B) Diuréticos que conservan potasio (amilorida y triamterene)
- C) Diuréticos de asa (furosemida)

#### **II. Agentes que disminuyen la actividad del sistema Nervioso Simpático**

- A) Bloqueadores  $\alpha$  adrenérgicos (prazosina)
- B) Bloqueadores  $\beta$  adrenérgicos (propranolol)
- C) Agonistas  $\alpha_2$  adrenérgicos (clonidina,  $\alpha$ -metildopa)

### **III. Agentes que disminuyen la actividad del sistema renina-angiotensina**

- A) Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (captopril)
- B) Bloqueadores de los receptores AT1 para angiotensina II (losartán)
- C) Inhibidores duales de la ECA y la endopeptidasa neutra (omapatrilat)

### **IV. Bloqueadores de los canales de calcio voltaje-dependientes de tipo L (nifedipina)**

### **V. Donadores de óxido nítrico (nitroglicerina, nitroprusiato de sodio)**

Los Bloqueadores de los canales de calcio serán detallados por su interés en este trabajo.

#### **I.6.2.1.- Bloqueadores de canales de calcio**

Los bloqueadores de calcio emergieron en los últimos años como fármacos para ser usados en distintas enfermedades, dentro de las cuales destacan la cardiopatía isquémica y la HTA. Su desarrollo fue considerado por Braunwald en 1990: "como uno de los mayores avances en la terapia cardiovascular en la última mitad del siglo XX", (Nayler, 1993).

Desde su aparición su uso se generalizó en gran medida, constituyendo en estos momentos una de las clases de fármacos más utilizados en estas alteraciones. En el tratamiento de la HTA, ocupan un importante recurso terapéutico.

Los antagonistas de calcio se han empleado en el manejo de enfermedades cardiovasculares, incluyendo la hipertensión arterial y la angina de pecho (Opie, 1990). Desde los 60s surgió el término de antagonistas de calcio y los estudios experimentales realizados en el músculo liso vascular (Godfraind, 1968) y en el tejido cardíaco (Fleckenstein, 1969) permitieron establecer su valor terapéutico.

Godfraind y colaboradores mostraron que algunas sustancias, incluyendo varias difenilpiperazinas, interfieren con el proceso activador de la entrada de calcio inducido por varios vasoconstrictores. Una observación importante fue que varias sustancias son capaces de inhibir la contracción provocada por el calcio en el músculo liso despolarizado de una manera similar a la acción de los antagonistas observada en estudios de receptores; esto apoyó el uso del término "antagonista de calcio" (Godfraind , 1968; Godfraind, 1969). Así, se ha identificado una gran variedad de sustancias con propiedades de antagonistas de los canales de calcio, y éstas se clasifican en 3 grupos: las fenilalquilaminas representadas por el verapamil, las benzotiazepinas por el diltiazem y las 1,4-dihidropiridinas (1,4-DHP), por la nifedipina (cuadro 1); estos grupos difieren en su estructura química, afinidad y selectividad para los isoformas de los canales de calcio de tipo L, reflejándose en acciones particulares sobre corazón y vasos sanguíneos. Las 1,4-DHP constituyen

indudablemente la clase más importante desde el punto de vista de la química de síntesis y en la terapéutica de la HTA.

La primera sustancia comercializada en este grupo fué la nifedipina; posteriormente se sintetizó un gran número de análogos de la nifedipina que se distinguen por los sustituyentes en la estructura base.

Los agentes menos selectivos como el verapamil, en el corazón deprimen la frecuencia, contractilidad y la conducción auriculoventricular y en los vasos arteriales causan vasodilatación y disminución de la PA. Las 1,4-DHP son agentes más selectivos para las isoformas de los canales de calcio presentes en el músculo liso arteriolar que causan vasodilatación sin afectar en forma significativa la función cardíaca, por esta razón ocasionan menos efectos indeseables a nivel de corazón. El diltiazem ocupa una posición intermedia entre las 1,4-DHP y el verapamil.

**CUADRO 1**  
**ANTAGONISTAS DE CALCIO**

<b>CLASIFICACION</b>
<p><b><u>Benzodiacepinas:</u></b> diltiazem</p> <p><b>Fenilalquilaminas:</b> verapamil</p> <p><b><u>Dihidropiridinas:</u></b></p> <p>a) de primera generación y acción corta: <b>nifedipina</b></p> <p>b) de segunda generación y acción sostenida: <b>amlodipina, lacidipina, nicardipina, nitrandipina, etc.</b></p>

Estudios recientes han demostrado que la nifedipina es capaz de reducir la morbimortalidad debido a accidentes cerebrovasculares en pacientes hipertensos, inhibiendo la agregación plaquetaria por el bloqueo de la entrada de calcio a las

mismas. Como consecuencia de la vasodilatación, las 1,4-DHP producen un aumento del gasto cardíaco mediado por un aumento de la frecuencia cardíaca (taquicardia). Este efecto es menos importante con las formulaciones de liberación sostenida y con las dihidropiridinas de acción prolongada como la amlodipina.

#### **1.6.2.2.- Relación estructura-actividad de las 1,4-DHP**

Los derivados de las 1,4-DHP de la segunda generación tomaron como referencia la estructura base de la nifedipina. Para que estas moléculas presenten actividad biológica se observan las siguientes características:

a) Presencia del anillo dihidropiridínico, su oxidación a piridina anula la actividad como bloqueador de la entrada de calcio.

b) El nitrógeno del anillo dihidropiridínico no debe estar sustituido con un grupo alquil o fenilo, éstas causan pérdida o disminución de potencia.

c) La presencia de grupos alquilo generalmente (metilo), en posición 2,6 del anillo dihidropiridínico; también es posible utilizar otro tipo de sustituyentes, por ejemplo amino, ciano y cadenas básicas sin reducción de actividad biológica.

El grupo éster en posición 3 y 5 del anillo dihidropiridínico, al sustituirse por (aldehído, cetona o alquilamina).

e) Un sustituyente arilo (generalmente fenilo sustituido) en posición 4 del anillo dihidropiridínico es de suma importancia, en posiciones *ortho* o *meta*, éstas aumentan la actividad mientras que en la posición *para* disminuyen su actividad. Un ejemplo de estas 1,4-DHP llamadas de segunda generación es la amlodipina.

La amlodipina se distingue de otras 1,4-DHP en que es un agente antihipertensivo oral, con un principio de acción lento y de larga duración y no es fotosensible debido a la presencia del grupo NH<sub>2</sub> en la posición 2. La amlodipina inhibe las contracciones inducidas por el calcio en preparaciones de anillos de aorta de rata despolarizados con una solución rica en potasio, alrededor del doble de la nifedipina (Borges, 1989). Por otro lado, el efecto inhibitor de la amlodipina se instala mas lentamente que el de la nifedipina: el máximo de inhibición es alrededor de 3 horas mientras que para la nifedipina es de 30 min.

Desde un punto de vista farmacocinético, la amlodipina presenta un gran volumen de distribución y una depuración hepática baja y por lo tanto una vida media de eliminación larga. Estas propiedades le confieren a la amlodipina una larga duración de acción (Stopher, 1988; Faulkner, 1986; Sanguinetti, 1984).

### **1.6.2.3.- Mecanismo de acción**

Son varios los mecanismos que tratan de explicar el descenso de la PA inducida por los antagonistas de calcio. El primero de ellos, propuesto por Opie, es la interferencia que ocurre con la contracción calcio-dependiente del músculo liso

vascular, lo que lleva a una disminución de la resistencia vascular periférica. Fleckestein en 1969 propuso que estos compuestos interfieren específicamente con la corriente lenta de la entrada de calcio al sarcolema.

