



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**EFFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE ANÁLOGOS DEL  
METOPROLOL EN RATAS MACHO  
ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A**

**OYUKI SEKISAKA PÉREZ**

**Dr. Enrique Hong Chong  
Director de Tesis**

**Dr. José Ignacio Regla Contreras  
Asesor de Tesis**



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.



**ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO 1 DEL DEPARTAMENTO  
DE FARMACOBIOLOGÍA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL IPN. (CINVESTAV) SEDE SUR BAJO LA DIRECCIÓN DEL  
DR. ENRIQUE HONG Y LA ASESORÍA DEL DR. JOSÉ IGNACIO REGLA  
CONTRERAS**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Agradezco al Dr. Enrique Hong por darme la oportunidad de estar en su laboratorio y que con su disposición para compartir sus conocimientos contribuyó con mi formación académica además me ha motivado a seguir en el campo de la investigación. Con admiración y respeto gracias**

**Al Dr. José Ignacio Regla por su paciencia, amistad, disponibilidad y por haber incrementado mi conocimiento**

**Al M en C. Miguel Ángel Rosas y al Sr. Gerardo Rivera por su apoyo técnico incondicional en el laboratorio**

**A mis sinodales QFI. Estelita Valencia, M en C. Teresa Griselda Fuentes y Dra. Leticia Cruz con cariño y respeto ya que gracias a sus comentarios precisos han contribuido con esta tesis**

**A mis padres Irma Pérez y Arturo Sekisaka que me han enseñado a luchar siempre por lo que quiero y que son un pilar fundamental a quienes les dedico todo mi esfuerzo. En especial a mi madre que siempre ha estado ahí por mí y me da valor para seguir adelante**

**A mis hermanos Hiroshi y Kiyoe, a mi abuelita Fausta, a mis tíos Carlos y Jorge por impulsarme y nunca dejarme caer.**

**Con gran cariño a mi amigo Eduardo Cantoral**

**Gracias a tu apoyo, paciencia, cariño y todos los momentos felices que hemos vivido juntos han hecho el camino más fácil gracias José Luis te amo.**

**Gracias al CINVESTAV sede sur, departamento de farmacobiología por haberme proporcionado las herramientas para la realización de esta tesis.**

**Agradezco a CONACYT la beca otorgada por para la realización de mi tesis.**

# CONTENIDO

---

---

## CONTENIDO

1. Introducción	1
2. Resumen	2
3. Marco Teórico	3
3.1 Presión Arterial	3
3.2 Regulación de la Presión Arterial	4
3.2.1 Sistema Nervioso	4
3.2.2 Sistema Renina	5
3.2.3 Factores Vasculares	7
3.3 Hipertensión Arterial	12
3.3.1 Epidemiología	12
3.3.2 Clasificación	13
3.3.2.1. Valores de presión arterial	13
3.3.2.2. Etiología	14
3.4 Tratamiento Farmacológico Antihipertensivo	17
3.5 Bloqueadores de Canales de Calcio	17
3.6 Antagonistas de los receptores $\beta$ adrenérgicos	18
3.6.1 Metoprolol	19
3.6.2 Mecanismo de Acción de Metoprolol	20
3.7 Estructura de los análogos del Metoprolol	21
3.7.1 Posible Mecanismo de Acción	23
4. Planteamiento de Problema	25

## CONTENIDO

---

---

5. Objetivos	26
6. Hipótesis	27
7. Material, Reactivos y Equipo	28
8. Metodología Experimental	29
8.1. Registro de Presión Arterial en ratas despiertas	30
8.2. Registro de Presión Arterial en ratas anestesiadas	31
9. Análisis Estadístico	32
10. Resultados	33
11. Discusión de Resultados	49
12. Conclusión	53
13. Referencias	55

## 1. INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de fármacos con mejores efectos terapéuticos y tratando de evitar los efectos colaterales, se sintetizaron, en FES Zaragoza cuatro compuestos análogos a la molécula de Metoprolol (MET), un fármaco antagonista de los receptores  $\beta_1$  empleado en el tratamiento de la hipertensión arterial, que actualmente se administra como un racemato. Estos nuevos análogos del MET son 7D1, 7D2, 8D1 y 8D2, A los cuales se les incorporo un nuevo centro estereogénico, un grupo metilo y un grupo hidroxilo sobre la cadena nitrogenada de la estructura del MET. En experimentos *in vivo* en rata Wistar anestesiada se observó un efecto hipotensor y un efecto bradicárdico a dosis altas, sin embargo ninguno de los análogos presentó alta afinidad por los receptores  $\beta$ .<sup>1</sup>

La falta de efecto sobre los receptores  $\beta$ -adrenérgicos llamó la atención y al buscar su probable mecanismo de acción, utilizando anillos de aorta de rata Wistar, se demostró que bloqueaban los canales de calcio y liberaban óxido nítrico.<sup>2</sup>

Estos resultados dan la pauta para investigar el probable efecto antihipertensivo. En este proyecto se utilizaron ratas espontáneamente hipertensas (SHR) puesto que esta cepa desarrolla una hipertensión genética que es la más semejante a la hipertensión esencial, así como la repuesta al tratamiento farmacológico de una manera muy similar a la del humano. Se les administró por vía oral los compuestos 7D1, 7D2, 8D1 y 8D2 en forma aguda y se les registró la presión arterial sistólica (PAS) y la frecuencia cardiaca (FC) por el método pletismográfico en la arteria caudal, obteniéndose un buen efecto antihipertensivo a dosis bajas.

### 2. RESUMEN

En este proyecto se experimentó con ratas macho espontáneamente hipertensas a las cuales se les administró, en forma aguda por vía oral, los análogos a la molécula del Metoprolol 7D1, 7D2, 8D1 y 8D2 en dosis logarítmicas (1mg, 3.1 mg, 10 mg y 31 mg) disueltos en CMC 0.5%. Antes y después de la administración de los análogos se registró la presión arterial sistólica y la frecuencia cardiaca por medio de la dilatación de la arteria caudal de la cola utilizando el método pletismográfico tomando registros a las 0, 1, 2, 4, 6, 8, 24 y 48 hrs. dependiendo de la dosis administrada. Debido a que el análogo más activo fue el 8D2 y con la fin de observar la posible participación o formación de un metabolito, fue administrado por vía intravenosa utilizando un método invasivo en el cual se canuló la arteria carótida para el monitoreo de la presión arterial media y la frecuencia cardiaca.

Los resultados obtenidos en estos experimentos señalan que hay un buen efecto terapéutico a bajas dosis siendo los análogos más activos el 7D1y 8D2 por vía oral. El 8D2 por vía intravenosa tiene un efecto de corta duración.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. PRESIÓN ARTERIAL

La presión arterial o tensión arterial es la presión que ejerce la sangre contra la pared de las arterias. Esta presión es imprescindible para que circule la sangre por los vasos sanguíneos y aporte el oxígeno y los nutrientes a todos los órganos del cuerpo para que puedan funcionar. En adultos jóvenes y sanos es de aproximadamente de 120 mmHg durante la sístole (contracción del corazón) mientras que desciende aproximadamente a 80 mmHg con la diástole (relajación del corazón). La presión arterial media se calcula como sigue:

$$\text{PAM} = [\text{Presión diastólica} + \frac{1}{3} (\text{Presión sistólica} - \text{presión diastólica})]$$

La Presión arterial depende de los siguientes factores: el gasto cardiaco, el volumen sanguíneo, la resistencia periférica total

$$\text{PA} = \text{Gasto Cardíaco} \times \text{resistencia periférica}$$

La presión arterial se mide normalmente en milímetros de mercurio sobre la presión atmosférica.<sup>3</sup>

## **3.2. REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL**

### **3.2.1. SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO (SNA)**

El centro vasomotor se encuentra regulado por el bulbo raquídeo, donde hay un grupo de neuronas quienes regulan el diámetro de los vasos sanguíneos, en especial las arteriolas. Envía continuamente impulsos al músculo liso provocando una vasoconstricción moderada llamada tono vasomotor el cual desempeña funciones en el mantenimiento de la resistencia periférica y la presión sanguínea.

El sistema nervioso autónomo se encuentra a su vez dividido en sistema nervioso simpático y parasimpático ambos controlan la circulación por mecanismos reflejos o actuando sobre el tono muscular. Como reflejo es un mecanismo rápido de regulación de la Presión Arterial, inicia su acción en el rango de los segundos y se prolonga hasta por 24 ó 48 horas. Se encuentra integrado por los baroreceptores o presoreceptores estos perciben los cambios de distensión vascular y responden a receptores localizados en el seno carotídeo y el callado de la aorta.

En el caso de que disminuya la presión arterial, los baroreceptores envían impulsos por medio de neuronas aferentes hacia el centro vasomotor el cual transmite la señal de disminuir las estimulaciones simpáticas de las arteriolas lo que provoca vasodilatación y disminución de la presión arterial. Cuando esta última es menor de lo normal los receptores en cuestión inhiben al sistema parasimpático y activan al simpático (liberación de noradrenalina (NA) en las terminales nerviosas), con lo que aumenta el gasto cardiaco, vasoconstricción e incremento de la presión arterial.<sup>3,4</sup>

### 3.2.2. SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA (SRA)

El sistema Renina Angiotensina es uno de los principales mecanismos de regulación fisiológica de sodio y balance de los fluidos. El SRA regula la homeostasis de los fluidos corporales por varios mecanismos incluyendo efectos de hemodinámica, tono vascular, reabsorción de sodio por el riñón y estimulación de la producción de Aldosterona por las glándulas adrenales. Este sistema se encuentra fuertemente relacionado con la patogénesis de la hipertensión esencial.<sup>5</sup>

El sistema renina – Angiotensina consiste en una cascada donde interaccionan enzimas y sustratos. La renina es importante en este proceso por que inicia la cascada, se sintetiza como pro enzima en las células granulares del aparato yuxtaglomerular del riñón, interacciona en la circulación periférica con el angiotensinógeno producido en el hígado para formar la Angiotensina I (Ang I). La Ang I es transformada en Angiotensina II (Ang II) por la acción de la enzima convertidora de Angiotensina (ECA) producida por el endotelio de los vasos pulmonares.<sup>6,3,</sup>

La Ang II produce efectos opuestos al combinarse con los receptores AT<sub>1</sub> o AT<sub>2</sub>. La unión al receptor AT<sub>1</sub> ejerce vasoconstricción extremadamente potente en las arteriolas lo cual aumenta la resistencia periférica elevando así la presión arterial, retención de sodio, liberación de Aldosterona. En el receptor AT<sub>2</sub> se activa la cascada vasodilatadora bradicinina - óxido nítrico - GMP<sub>C</sub>, diuresis, antiproliferación de células, etc.<sup>7,8,9</sup> (Fig. 1)

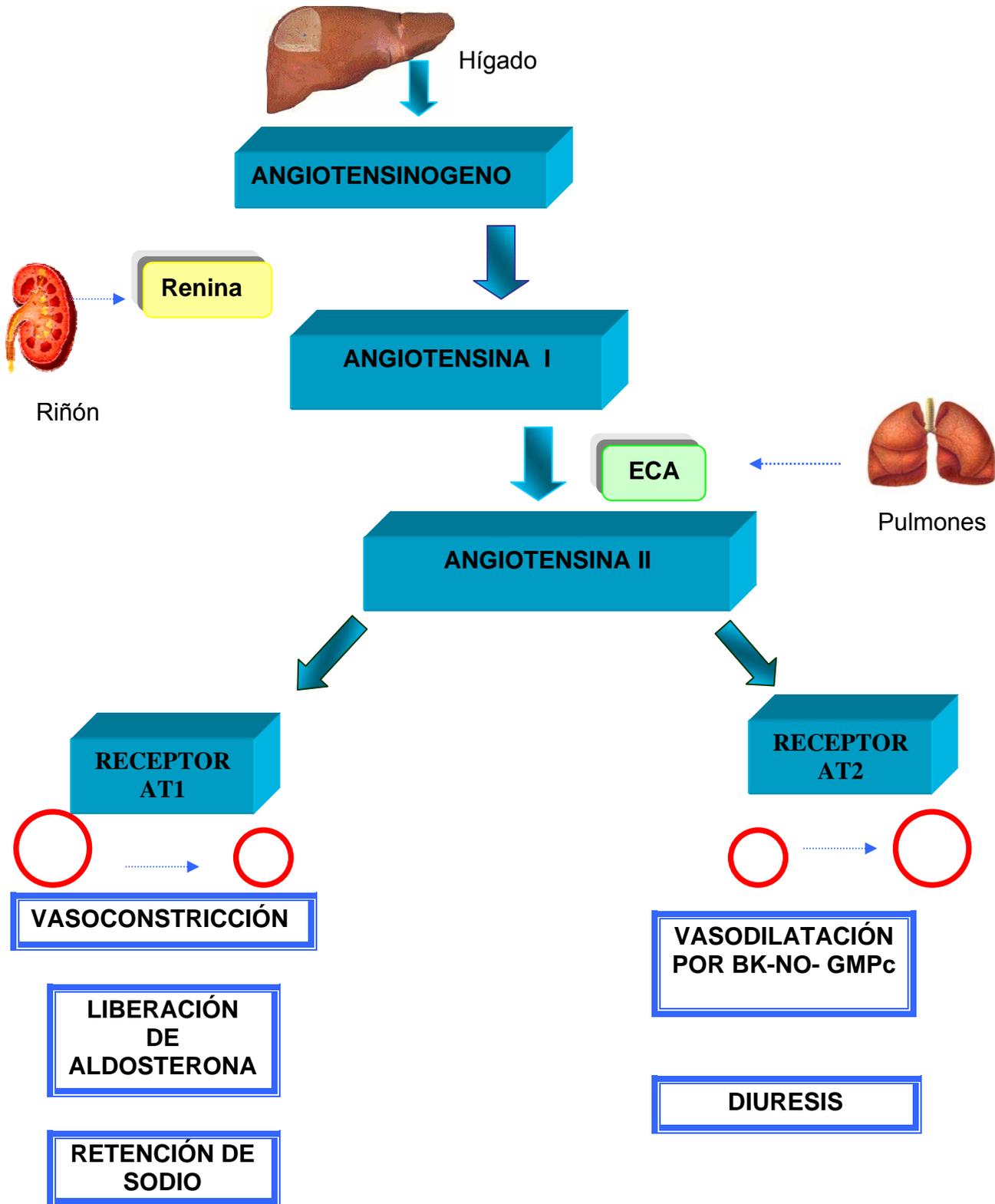


Fig. 1 Sistema Renina – Angiotensina  
BK: Bradicinina, NO: óxido nítrico, GMPc: guanosina 3' 5'  
monofosfato cíclico

### 3.2.3. Factores vasodilatadores que regulan el tono vascular

#### ÓXIDO NÍTRICO

El óxido nítrico (ON) es una sustancia relajante derivada del endotelio actúa localmente debido a que tiene una vida media muy corta (5 – 10 segundos), debido a que es lo suficiente pequeño difunde con facilidad por la membrana celular. Los efectos fisiológicos del ON comprenden: vasodilatación, inhibición de adherencia y agregación plaquetaria e inhibición de la proliferación del músculo liso.<sup>10</sup>

Un primer mensajero como la acetilcolina, bradisinina o el rozamiento de la sangre actúan indirectamente sobre la célula endotelial de los vasos sanguíneos induciéndola a liberar al óxido nítrico que tiene la función de un segundo mensajero.<sup>11</sup>

El ON es formado en la célula endotelial a partir de la desaminación del aminoácido L- Arginina por acción de óxido nítrico sintasa (SON), la activación de esta isoenzima esta controlada por el complejo calcio - calmodulina intracelular.<sup>12</sup>(Fig. 2)