Van Zwieten y col (1983) demostraron que la disminución de la PA causada por estos fármacos no solo se atribuye a una inhibición selectiva de la entrada de calcio en las células del músculo liso vascular a través de los canales tipo L; sino que también pueden bloquear los canales operados por receptores tanto  $\alpha$ -adrenoreceptores como los receptores de la angiotensina II, que desencadenan el ingreso del calcio hacia las células. Así mismo, este grupo demostró que los antagonistas de calcio interfieren con la vasoconstricción inducida por la estimulación de receptores vasculares  $\alpha$ , inhibiendo la respuesta presora de agonistas selectivos de los receptores  $\alpha_2$  postsinápticos vasculares, mientras que la mayoría de los agonistas  $\alpha_1$  causan una vasoconstricción en la que los bloqueadores de calcio causan un menor efecto. Se ha propuesto que estos fármacos no solo inhiben la entrada de calcio, sino también la liberación del calcio intracelular mediante el fenómeno llamado "calcium induce-calcium release". Otro mecanismo propuesto es el efecto sobre la calmodulina, al interferir con una serie de enzimas se inhibe la contracción muscular debido a que este complejo protéico es el responsable de la contracción en el músculo liso.

## **I.7.- ANTECEDENTES DE LA FESCDIPINA**

### **I.7.1.- Síntesis de la Fescdipina como bloqueador de la entrada de $\text{Ca}^{2+}$**

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se desarrollo una línea de investigación orientada a la síntesis y valoración biológica de nuevos compuestos, 1,4 dihidropiridínicos mediante la síntesis de Häntszch los cuales fueron caracterizados por métodos espectroscópicos tradicionales: resonancia magnética nuclear protónica y carbono 13, infrarrojo, ultravioleta y espectrometría de masas. La modificación de dichos compuestos fue realizada en la posición 4 de la estructura base ( fig. 6.).

De los compuestos 1,4 dihidropiridínicos sintetizados, se seleccionó a la Fescdipina la cual presentó actividad farmacológica.

La Fescdipina con un perfil semejante a la nifedipina se le han realizado diversos estudios. Martínez y Rebollo en 1996 demostraron que la Fescdipina posee propiedades antiarrítmicas. Almanza Fuentes (1996) evaluó la hepatotoxicidad de la Fescdipina, se demostró que la Fescdipina presenta un amplio margen de seguridad cuando es administrada por vía oral (dosis terapéutica de 3.1 mg/kg). También se han realizado pruebas de efecto inmunotóxico en rata basados en pruebas: 1) hematológicas cuenta blanca, roja y diferencial 2) inmunológicas cuantificación de anticuerpos totales y específicos, activación de la fagocitosis, cuantificación de células hemolíticas formadoras de placas e histolíticas. Los resultados hasta ahora

obtenidos indican que no hay cambios o alteraciones en los parámetros evaluados por lo que se sugiere que la Fescdipina no produce efectos al sistema inmune (Martínez A., 1995; Martínez.1996)

Con respecto a otros efectos tóxicos la Fescdipina tiene una clara ventaja sobre otros antagonistas de calcio ya que se ha publicado que es frecuente el envenenamiento por la ingestión de dosis elevadas de nifedipina (600 mg) así como con otras de reciente introducción como la amlodipina (70 mg) en donde la hipotensión severa es una de las principales causas que conducen al paciente al desarrollo de complicaciones y en ocasiones la muerte. Así mismo la Fescdipina tiene la propiedad de no ser fotosensible, característica que comparte con la amlodipina.

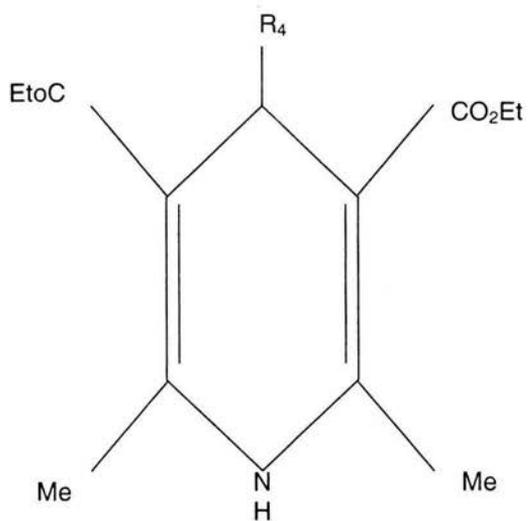


Fig. 6.- Estructura general de los compuestos 1,4 Dihidropiridínicos sintetizados en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

## II. HIPOTESIS

Si la *Fescdipina* es un compuesto derivado de las 1,4 Dihidropiridinas entonces inhibirá la contracción del músculo liso vascular *in-vitro*; así como la disminución de la presión arterial media en la cepa de ratas espontáneamente hipertensas (SHR).

### **III. OBJETIVOS**

Investigar si la Fescdipina con estructura química semejante a 1,4-DHP es capaz de:

- Bloquear la entrada de calcio en el músculo liso vascular.
- Disminuir la presión arterial media en ratas con hipertensión espontánea (SHR).

#### **III. 1.- OBJETIVOS PARTICULARES**

- Estudiar el efecto bloqueador de la Fescdipina en la contracción inducida por fenilefrina en preparaciones de anillos de aorta de rata.
- Determinar si la Fescdipina es capaz de disminuir la PAM en ratas SHR.
- Comparar los efectos inhibitorios de la Fescdipina con una 1,4-dihidropiridina de referencia, la amlodipina

## IV. MATERIAL Y METODOS

### IV.1.- MATERIAL

Se emplearon ratas Wistar machos con peso de aproximadamente de 250-300g. Los animales fueron mantenidos en condiciones regulares de laboratorio con ciclos de luz-obscuridad de 12 horas y fueron alimentados con una dieta normal y agua.

### IV.2.1.- MÉTODOS.

#### IV.2.1a Experimentos *in vitro*

Una vez sacrificados los animales por decapitación, se realizó una incisión abdominal longitudinal; se extrajo la aorta torácica y se colocó en una caja Petri con solución Krebs con la siguiente composición en mM/L: NaCl 118; glucosa 11.7; NaHCO<sub>3</sub> 25.0; KCl 4.8; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.2; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 2.5 y EDTA 0.026. Burbujeada con una mezcla de carbógeno (95% O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub>).

La aorta fue aislada de grasa y tejido conectivo; el segmento torácico fue cortado en anillos de aproximadamente 3 mm de longitud. Cada anillo se fijó en 2 ganchos y se colocó en cámaras para órgano aislado de 10 ml que contenían solución de Krebs, saturada por flujo continuo de gas carbógeno. El anillo se fijó por

un extremo al fondo de la cámara y por el otro a un transductor de tensión que acoplado a un polígrafo (marca Grass), permitió el registro isométrico de la fuerza de contracción, como lo muestra la fig.7