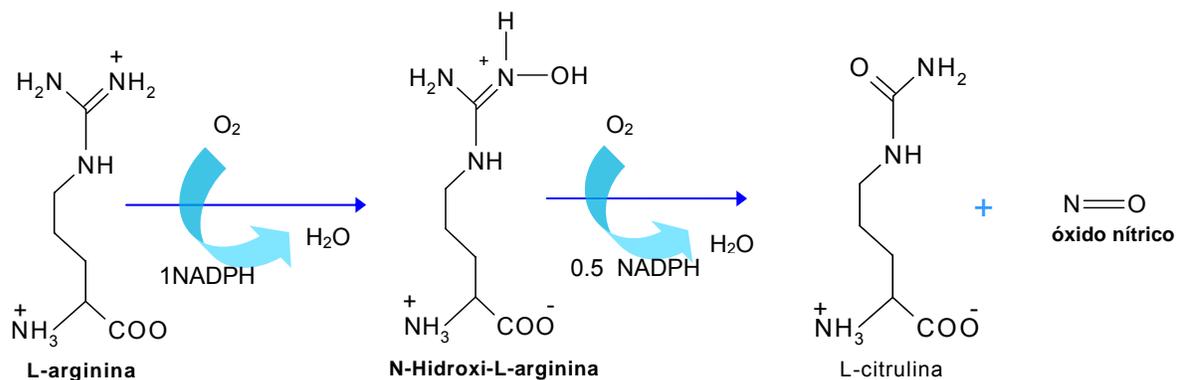


Fig. 2. Formación de Oxido Nítrico por L- Arginina y óxido nítrico sintasa

La SON se inhibe competitivamente por análogos de la L-Arginina como ester metílico de la N- nitro- L- Arginina (L-NAME).

El ON se difunde a través de la célula del músculo liso vascular donde al combinarse con el grupo hemo estimula enzimas citosólicas como guanilato ciclasa soluble (GMP) la cual cataliza la producción 3'5' – guanosina monofosfato ciclico (CMP<sub>c</sub>) y disminuye la concentración de calcio intracelular produciendo la relajación del músculo liso vascular. (Fig. 3)<sup>12-13</sup>

### PROSTACICLINAS

En 1976 Moncada reportó un metabolito inestable del ácido araquidónico producido a través de la ciclooxigenasa a nivel vascular denominado PGX después llamado prostaciclina.

Moncada y Vane mostraron en 1979 que el prostanoides derivado del ácido araquidónico inhibía la agregación plaquetaria e interaccionaban con las paredes de los vasos sanguíneos.

Trabajos posteriores demostraron que la prostaciclina PGI<sub>2</sub> relaja las células musculares lisas incrementando su concentración de AMPc.

La síntesis de prostaciclina es estimulada por agonistas tales como la bradicinina que es quizás el activador más potente, la sustancia P, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), estos agonistas activan a la enzima fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) que en las células endoteliales provoca la lisis de ácidos grasos esenciales los cuales generalmente se encuentran esterificados en la posición 2 de los fosfolípidos de membrana y liberan al ácido araquidónico (AA). Una vez liberado el AA es el sustrato de la ciclooxigenasa (COX) y junto con la PGI<sub>2</sub>-sintetasa, sintetizan en la célula endotelial, a la prostaciclina PGI<sub>2</sub>, la cual migra a la célula del músculo liso y se une a su receptor donde provoca la activación de la adenilato-ciclase que conlleva la acumulación intracelular de adenosín-monofosfato cíclico (AMPc), ejerciendo por este mecanismo una función vasodilatadora. (Fig. 3)<sup>12,14-15</sup>

### **FACTOR HIPERPOLARIZANTE DERIVADO DEL ENDOTELIO**

En 1988, Feletou y Vanhoutte, encontraron que la acetilcolina y otros dilatadores endotelio-dependientes, causan hiperpolarización y relajación debido al Factor Hiperpolarizante Derivado del Endotelial (FHDE). Esta molécula, no identificada con exactitud era diferente al ON y a la prostaciclina.<sup>16,17</sup>

El factor hiperpolarizante derivado del endotelio es una sustancia que produce la hiperpolarización de la membrana muscular lisa posiblemente a través de abrir canales de potasio activados por calcio. Esta sustancia parece ser un epóxido producido a partir de ácido araquidónico (AA) por la acción de la oxidasa del citocromo P450 después de la estimulación con bradicinina o acetilcolina. (Fig. 3)

La participación del FHDE en la relajación vascular parece ser relativamente más importante en las arterias de pequeño tamaño y en arteriolas, mientras que en arterias mayores es más importante el NO para producir vasodilatación.<sup>18</sup>

Puede ser inhibido por bloqueadores de los canales de calcio inducidos por calcio como el Cloruro de Tetraetilamonio o la caribdotoxina.

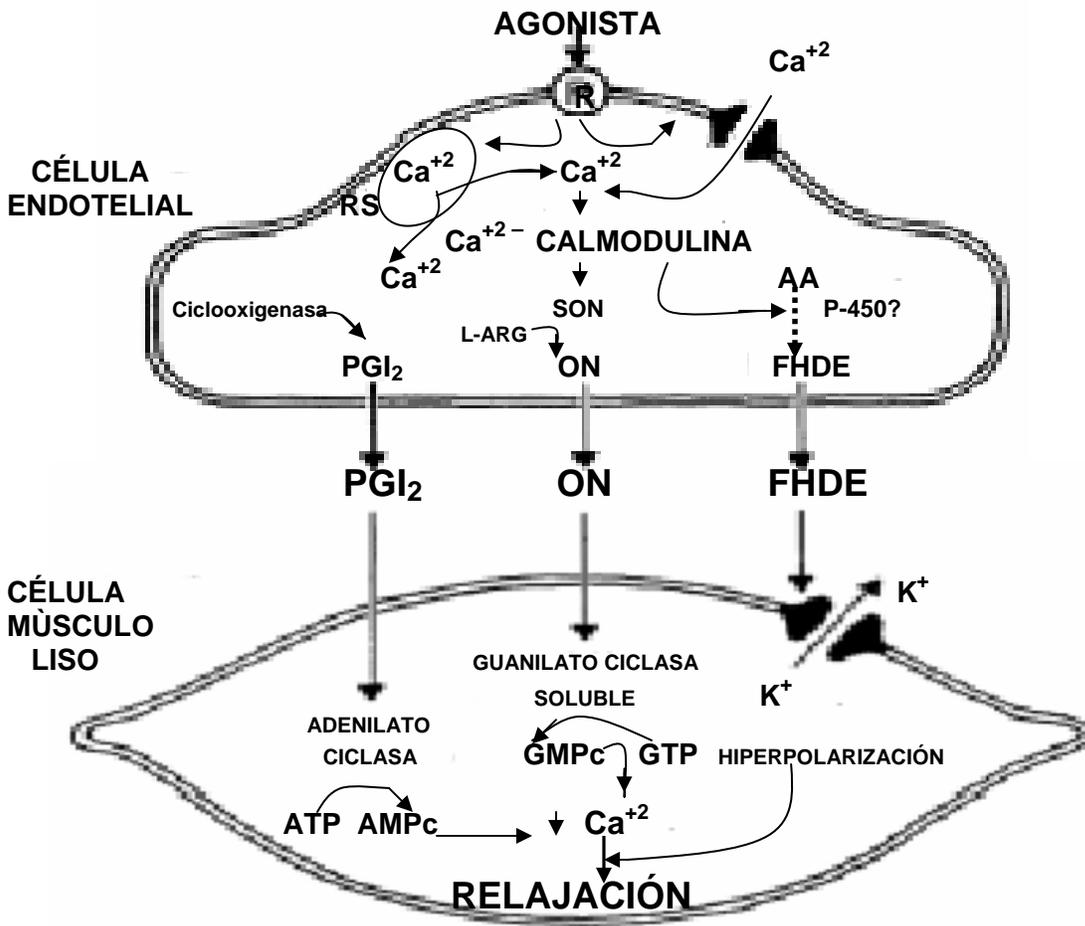


Fig. 3. Factores vasculares que regulan la relajación del músculo liso vascular Receptor (R), Retículo sarcoplásmico (RS), Prostaciclina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>), adenosín-monofosfato cíclico (AMPc), óxido nítrico sintasa (SON), óxido nítrico (ON) 3'5' – guanosina monofosfato cíclico (CMP<sub>c</sub>), ácido araquidónico (AA), Factor Hiperpolarizante Derivado del Endotelio (FHDE).

### **3.3. HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

La hipertensión es una alteración que ocurre cuando los vasos sanguíneos pequeños (arteriolas) se estrechan, lo que hace que la sangre ejerza una presión excesiva sobre las paredes de los vasos.<sup>3</sup>

#### **3.3.1 EPIDEMIOLOGÍA**

La hipertensión afecta aproximadamente 50 millones de individuos en los Estados Unidos y aproximadamente mil millones de personas en todo el mundo.

En la actualidad la hipertensión arterial es una de las principales causas de mortalidad en nuestro país, la prevalencia de hipertensión va en aumento (27% en la población de 20 a 60 años de edad), siendo un factor de riesgo para enfermedad arterial coronaria, accidentes vasculares cerebrales e insuficiencia cardíaca. Así las enfermedades cardiovasculares ocupan el primer lugar en morbilidad del paciente adulto, constituyendo un grave problema de salud pública.<sup>19</sup>

### 3.3.2. CLASIFICACIÓN DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La hipertensión arterial se clasifica de acuerdo a los valores de PA y a su etiología.

#### 3.3.2.1 Valores de presión arterial

**Tabla 1.** Presión arterial para adultos de 18 años en adelante<sup>20</sup>.

Clasificación PA	PA. Sistólica (mmHg)	PA Diastólica (mmHg)
Normal	< 120	<80
Prehipertensión	120-139	80-89
Hipertensión Fase 1	140-159	90-99
Hipertensión Fase 2	≥160	≥100

La presión sanguínea óptima con respecto al riesgo cardiovascular es menor de 120 mmHg la sistólica y menor de 80mmhg la diastólica

### 3.3.2.2. Por su etiología la hipertensión arterial se clasifica:

#### Hipertensión primaria o esencial:

Es un aumento sostenido de la presión sanguínea que no tiene ninguna causa aparente es responsable del 90 – 95% de todos los casos y suele presentarse en la edad adulta típicamente en edades superiores a 40 años. Hay varios factores de riesgo asociados como son: predisposición genética, obesidad, alta ingesta de sal (NaCl), gran consumo de alcohol e inactividad física<sup>21</sup>.

La observación de que la hipertensión tiende a ocurrir en familias y que existen grupos étnicos con mayor incidencia de hipertensión, hace que el estudio de la hipertensión de un giro de los estudios fisiológicos clásicos hacia la genética molecular donde, en los últimos años, se han podido identificar variantes alélicas en los genes de angiotensinógeno (AGT), enzima convertidora de angiotensina (ECA), aducina-  $\alpha$ , receptor adrenérgico  $\beta_2$ , subunidad  $\beta_3$  de la proteína G y la subunidad  $\beta$  del canal epitelial de sodio en sujetos con hipertensión esencial.

#### Identificación de genes asociados con la hipertensión arterial

**Enzima convertidora de angiotensina (ECA).** se ha identificado un polimorfismo denominado I/D (por inserción / deleción) en el intrón 16 del gen relacionado con niveles circulantes de ECA: el alelo D se asocia a niveles aumentados de esta enzima y también a enfermedades coronarias e hipertrofia ventricular izquierda. Tiene más probabilidad de presentar hipertensión los sujetos que poseen el genotipo D/D o I/D que los que presentan el genotipo I/I.

**Angiotensinógeno (AGT).** La variante M235T se correlaciona con niveles aumentados de AGT siendo más frecuente en hipertensos que en controles. El

AGT se asocia comúnmente a otro polimorfismo conocido como G-6A localizado en región promotora del gen. Este gen es el más estudiado en hipertensión esencial y el más prometedor aunque solo explica una pequeña parte de las variaciones de la presión arterial.

**Receptor adrenergico  $\beta_2$ .** Se ha descrito un cambio de arginina a glicina en el codón del gen del receptor adrenérgico  $\beta_2$  que se ha asociado a sensibilidad de sal y variación de la presión sistólica.

**Subunidad  $\beta_3$  de la proteína G.** La variante C825T del gen de la subunidad del gen  $\beta_3$  de la proteína G se asocia a hipertensión esencial por su actividad aumentada en estudios *in vitro*. En sujetos hipertensos este polimorfismo también se asocia a obesidad, niveles plasmáticos bajos de renina y sensibilidad al sodio.

**Subunidad  $\beta$  del canal epitelial de sodio.** Se describió en 1996 el polimorfismo denominado T594M. Esta variante presenta actividad aumentada en linfocitos de sujetos afroamericanos, encontrándose que el 8% de pacientes de raza negra hipertensos tiene esta mutación la cual ocasiona menor actividad de renina plasmática lo que se traduce a una reabsorción aumentada de sodio.<sup>22</sup>

### **Algunas de las características de la hipertensión esencial son las siguientes:**

1. La presión arterial media esta aumentada en un 40 a 60%
2. El gasto cardiaco es aproximadamente normal
3. La resistencia periférica total esta aumentada en un 40 a 60%
4. Los riñones no excretan cantidades adecuadas de sal y agua a menos que la presión arterial esta elevada.<sup>21</sup>

## Hipertensión secundaria

La hipertensión secundaria, en la cual existe una alteración orgánica o fisiológica específica y potencialmente susceptible de ser corregida representa el 5% de todos los casos <sup>21</sup>

**Tabla 2.** Posibles causas de hipertensión secundaria

<b>Sistemas implicados</b>	<b>Ejemplos</b>	<b>Mecanismos</b>
<b>Riñón</b>	Enfermedad renal  Arteriopatía renal	Disminución de la formación de orina  Secreción de sustancias químicas vasoactivas
<b>Endócrino</b>	Exceso de catecolaminas  Exceso de aldosterona	Aumento del gasto cardíaco y de la resistencia periférica total  Retención excesiva de sal y agua por parte de los riñones
<b>Nervioso</b>	Aumento de la presión intracraneal Lesión del centro vasomotor	Activación del sistema simpático – suprarrenal
<b>Cardiovascular</b>	Bloqueo cardíaco completo, Arteriosclerosis de la aorta.	Aumento del volumen sistólico  Disminución de la distensibilidad de la aorta

### 3.4. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

- ◆ Diuréticos
- ◆ Simpáticos vasodilatadores de acción directa
- ◆ Antagonistas de calcio
- ◆ Inhibidores de la cascada renina - angiotensina
- ◆ Betabloqueadores<sup>21</sup>

### 3.5. FÁRMACOS ANTAGONISTAS DE LA ENTRADA DE CALCIO

Los antagonistas del calcio son un grupo muy heterogéneo de fármacos que inhiben selectivamente el flujo de la entrada de  $Ca^{2+}$  a través de los canales dependientes de voltaje tipo L en las membranas de las células excitables.

Los canales L son proteínas heterooligoméricas constituido por cinco subunidades denominadas  $\alpha_1$   $\alpha_2$   $\beta$   $\delta$  y  $\gamma$ . La subunidad  $\alpha_1$  es la mas importante desde el punto de vista funcional, ya que contiene el poro y el sensor del voltaje del canal.

Existen tres grupos principales de calcioantagonistas: las dihidropiridinas (nifedipino, nitrendipino, nicardipino, amlodipino, felodipino, lacidipino, lercanidipino y barnidipino), las benzodiazepinas (diltiazem) y fenilalquilaminas (verapamilo). Mientras que la primera tiene un efecto predominantemente vascular, las dos últimas familias poseen acciones cardíacas, electrofisiológicas y vasculares.