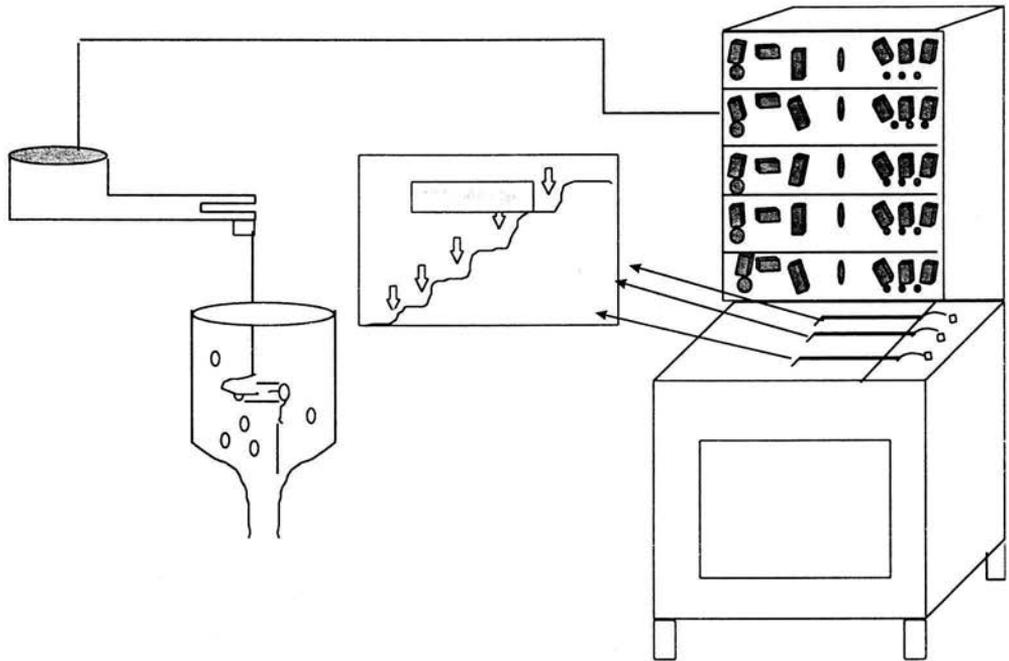


Fig. 7 Representación del montaje de tejido de órgano aislado.

Las preparaciones fueron sometidas a una tensión de 2 gr. y estabilizadas durante una hora durante la cual se practicaron lavados cada 30 minutos. Estas fueron estimuladas tres veces con fenilefrina  $10^{-6}$  M con el propósito de obtener respuestas contráctiles reproducibles durante el desarrollo del protocolo experimental, al alcanzar el máximo en la contractilidad las preparaciones fueron lavadas.

Posteriormente se realiza una curva concentración-respuesta a la fenilefrina ( $10^{-9}$  - $10^{-6}$  M); la inyección de cada concentración se efectúa cuando se ha alcanzado el máximo. Las preparaciones se lavaron y después de 20 minutos de recuperación fueron incubadas durante 30 minutos con Fescdipina y a continuación fue repetida la administración del agente constrictor .

La Fescdipina es disuelta en un vehículo de propilenglicol-cetona (70:30). Las curvas control, en ausencia del fármaco, recibieron exclusivamente el agente contráctil y el vehículo utilizado para ser disuelta la Fescdipina; en el caso de la amlodipina, ésta es disuelta en agua bidestilada.

En todas las preparaciones los fármacos fueron aplicados en un volumen de 0.1 ml, el pH de las soluciones se mantuvo en 7.4 y la temperatura en el baño permaneció a 37°C. En el cuadro 1.2 se muestran las concentraciones utilizadas de las sustancias en estudio.

**CUADRO 2.**  
**CONCENTRACIÓN DE FÁRMACOS**

<b>FESCDIPINA</b> <b>-LOG [M]</b>	<b>AMLODIPINA</b> <b>-LOG [M]</b>
5.0	5.0
4.0	4.0
3.5	3.5
3.0	-

## **IV.2.2 Experimentos *in vivo*.**

### **IV.2.2.1 Registro de la PAM y FC.**

Para determinar si la Fescdipina es capaz de disminuir la PAM, se utilizaron 12 ratas con hipertensión espontánea (SHR), las cuales fueron divididas en grupos de 3 animales cada uno: grupo 1: control-Fescdipina (vehículo); grupo 2: Fescdipina; grupo 3: amlodipina y grupo 4: control-amlodipina. La administración de cada uno de los fármacos se realizó vía oral con la ayuda de una sonda gástrica.

Posteriormente se midió la PAM de una manera indirecta, registrando el pulso sistólico de la presión en la arteria caudal (método pletismográfico). La toma de PAM se llevó a cabo en un cuarto cerrado a una temperatura de 30°C. Con el propósito de dilatar las arterias y permitir un mejor flujo sanguíneo a través de la arteria caudal, los animales se colocaron en una jaula provista de calefacción que mantuvo una temperatura interior de 36-38°C. Posteriormente fueron expuestos por 5 minutos a un calentamiento con una lámpara de luz infrarroja para que la arteria fuera dilatada y facilitar el registro de la PAM y FC. El sistema de registro consta de un sensor IITC con una haz de luz dirigido a una celda fotosensible, montada en un manguillo de hule látex inflable, en donde se introduce la cola de la rata. Un esfigmomanómetro conectado al manguillo suministra la presión necesaria para que se infle rápidamente, obstruya la arteria caudal y posteriormente se desinfle de manera gradual y constante. Las señales provenientes de la fotocelda y del

esfigmomanómetro son captadas simultáneamente por un polígrafo Grass modelo 7D; para la frecuencia se utilizó un tacógrafo Grass acoplado del polígrafo.

La administración de los fármacos por vía oral fue cada 24 hs. durante dos semanas, la PAM y FC fueron registrados cada tercer día.

### **IV.3.- FARMACOS Y REACTIVOS**

(±) Amlodipina (Pfizer, Sandwich, UK) fue disuelta en agua bidestilada.

Fescdipina (Lab. de Química Medicinal de la FESC) fue disuelta en propilenglicol-cetona (70:30).

Fenilefrina (Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA) disuelta en agua bidestilada.

Todos los fármacos fueron preparados para cada experimento.

## V. RESULTADOS

A continuación se detallan los resultados obtenidos en el estudio de la Fescdipina comparándola con la amlodipina, 1,4-DHP.

### V. 1.- Curvas dosis respuesta a la fenilefrina en presencia de propilénglicol-acetona (70:30).

Como puede observarse en la fig. 5.1 el vehículo propilénglicol-acetona (?) empleado para preparar la Fescdipina no alteró la contracción inducida por la fenilefrina (0).

### V.2.- Efecto de la Fescdipina en preparaciones arteriales precontraídas con fenilefrina

La fig 5.2 ilustra el efecto de la amlodipina y de la Fescdipina a diferentes concentraciones ( $10^{-5}$ - $10^{-3}$  M). En la gráfica se observa la reducción de la respuesta contráctil a la fenilefrina. La respuesta contráctil es referida a un 100% de la contracción máxima obtenida con fenilefrina. Una inhibición total de la contracción es observada con Fescdipina  $10^{-3}$  M y de  $10^{-3.5}$  M para la amlodipina. Se observó una inhibición del 50% en la contracción máxima a  $10^{-4}$  M con Fescdipina y de  $10^{-5}$  con amlodipina.