El mecanismo de acción de estos fármacos consiste en la inhibición de los canales de calcio dependientes del potencial de membrana y en el consecuente bloqueo de la entrada de calcio al interior celular. El descenso de la concentración de calcio libre citosólico en las células musculares lisas arteriales

condiciona la disminución del tono contráctil, de la resistencia vascular y de las cifras de presión arterial.<sup>23-25</sup>

### 3.6. ANTAGONISTAS DE ADRENORECEPTOR $\beta$

Los bloqueadores de los receptores  $\beta$  adrenérgicos son fármacos con gran especificidad y afinidad por ellos. Estos receptores se agrupan en tres categorías ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$ ) y el tipo de bloqueo que presentan es competitivo debido a que se revierte al aumentar la concentración del agonista. Son fármacos de origen sintético cuya estructura química recuerda al Isoproterenol sobre todo en su cadena lateral donde la posición del grupo hidroxilo del átomo de carbono asimétrico tiene influencia sobre la afinidad de los receptores  $\beta$ .<sup>26</sup>

La actividad antihipertensiva de los antagonistas del receptor adrenérgico  $\beta$ ; es proporcional a la dosis administrada, y no guarda relación con otras propiedades del fármaco, como actividad simpática intrínseca o actividad depresora de tipo quinidina: esto se extiende a propranolol, oxoprenolol, alprenolol, practolol, metoprolol, timolol y atenolol.<sup>27</sup>

**3.6.1. (±) METOPROLOL**

El Metoprolol es un compuesto lipofílico, antagonista selectivo de los receptores  $\beta_1$  adrenérgicos utilizado en el tratamiento de la hipertensión arterial y para la angina de pecho.

El Metoprolol tiene una buena absorción cuando se administra por vía oral, es absorbido por el tracto gastrointestinal por difusión pasiva. Se une ligeramente a proteínas plasmáticas (12%). Se elimina por metabolismo hepático incluyendo reacciones de  $\alpha$ -hidroxilación y de O-dealquilación con una subsecuente oxidación. Aproximadamente el 85% de la dosis administrada de Metoprolol y sus metabolitos son excretados por la orina. (Fig. 4)<sup>28-29</sup>

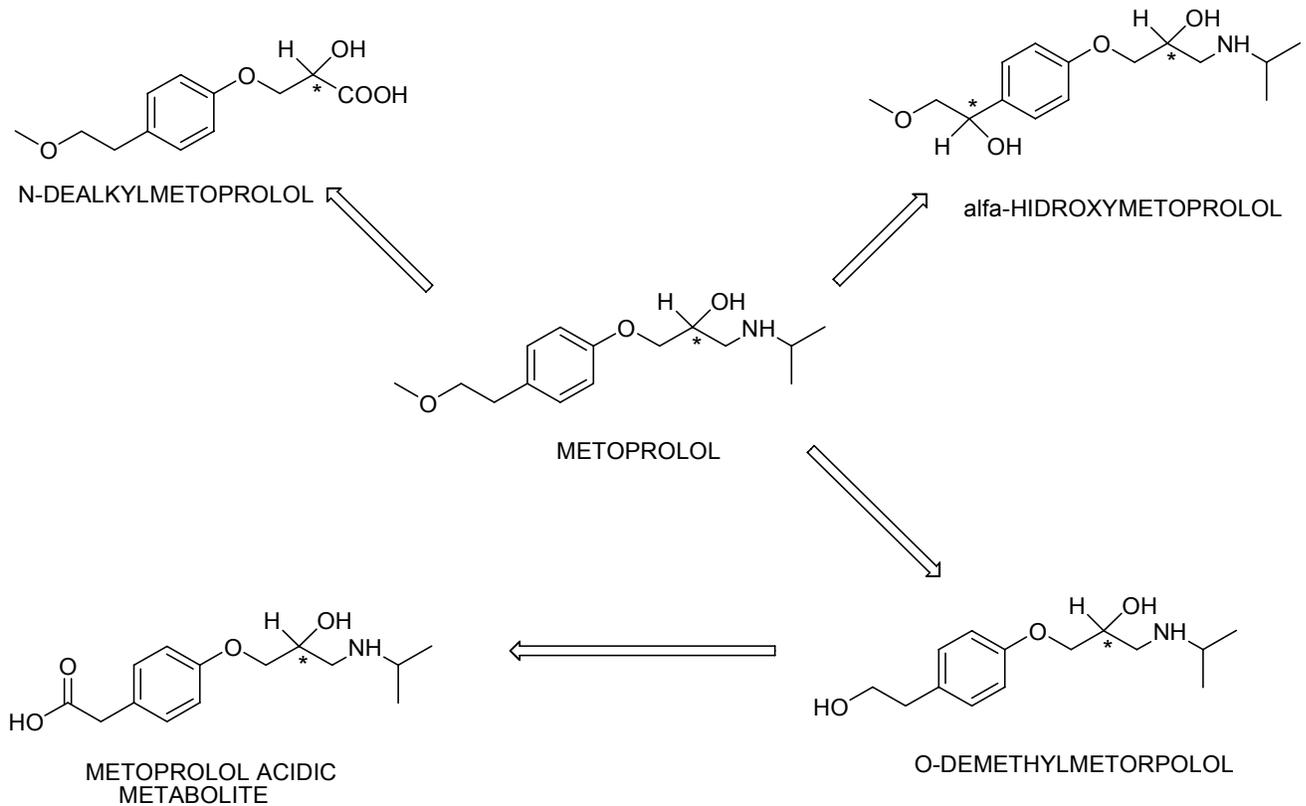


Fig. 4. Metabolitos del Metoprolol

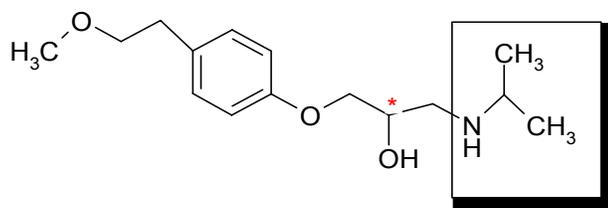
### 3.6.2. MECANISMO DE ACCIÓN DEL METOPROLOL

- Disminuyendo el gasto cardiaco por medio de la reducción de la contractilidad del miocardio, sin tener efecto sobre la presión arterial hasta varios días después del tratamiento
- Inhibiendo la liberación de renina plasmática por medio del bloqueo de los receptores  $\beta_1$  ubicados en las células yuxtaglomerulares renales
- Disminuyendo la actividad vasomotora central<sup>28</sup>

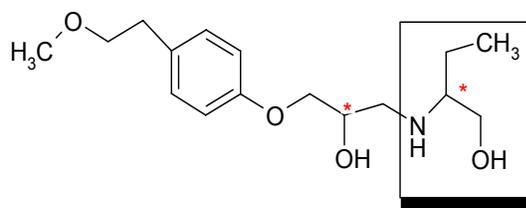
El  $\pm$ Metoprolol se utiliza en la terapéutica en forma de mezcla racémica, en donde se encontró que con el enantiómero (R) puede producir efectos secundarios como vértigo y alucinaciones, mientras que el enantiómero (S) no presenta este problema y es aún 270 veces más potente que (R); además de que tiene mayor afinidad por el receptor  $\beta$  adrenérgico (50- 500 veces) por lo que se ha intentado la síntesis del compuesto activo a nivel de escalamiento industrial, pero aún se sigue utilizando el racemato en la terapéutica.<sup>30</sup>

Recientemente se sintetizaron 4 compuestos análogos al Metoprolol con dos centros estereogénicos de los cuales aún no se conoce con exactitud su actividad farmacológica ni sus mecanismos de acción. (Fig. 5)<sup>1</sup>

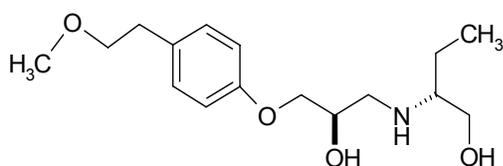
3.7 ESTRUCTURA DE LOS ANÁLOGOS DEL METOPROLOL



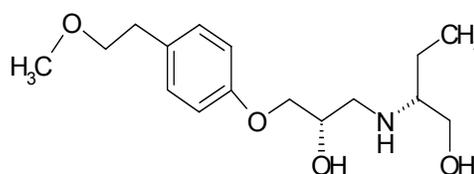
**±METOPROLOL**



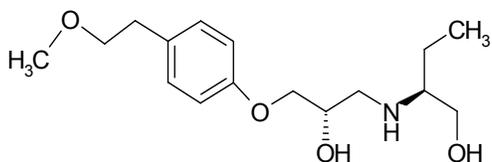
**ANÁLOGOS**



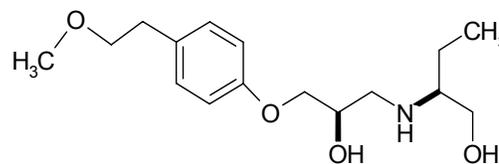
**(2R, 2'R)-7 7D1**



**(2S, 2'R)-7 7D2**



**(2S, 2'S)-8 8D1**



**(2R, 2'S)-8 8D2**

Fig. 5. Análogos del Metoprolol. El grupo metilo del residuo de isopropilamina del Metoprolol, se sustituyó por un grupo etilo y el otro grupo metilo se sustituyó por un hidroximetileno, introduciendo un nuevo centro estereogénico en la molécula.

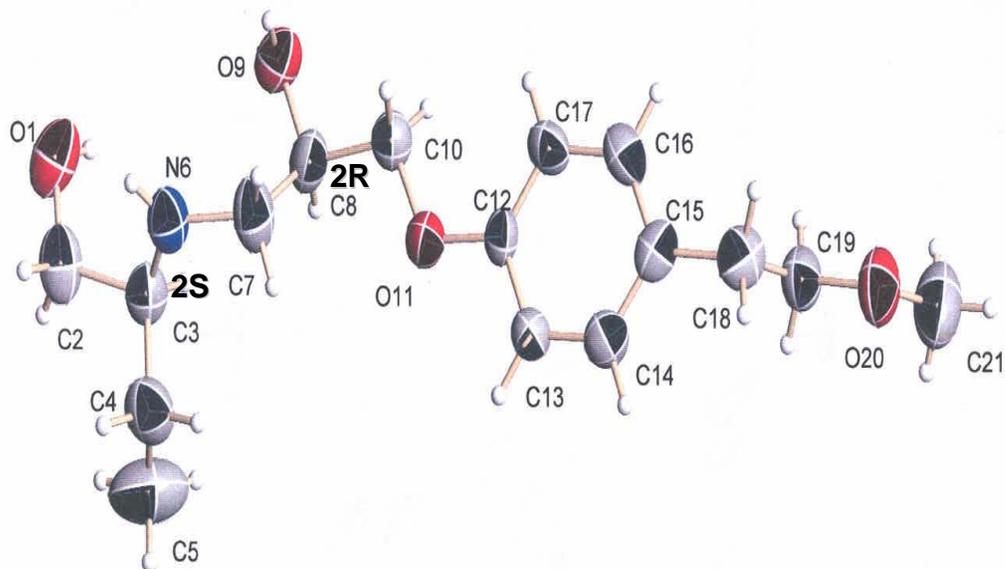


Fig. 6. Rayos X del diastereómero 8D2 donde se aprecia su configuración (2R, 2'S)<sup>1</sup>

**3.7.1. POSIBLE MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANÁLOGOS DEL ±METOPROLOL**

Los anillos de aorta precontraídos con fenilefrina se relajaron con concentraciones crecientes de los análogos del ±Metoprolol 7D1, 7D2, 8D1, 8D2, esta relajación fue parcialmente inhibida por L-NAME (inhibidor de la sintasa de óxido nítrico). Estos análogos parecen liberar más óxido nítrico que inclusive el Metoprolol. (Fig. 7)

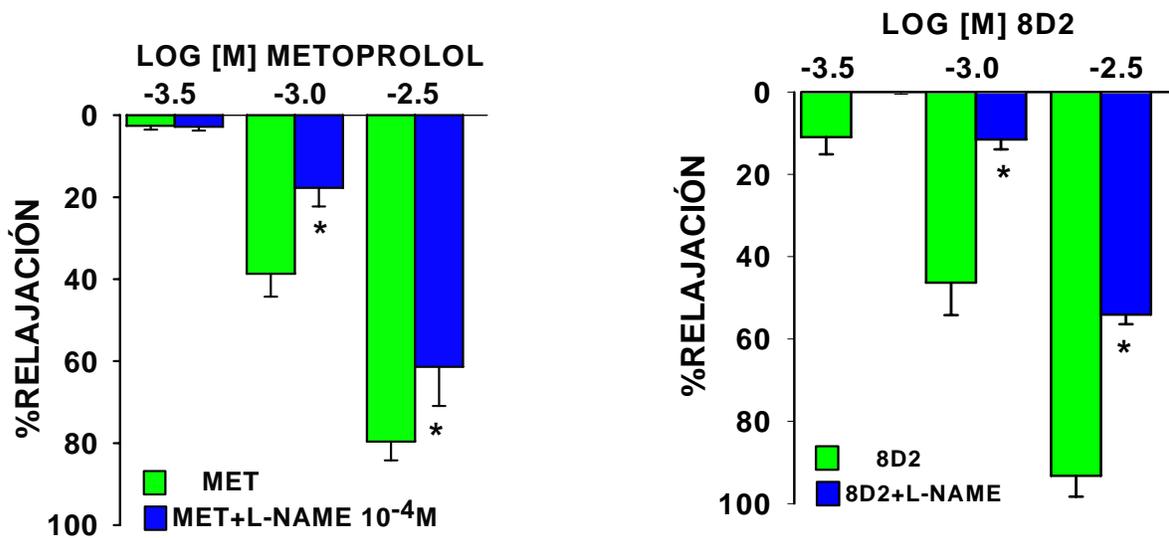


Fig. 7. Efecto de la incubación de L-NAME (10<sup>-4</sup>M) en la respuesta producida por el Metoprolol y el análogo sintético 8D2 en anillos de aorta de rata precontraídos con fenilefrina (10<sup>-6</sup>M). \*P<0.05 vs control

En otros experimentos en los que se utilizaron preparaciones libres de calcio y se despolarizó a las preparaciones con una alta concentración de potasio 80M, la administración del calcio produjo una contracción de los anillos vasculares dependiente de la concentración de calcio; al incubarlos con los análogos se observó un desplazamiento de la curva concentración – respuesta a la derecha. (Fig. 8)

Por los resultados obtenidos se sugiere que el posible mecanismo de acción de estos análogos es mediante la liberación de óxido nítrico y bloqueo de los canales de calcio del músculo liso vascular. Los compuestos 7D2 y 8D2 parecen ser los más activos.<sup>2</sup>

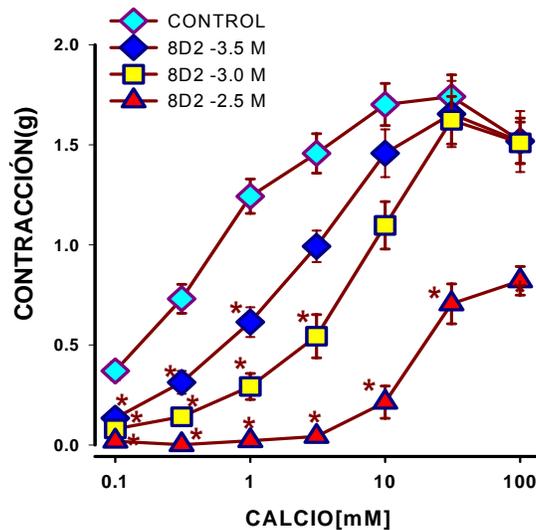


Fig. 8. efecto del análogo 8D2 en la curva concentración – respuesta a calcio en anillos de aorta de rata despolarizados con potasio 80Mm en Krebs sin cloruro de calcio. \*P<sub>≤</sub>0.05 vs control

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los análogos del Metoprolol sintetizados por Melgar y colaboradores contienen por separado el enantiómero S (actividad terapéutica en el Metoprolol) y el enantiómero R (responsable de los efectos colaterales), además de un nuevo centro estereogénico los cuales han presentado disminución de la presión arterial y la frecuencia cardíaca durante un tiempo breve en rata Wistar anestesiada siendo los más efectivos el 7D2 y 8D2, por lo que es imprescindible continuar con su evaluación farmacológica por administración oral en ratas espontáneamente hipertensas ya que esta cepa desarrolla una hipertensión semejante a la esencial y constituye uno de los modelos más frecuentemente utilizados en la evaluación experimental de fármacos antihipertensivos.