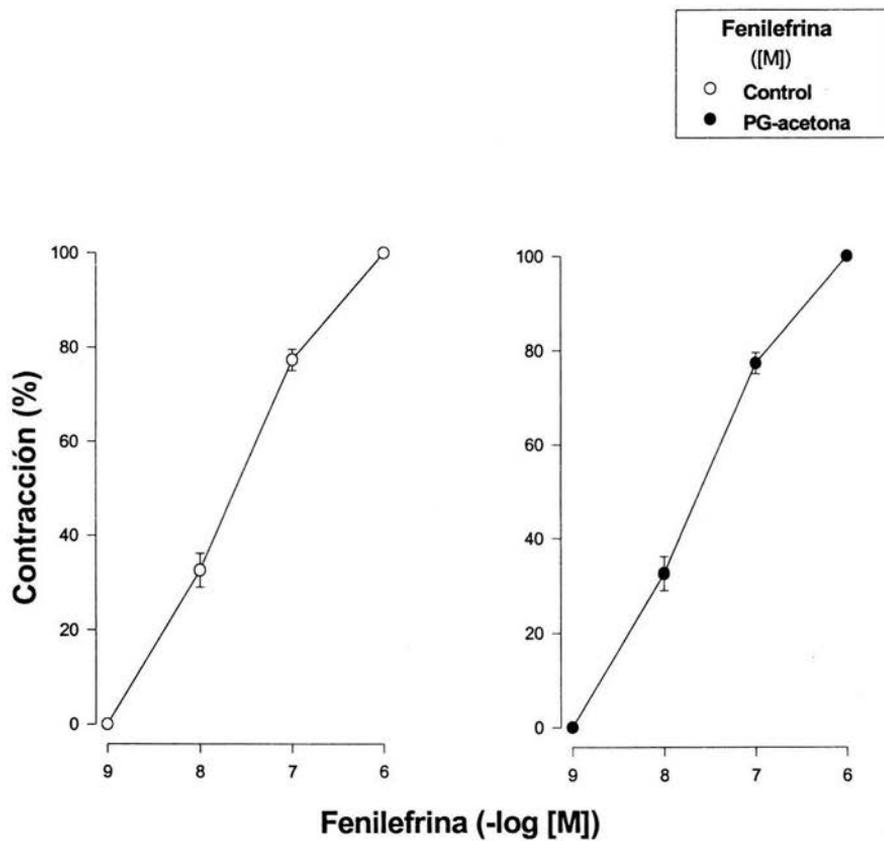


Fig 5.1 Curvas dosis-respuesta a la fenilefrina ( $10^{-9}$ - $10^{-6}$  M) en anillos de aorta de rata. La fenilefrina fué disuelta en agua (○) o propilenglicol-acetona 70:30 (●). Cada símbolo corresponde a la media  $\pm$  e.e.m de 6 experimentos

### **V.3.- Comparación del efecto bloqueador de la Fescdipina y amlodipina en anillos de aorta de rata.**

En la fig. 5.3 se muestran los resultados obtenidos con Fescdipina (▲) y amlodipina (•) en preparaciones de anillos de aorta de rata contraídos con fenilefrina. Se puede observar que a una misma concentración ambos compuestos produjeron inhibición de la contracción. La inhibición producida por la Fescdipina fue significativamente diferente al control y a la amlodipina.

Como se puede observar a concentraciones de  $10^{-5}$  M y  $10^{-4}$  M el efecto de la Fescdipina con respecto a la amlodipina fue de aproximadamente 10 veces menor; la inhibición de la contracción es total a  $10^{-3}$  M de Fescdipina y amlodipina.

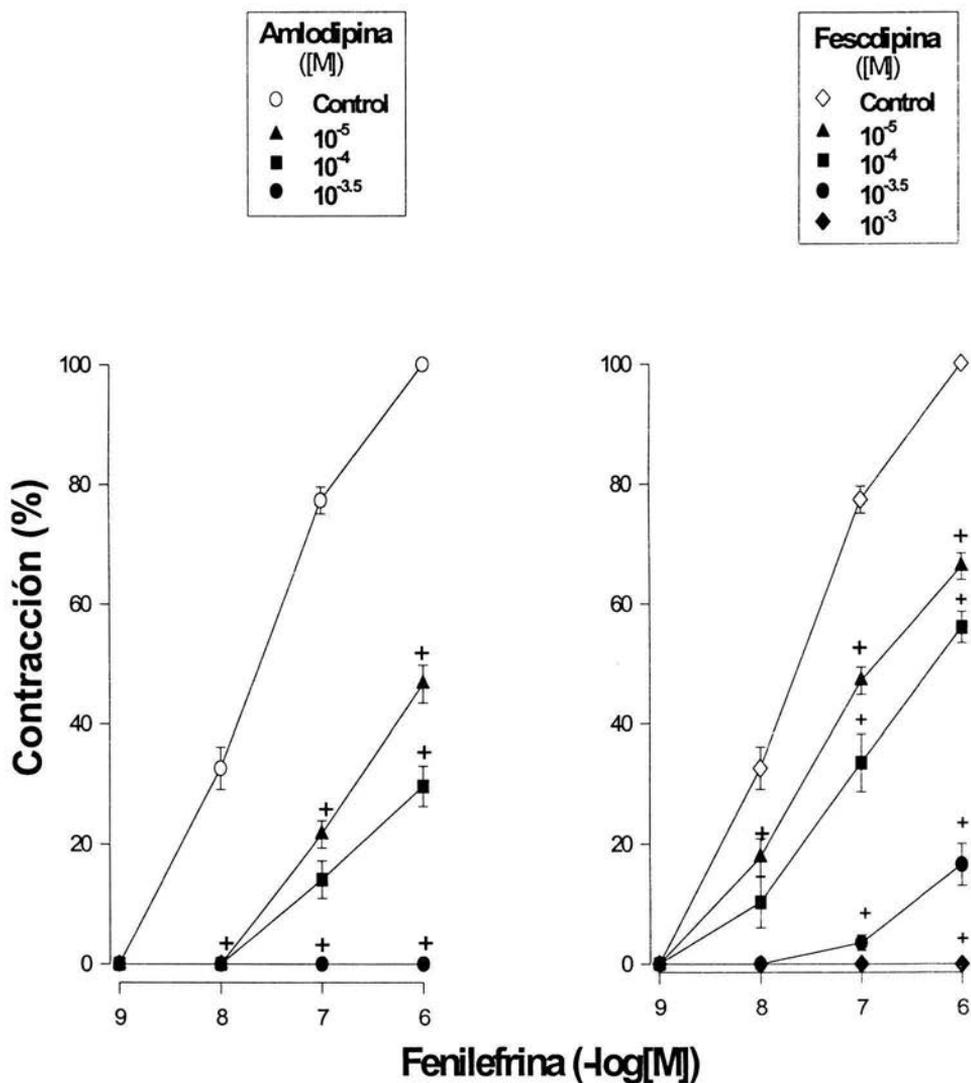


Fig 5.2 Efecto de la amlodipina y Fesclodipina en anillos de aorta de rata incubados durante 30 min:  $10^{-3}$  (◆);  $10^{-3.5}$  (●);  $10^{-4}$  (■); y  $10^{-5}$  M (▲); curvas control (○;◇). Los resultados se expresan como porcentaje de la contracción máxima inducida por la fenilefrina. Símbolos corresponden a la media  $\pm$  e.e.m de 6 experimentos. \*  $p < 0.05$  diferente al control.

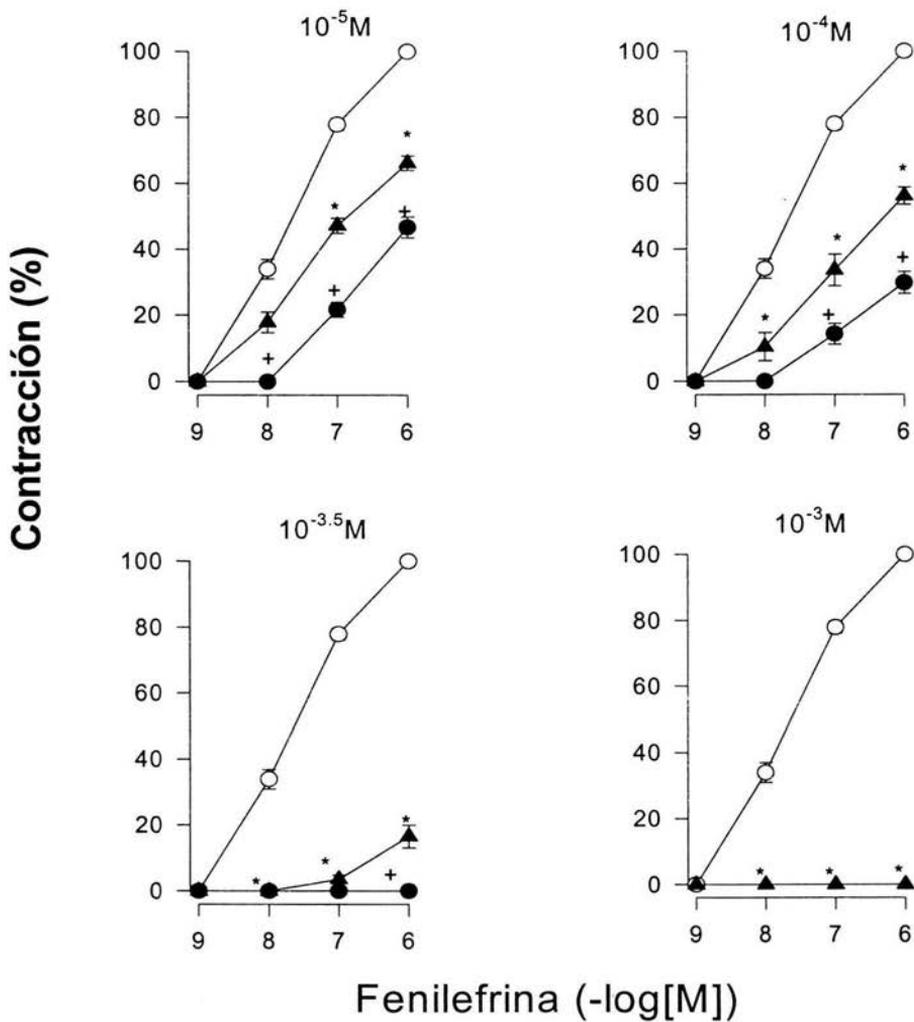


Fig 5.3 Efecto bloqueador de la Fescdipina ( ▲ ) comparado con la amlodipina ( ● ) a:  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3.5}$  y  $10^{-3}$  M. Los círculos blancos representan los controles. Los resultados se expresan en porcentaje de la tensión máxima producida por la fenilefrina y cada símbolo representa la media de  $\pm$  e.e.m 6 experimentos. \*  $p < 0.05$  vs control; +  $p < 0.05$  vs las sustancias entre ellas.

#### **V.4.- Efecto de la amlodipina sobre la PAM y FC en ratas SHR.**

La administración de amlodipina vía oral a 10 mg/kg/día en ratas SHR se ilustra en la fig. 5.4 (A). Se registró la PAM y la FC antes (control) y 72 hs después de la administración de la amlodipina; ésta ocasionó la disminución de PAM tanto sistólica como diastólica. La FC, no se modificó.

#### **V.5.- Efecto hipotensor de la Fescdipina**

La fig. 5.5 muestra los resultados obtenidos después de la administración de 10 mg/kg/día de Fescdipina en ratas SHR. La PAM y la FC se registraron antes (control) y después de la administración (72 hs.) de Fescdipina; ésta disminuyó la PAM, sin registrarse cambios en la FC, al igual que el efecto observado por la amlodipina.

#### **V.6 Comparación del efecto de la amlodipina y la Fescdipina sobre la PAM y la FC en ratas SHR.**

La fig. 5.6 muestra el efecto de la Fescdipina y amlodipina en la PAM y la FC. Se observa que a una misma dosis (10 mg/kg/día) ambos compuestos produjeron un descenso en PAM, aunque el efecto producido por la Fescdipina fue menor; la FC se mantuvo sin cambios en ambos casos.

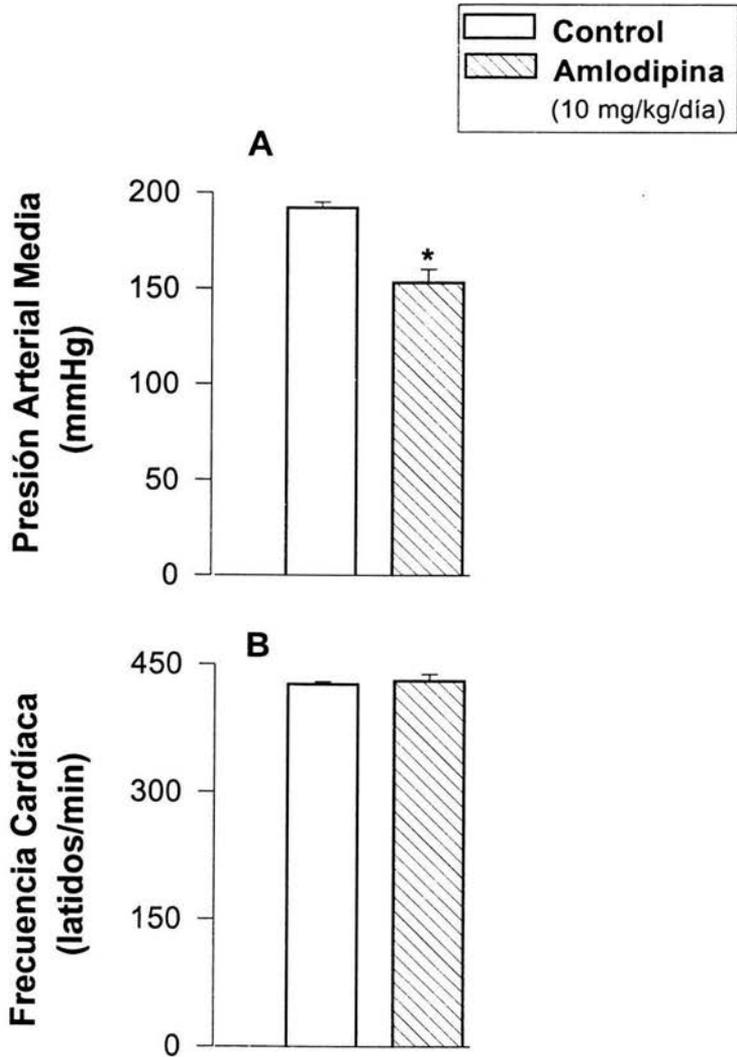


Fig. 5.4 Efecto de la amlodipina (10 mg/kg/día) sobre la PAM (A) y FC (B) en ratas SHR. Los resultados se expresan en mmHg y en latidos por minuto en el caso de la PAM y de la FC respectivamente. \* $p < 0.05$  vs control.