## 5. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

1. Estudiar los efectos de los análogos del Metoprolol sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca en ratas macho espontáneamente hipertensas sin anestesiarse

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Obtención de las Curvas Dosis – Respuesta utilizando a los análogos del Metoprolol 7D<sub>1</sub>, 7D<sub>2</sub>, 8D<sub>1</sub>, 8D<sub>2</sub> para conocer su actividad farmacológica, su potencia antihipertensiva, a que dosis y la duración del efecto.
2. Conocer el impacto que tiene la adición de otro centro estereogénico dentro de la molécula de (±) Metoprolol en la actividad farmacológica
3. Utilización del método Pletismográfico para la medición de la presión arterial sistólica y la frecuencia cardíaca.
4. Administración por vía intravenosa del análogo más activo en rata SHR macho anestesiadas con la finalidad de observar su efecto antihipertensivo y compararla con la vía oral.

### **6. HIPÓTESIS**

Debido a que estos análogos son derivados del ( $\pm$ ) Metoprolol se espera que los diastereoisómeros que tienen la configuración S en la cadena lateral serán más activos y que disminuirán la presión arterial a dosis bajas por su posible bloqueo de canales de calcio y liberación de óxido nítrico.

## 7. MATERIAL REACTIVOS Y EQUIPO

### MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas espontáneamente hipertensas de entre 250 y 300g de peso, las cuales se mantienen en jaulas dentro del bioterio en un cuarto con temperatura constante ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), ciclo de luz-oscuridad de 12/12 horas, alimento estándar *rat purina chow* y agua *ad libitum*.



### REACTIVOS Y FÁRMACOS

Compuestos análogos 7D1, 7D2, 8D1 y 8D2

Sintetizados por el Doctor  
Ignacio Regla de la FES Zaragoza

CMC

Merck

Ketamina

Probiomed

Propilenglicol

J.T. Baker

Tartrato de Metoprolol

CIBA-GEIGI

Xilacina

PISA

### EQUIPO

Balanza Analítica

DENVER INSTRUMENTS COMPANY®

Micropipetas

GILSON® capacidades de 100-1000 – 5000  $\mu\text{L}$

Polígrafo

GRASS® Mod. 7D

Amplificador de pulsos

iitc. Inc. Mod. 59

sensor óptico

iitc. Inc. B60 3/8

Medidor PAS y de FC

iitc. Inc. Mod. 72

## 8. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 8.1. Registro de la Presión Arterial por el método Pletismográfico en la rata despierta

Las ratas se dividieron en 6 grupos, Con una  $n = 6.$ , Uno fue el grupo control al cual solo se le administró el vehículo (CMC 0.5%) a los restantes se les administró el  $\pm$ Metoprolol tartrato y sus análogos 7D<sub>1</sub>, 7D<sub>2</sub>, 8D<sub>1</sub>, 8D<sub>2</sub> en dosis crecientes logarítmicas 1.0 ,3.10 ,10.0 y 31.0 mg/kg por vía oral en forma aguda administrándoles una dosis diferente a cada grupo, dejando descansar los grupos dos semanas entre cada dosis administrada.

Previo a la experimentación se pusieron en ayuno un periodo de 12-18 hrs con libre acceso al agua. Mediante el método pletismográfico se midió la frecuencia cardiaca (FC) y la Presión Arterial Sistólica (PAS) por medio de un sensor óptico (iitc. Inc. B60 3/8) colocado en la base de la cola de la rata, acoplado a un amplificador de pulsos (iitc. Inc. Mod. 59) y este a un medidor de PAS y de FC (iitc. Inc. Mod. 72) y posteriormente conectado a un polígrafo (Grass mod. 7D) Previo a la toma de presión, las ratas fueron calentadas por medio de una lámpara para dilatar la arteria caudal. La medición de la PAS se realizó en un cuarto con temperatura controlada (25 °C) colocando la cola del animal en un dispositivo que es insuflado hasta no permitir el paso de la sangre a través de la arteria caudal. Inmediatamente, se liberar la presión registrando la primera onda del pulso arterial, que corresponde a la presión arterial sistólica. La presión que se aplica es registrada unicamente en otro canal. Fig.9

Antes de iniciar el experimento se tomó un registro control de PAS y FC, posteriormente se les administró en forma aguda el análogo suspendido en CMC al 0.5% se continuo tomando los registros de PAS y FC a 1, 2, 4,6,8, 24,48 hrs. dependiendo de la dosis y el efecto que se tenga.

MÉTODO PLETISMOGRÁFICO INDIRECTO NO INVASIVO

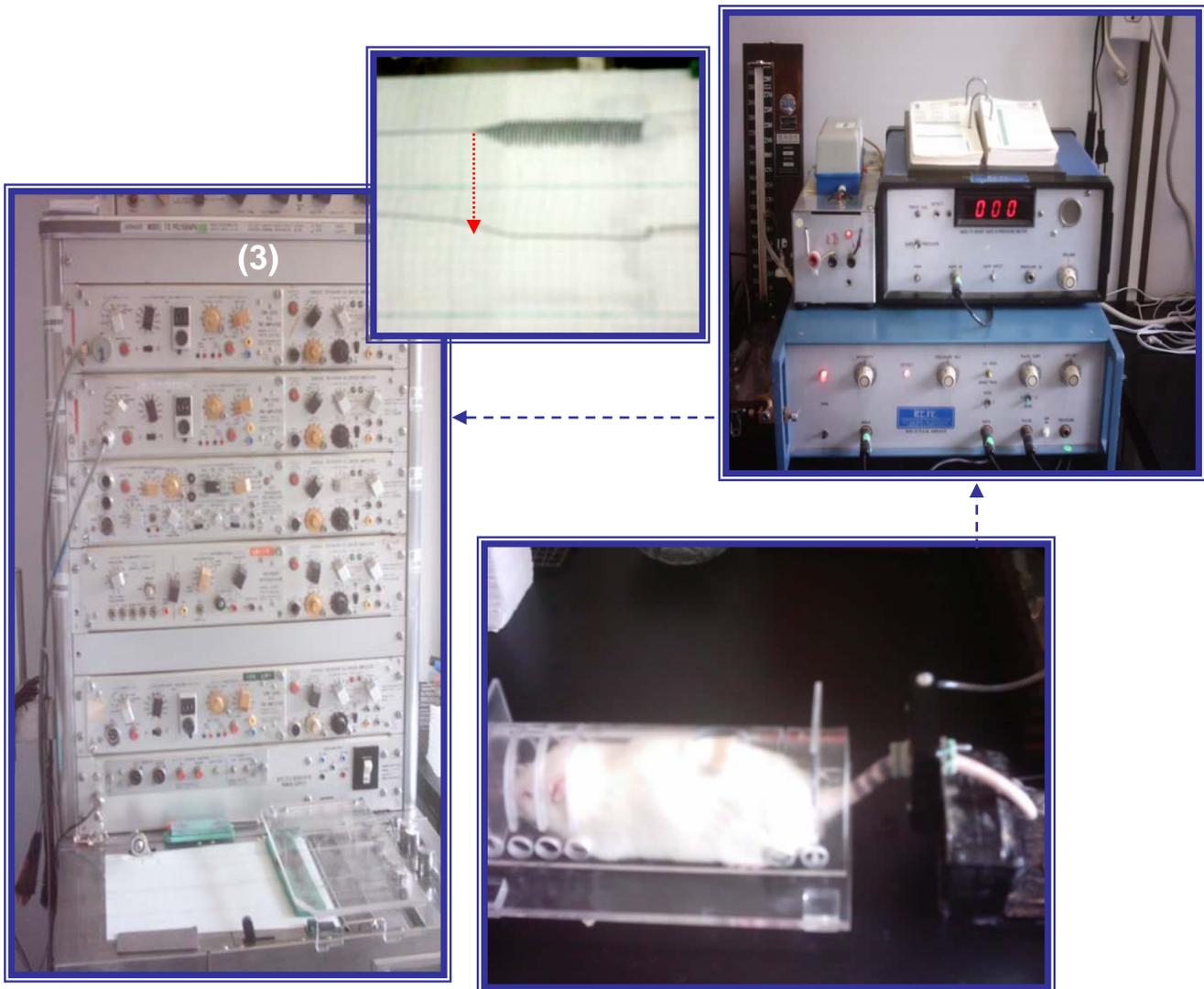


Fig. 9. El método Pletismográfico se encuentra formado por un sensor óptico (1), un amplificador de pulso (2) y un polígrafo (3)