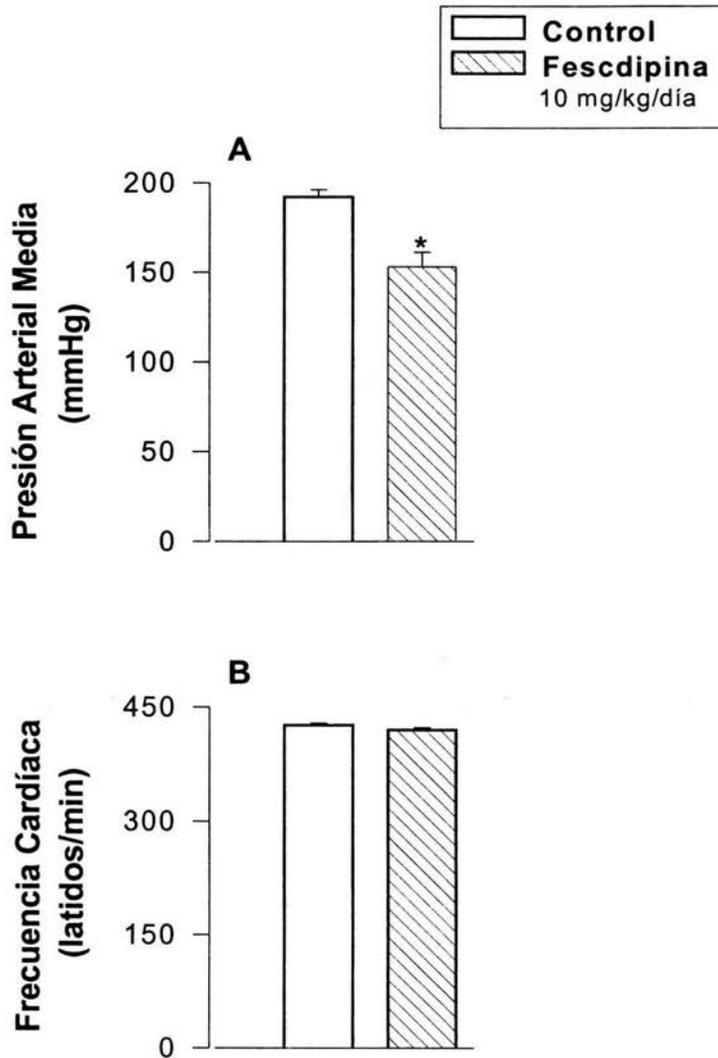


Fig. 5.5 Efecto de la Fescdipina sobre la PAM (A) y FC (B) administrada por vía oral en ratas SHR con dosis de 10 mg/kg/día. \*p<0.05 vs control.

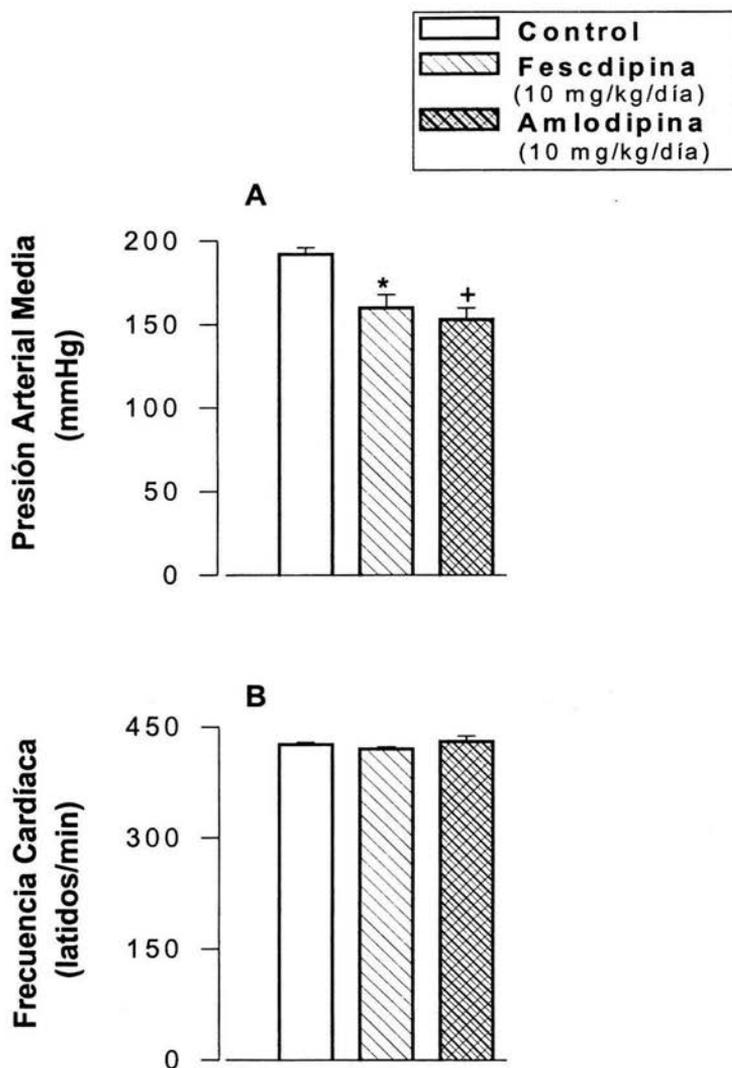


Fig. 5.6 Efecto de la Fesdipina y amlodipina sobre la PAM (A) y FC (B) administrada por vía oral en ratas SHR con dosis de 10 mg/kg/día. \* $p < 0.05$  vs control; † $p < 0.05$  vs control.

### **V.7.-Efecto sobre la PAM y FC después de suspender el tratamiento con amlodipina**

La fig. 5.7 muestra los resultados obtenidos después de interrumpir el tratamiento con amlodipina 3 días después. La PAM (A) regresa a valores basales al suspenderse el tratamiento. La FC mantuvo sin cambios (B).

### **V.8 Efecto sobre la PAM y FC después de suspender el tratamiento con Fescdipina**

La fig. 5.8 ilustra los resultados obtenidos al interrumpir el tratamiento con Fescdipina 3 días después. Al suspender el tratamiento la PAM regresa a valores basales. La FC no mostró cambios respecto a los valores registrados antes de iniciar el tratamiento, durante y al suspender el mismo.

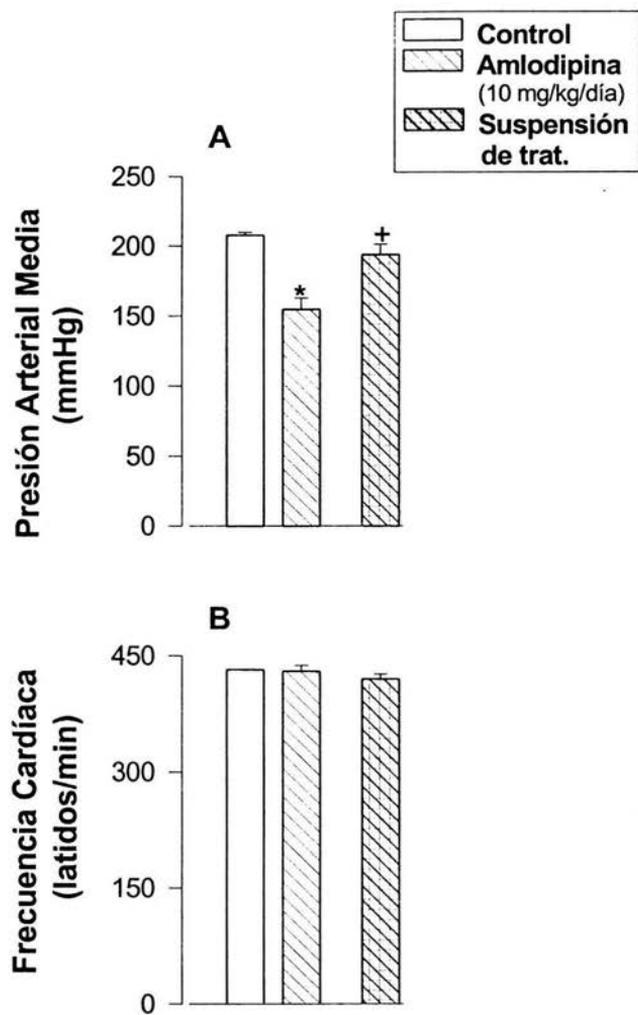


Fig. 5.7 Comparación de los cambios de PAM y FC en los animales control, tratados con amlodipina (10 mg/kg/día) y 3 días después de interrumpir el tratamiento. Las barras representan la media  $\pm$  e.e.m. de 6 experimentos \* $p < 0.05$  vs control; † $p < 0.05$  vs los animales tratados

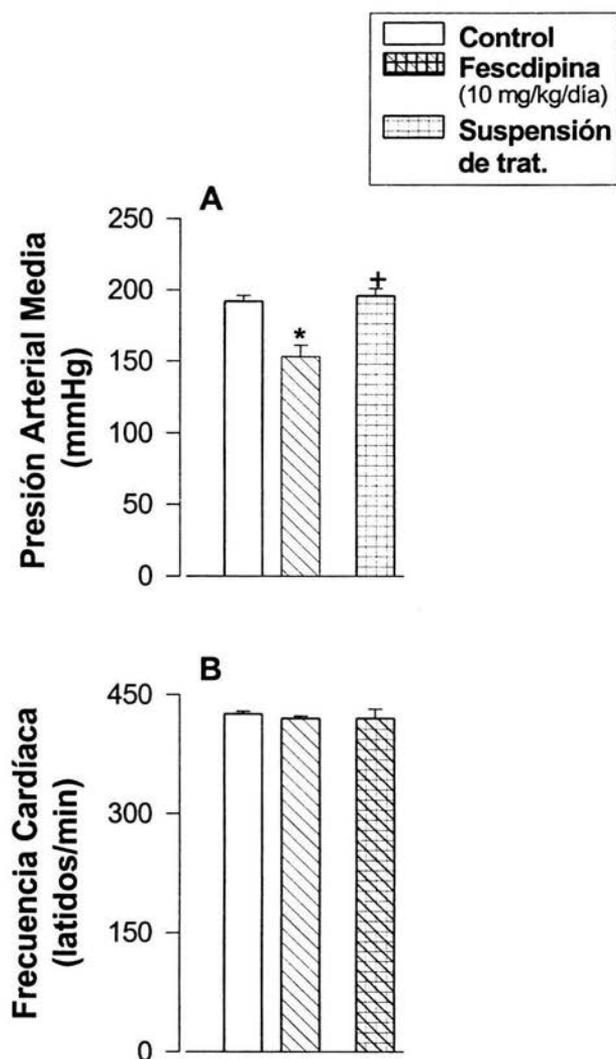


Fig 5.8 Efecto de la suspensión del tratamiento con Fescdipina sobre la PAM (A) y FC (B) en ratas SHR en dosis de 10 mg/kg/día. \*  $p < 0.05$  vs control; †  $p < 0.05$  vs 10 mg/kg/día

## VI. DISCUSION

Uno de los factores que se encuentra claramente alterado en la hipertensión arterial esencial, es el aumento de la resistencia periférica que a su vez se relaciona con un aumento de la reactividad del músculo liso vascular a diversos agentes endógenos que producen vasoconstricción, entre ellos noradrenalina y angiotensina II.(Braunwald,1982) En la vasoconstricción causada por estas sustancias el factor común es el incremento de la concentración intracelular de  $Ca^{2+}$ . La disminución de la concentración intracelular del  $Ca^{2+}$  en las células musculares lisas arteriales condiciona la disminución del tono contráctil, de la resistencia vascular y de las cifras de PAM (Fleckeinstein,1969; Godfrain,1968;. Godfrain,1969).

Los antagonistas de los canales de calcio son fármacos que inicialmente fueron empleados en el tratamiento de la cardiopatía isquémica y posteriormente ampliaron su campo de acción al de la HTA, gracias a su propiedad reductora de la presión arterial.

Existen tres grandes grupos de inhibidores de la entrada de  $Ca^{2+}$  (1,4-dihidropiridinas, fenilalkilaminas y benzotiazepinas) que difieren por su sitio de acción y que a pesar de las variantes en su estructura química los antagonistas de calcio actúan inhibiendo los canales de calcio dependientes de voltaje y consecuente bloqueo de la entrada de calcio al interior de la célula. Recordemos

que el calcio interviene prácticamente en numerosos procesos cardiovasculares (excitación, conducción, vasorrelajación, etc.). (Godfrain,1968;. Godfrain,1969).

Las 1,4-DHP, se han estudiado en el tratamiento de la hipertensión arterial debido a su selectividad para bloquear selectivamente la isoforma de los canales de  $Ca^{2+}$  tipo L dependientes de voltaje presente en el músculo liso vascular y con mínimos efectos sobre los canales de  $Ca^{2+}$  presentes en el corazón. El primer agente de este tipo fue la nifedipina y posteriormente aparecieron en la terapéutica otros análogos (2a. generación). En la búsqueda de mejorar las propiedades farmacológicas, se desarrollaron las 1,4-DHP de segunda generación tales como la amlodipina nicardipina, nimodipina, nitrandipina, etc. Entre las principales ventajas de éstas últimas es su mayor duración de acción y que no son fotosensibles. En base a estas propiedades se sintetizó la Fescdipina en el laboratorio de Química Medicinal de Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán actualmente en estudio.

Para caracterizar el efecto de la Fescdipina como inhibidor de la entrada de calcio se tomó como referencia a la amlodipina, tomando en cuenta que esta 1,4-DHP difiere de su grupo en el hecho que no es sensible a la luz, característica que comparte con la Fescdipina así como el mecanismo para reducir la PAM esta asociado con una reducción de la resistencia vascular periférica sin alterar la frecuencia cardíaca y además sin comprometer el gasto cardíaco.

Este trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto de la Fescdipina sobre la contractilidad en anillos de aorta de rata Wistar (*in vitro*) y los cambios en la PAM de ratas con hipertensión espontánea y sus controles normotensos.

*In vitro*, la Fescdipina produce inhibición de la contracción inducida por la fenilefrina en anillos de aorta de rata dosis dependiente. Los efectos *in vivo* podrían ser comparados a los efectos *in vitro* si se hubieran probado concentraciones por debajo de 10 mg/kg/día así como más elevadas de esta concentración, sin embargo con la única dosis que fue ensayada, se observó una disminución significativa de la PAM diferente a los animales que no recibieron éste *in vivo*, la Fescdipina bloquea la contracción inducida por la fenilefrina y reduce la PAM en los animales con hipertensión espontánea.

Los resultados obtenidos indican que la Fescdipina fué capaz de relajar en forma dosis-dependiente la contracción de anillos de aorta de rata, previamente contraídos con fenilefrina, aunque la inhibición fue significativamente menor a la obtenida con la amlodipina. Por lo anterior se puede deducir que el efecto vasodilatador de la Fescdipina es debido a la inhibición del ingreso del calcio a las células.

Como se esperaba por el efecto vasodilatador dependiendo de la concentración que mostró *in vitro*, la Fescdipina sería capaz de provocar una importante disminución de la PAM bajo administración vía oral en ratas SHR. Los resultados muestran que a una dosis de 10 mg/kg/día la Fescdipina provocó un

descenso significativo en la PAM respecto a la basal lo que sugiere que la disminución de la PAM es debida a la relajación de la musculatura lisa vascular.

Tomando como referencia las dosis usuales de la amlodipina (2.5-10 mg/día), y en base a los resultados obtenidos en los experimentos *in vitro*, se esperaría que a dosis tan elevadas como 10 mg/kg/día la PAM de la ratas administradas con Fescdipina disminuyera bruscamente; sin embargo el porcentaje del descenso de la presión la PAM respecto a la basal fue aun menor que el obtenido por la amlodipina por lo que se aumentó la dosis a 20 mg /kg/día de Fescdipina, no mostrando variación en la presión con respecto a los 10 mg administrados inicialmente (estos resultados no se muestran); por lo que se considera conveniente realizar estudios posteriores en donde puedan determinarse los intervalos de dosis del efecto hipotensor y la duración de acción.

Como consecuencia de la vasodilatación, las 1,4-DHP como la nifedipina producen un aumento del gasto cardíaco mediado por un aumento en la FC (taquicardia). Los resultados indican la ausencia de este efecto en los animales tratados con amlodipina y con Fescdipina lo que la pone en ventaja con las 1,4-DHP de primera generación.

Al suspender el tratamiento de la amlodipina y la Fescdipina después de 72 horas la PAM volvió a las cifras iniciales; se ha reportado que esa acción de la amlodipina a esta dosis es de 24 horas.

Otra de las ventajas de la Fescdipina es su seguridad, y que aun a dosis elevadas (hasta 300 mg/día) tiene un amplio margen de seguridad. Son necesarios

estudios en humanos para determinar la biodisponibilidad y parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos para hacer una comparación con otras 1,4-DHP en uso clínico.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

## VII. CONCLUSION

En este trabajo hemos demostrado que la *Fescdipina* sintetizada el Laboratorio de Química Medicinal de nuestra Institución, con una estructura semejante a las 1,4-DHP:

- Inhibe la contracción del músculo liso vascular *in vitro*, contraídos con fenilefrina.
- Disminuye la PAM en ratas SHR.
- No modifica la FC en ratas SHR
- La *Fescdipina* presenta las mismas características de un antagonista de calcio del tipo de las 1,4-DHP, utilizados como fármacos antihipertensivos.

Por lo anterior, a la *Fescdipina* puede atribuírsele propiedades de un bloqueador de canales de calcio del tipo de las 1,4-DHP aun cuando su potencia sea menor que el de la amlodipina.

## BIBLIOGRAFIA

Almanza-Fuentes I. : Estudio de la Toxicidad de Fescdipina. Tesis para obtener el título de Q.F.B. Cuautitlán Izcalli, México 1996

Blaustein, M.P. : Sodium transport inhibition, cell calcium, and hypertension. *Am. J. of Med.* October, 1984

Braunwald, E. : Mechanism of action of calcium-channel blocking agents. *New. Engl. J. Med.* 307: 1618-27, 1982

Brenner, B. : Mechanical and structural approaches to correlation of cross. Bridge action in muscle with actomyosin ATPase in solution. *Ann. Rev. Physiol.* 49: 655-672, 1987

Burges, R. A., Dodd, M. G. and Gardiner, D. G.: Pharmacologic profile of amlodipine. *Am. J. Cardiol.* 64: 101-201, 1989

Darnell, J. : *Biología Celular y Molecular.* 9a ed., Ed. Mac Graw-Hill., U.S.A ., 1996

Dollery, C. and Brennan, P. J. : *The Medical Research. Hypertension: The smoking patient.* *Am. Heart J.* 115: 276-28, 1988

Faulkner, J. K.: The pharmacokinetics of amlodipine in healthy volunteers after single intravenous and oral doses and after 14 repeated oral doses given once daily. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 22: 21-25, 1986

Fleckenstein, A., Tritthart, H., Fleckenstein, B., Herbst, A. and Grun, G. : A new group of competitive Ca-antagonists lproveratril, D 600, Prenylamine with highly potent inhibitory effects on excitation-contraction coupling in mammalian myocardium. *Pflügers Arch.* 307: R25, 1969

Folkow, B. : Structural factor in primary and secondary hypertension. *Hypertension* 16: 89-101, 1990

Gaves, J.S. : Regulation and development of membrane transport processes. *Society of Physiology*, 1985

Godfraind, T. and Kaba, A. : Blockade or reversal of contraction induced by calcium and adrenaline in depolarized arterial smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 36: 549-560, 1969

Godfraind, T. and Polster, P. : Etude comparative de médicaments inhibant la réponse contractile de vaisseaux isolés d'origine humaine ou animale. *Thérapie* 23: 1209-1220, 1968

Godfraind, T., Kaba, A. and Polster, P. : Differences in sensitivity of arterial smooth muscles to inhibition of their contractile response to depolarization by potassium. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 172: 235-239, 1968

Goodman and Gilman : *The pharmacological basis of therapeutics*, 9a ed., Ed. Mac Graw-Hill., U.S.A ., 1996

Guyton, A.C., Coman, T.G., and Cowley, A. W. : Arterial Pressure regulation: Over-riding dominance of the kidney in long term regulation and hypertension. *Am J. Med.*, 52: 584, 1980

Guyton, H. : *Tratado de Fisiología Médica*, 9a ed., Ed. Mac Graw-Hill., U.S.A ., 1997

Huxley, A. F. : Muscular contraction. *Annu. Rev. Physiol.*, 50: 1, 1988

Kaplan, N. M. : Guidelines for the treatment of hypertension: an american view. *J Hyperten.* 13 (suppl. 2): S113-7, 1995

Lori, I., Karen, S., De Jongh and William, A. : Auxiliary Subunits of Voltage-Gated Ion Channels *Neuron.* 12: 1183-1194, June 1994.

Maxwell, M. H. : Changes in obese. Hypertensive subjects during rapid weight loss. *Arch. Intern. Med.*, 144: 1581- 1584, 1984

Medical research. Council working party: MRC trial of treatment of hypertension: principal results. *B. Med. J.* 291: 97-104, 1985

Naylor, W. : *Amlodipine*. Berlin, Springer-Verlag, 1993

Opie, L. H. : *Clinical use of calcium channel antagonist drugs*. 2nd Ed. Boston, 1990

Orozco, R. : *Nefrología e Hipertensión.*, Ed. Universitaria Santiago Chile. 1988

Rebollo-Díaz, F., Rivera, D. S. : Efecto de la Fescdipina y derivados 1,4 dihidropiridínicos en el modelo de isquemia y perfusión miocárdica en rata. Tesis para obtener el título de Q.F.B. Cuautitlán Izcalli, México, 1996

Rodicio, J. I.: Tratado de Hipertensión Arterial, Ed. Salvat, Barcelona, España, 1996

Sanguinetti, M. C. and Kass, R.S. : Voltage-dependent block of calcium channel current in the calf cardiac Purkinje fiber by dihydropyridine calcium channel antagonists. *Circ. Res.* 55: 336-348, 1984

Shellong G. and Wende U. : *Arch. K Kinderheilk.* 162:126, 1960

Stopher, D. A., Beresford, A. P., Macrae, P.V. and Humphrey, M.J. : The metabolism and pharmacokinetics of amlodipine in humans and animals. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 12 (suppl.7): S55-S59, 1988.

Stamler, J. and Redlinger, W. F. : Family history and prevalence of hypertension. *JAMA*, 241: 431, 1979

Triggle, D. J. and Swamy, V.C. : Pharmacology of agents that effect, calcium: agonist and antagonist. *Chest.* 78 (suppl.): 174-179, 1980.

Valdez G. : Tratado de Hipertensión Arterial, Ed. El Manual Moderno, México 1988.

Van Zwienten, P. A., van Meel, J. C. A. and Timmermans, P. B. M. W. M. : Pharmacology of Calcium entry Blockers: Interaction with Vascular  $\alpha$ -Adrenoceptors. *Hypertension* 5(suppl. II): II-8-II-17, 1983.