## **8.2. Registro de Presión Arterial por el método invasivo en Rata Anestesiada**

Las ratas fueron anestesiadas con Xilazina 10mg/Kg y Ketamina 100mg/Kg. Enseguida, se realizó una traqueotomía para proporcionar respiración asistida por medio de una bomba de respiración (Harvard). Se insertó un catéter en la vena femoral para la administración de fármacos y otro en la arteria carótida derecha para monitorear la Presión Arterial Media (PAM) y la Frecuencia Cardíaca (FC) mediante un transductor de presión (P23 Gould) conectado a un polígrafo (7P Grass). La temperatura corporal se mantuvo a 37 °C con una lámpara de calentamiento durante cada experimento.

Realizada la cirugía se dió un control de 10 minutos, posteriormente se le administró el vehículo (Propilenglicol 10% en solución salina) en el cual fue disuelto el fármaco, después el análogo 8D2 en dosis acumulativa desde 1mg hasta 31 mg/Kg

## 9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los resultados en las gráficas están expresados como el promedio  $\pm$  error estándar de al menos 6 ratas por grupo.

Se utilizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba Dunnett para la comparación de los grupos con respecto al control. Se consideraron significativos los valores de  $P \leq 0.05$ .

Las gráficas fueron realizadas por medio del programa SigmaPlot 9.0 y para realizar la estadística el programa SigmaStat 2.03.

### 10. RESULTADOS

El uso de CMC 0.5% como vehículo no presentó ningún efecto estadísticamente significativo sobre la presión arterial sistólica y la frecuencia cardiaca (Fig.9)

En la administración de Metoprolol a 1 mg/kg se observa una caída de la presión arterial estadísticamente significativo con respecto a su control a la hora 6 después de la administración y que en el registro de las 8 hrs. desapareció este efecto siendo la recuperación mayor que el control. En la frecuencia cardiaca se ve más marcado el efecto, siendo más prolongado y estadísticamente significativo en la hora 4, 6, y 8. (Fig 10).

En la figura 11, donde se probó la dosis de 3.1 mg se observó una caída de presión arterial estadísticamente significativa en a la hora 2 y 4 con una posterior recuperación. En la frecuencia cardiaca, en la hora1, 2 y 4 fueron significativos comparados con el control.

Cuando se administró la dosis de 10mg de MET, se observó un decremento tanto de la PAS y la F.C. estadísticamente significativa y mayor que las dosis anteriores. La F.C disminuyó 93.4 lat/min en la primera hora después de la administración y observándose este efecto hasta 6 horas después (Fig. 12)

En el caso de la administración de MET se observó una relación de tipo dosis- respuesta dependiente tanto en la presión arterial como en la frecuencia cardiaca. Cabe mencionar que el efecto sobre la frecuencia cardiaca es mucho más marcado y de más duración que en el caso de la PAS.

Efecto de la Carboximeilcelulosa por vía oral en ratas SHR machos libres de anestesia (Método Pletismográfico)

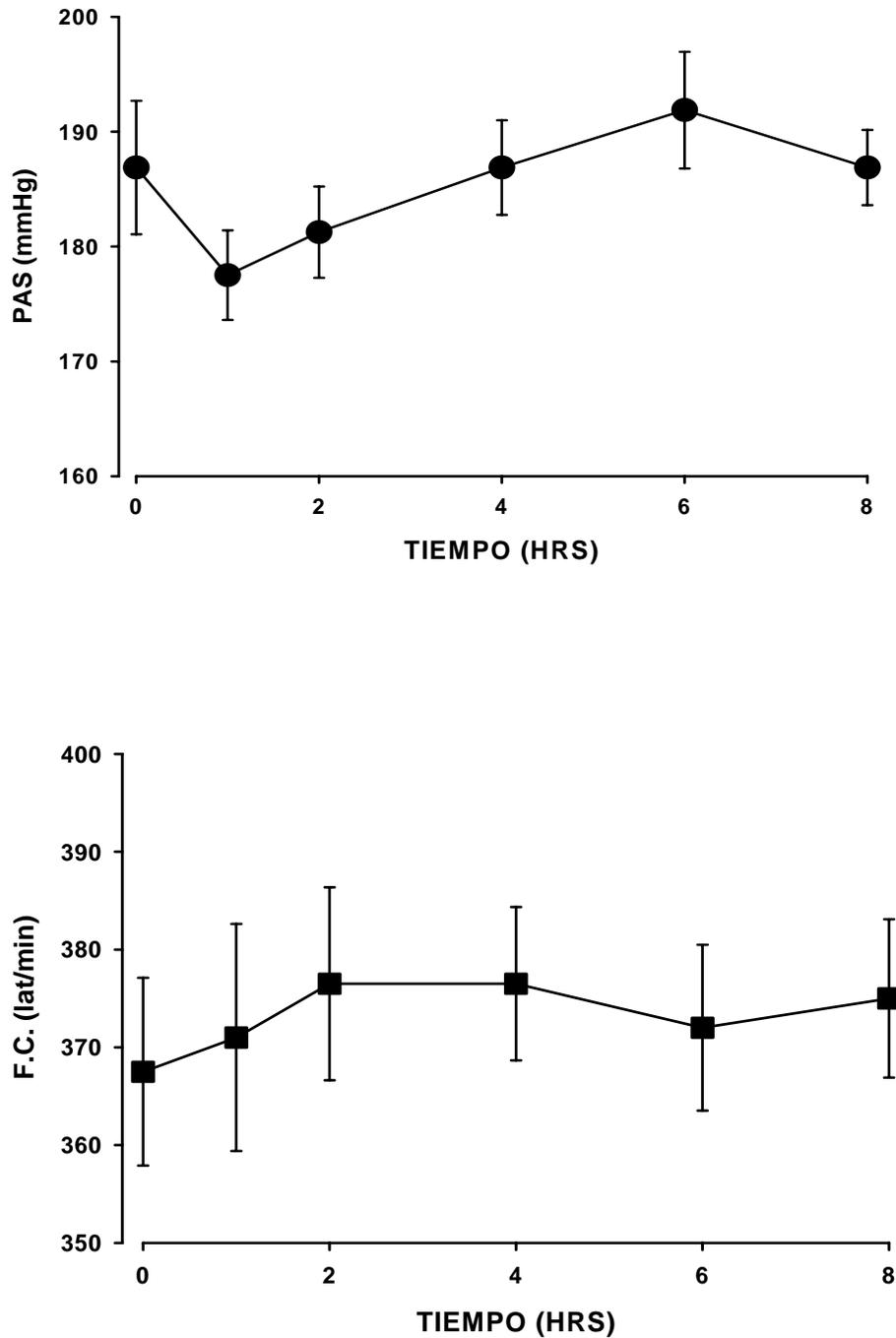


Fig. 9. Efecto de CMC 0.5% sobre la presión Arterial sistólica y la Frecuencia Cardíaca (Grupo control)

Efecto del Metoprolol en la presión arteria y la frecuencia cardiaca

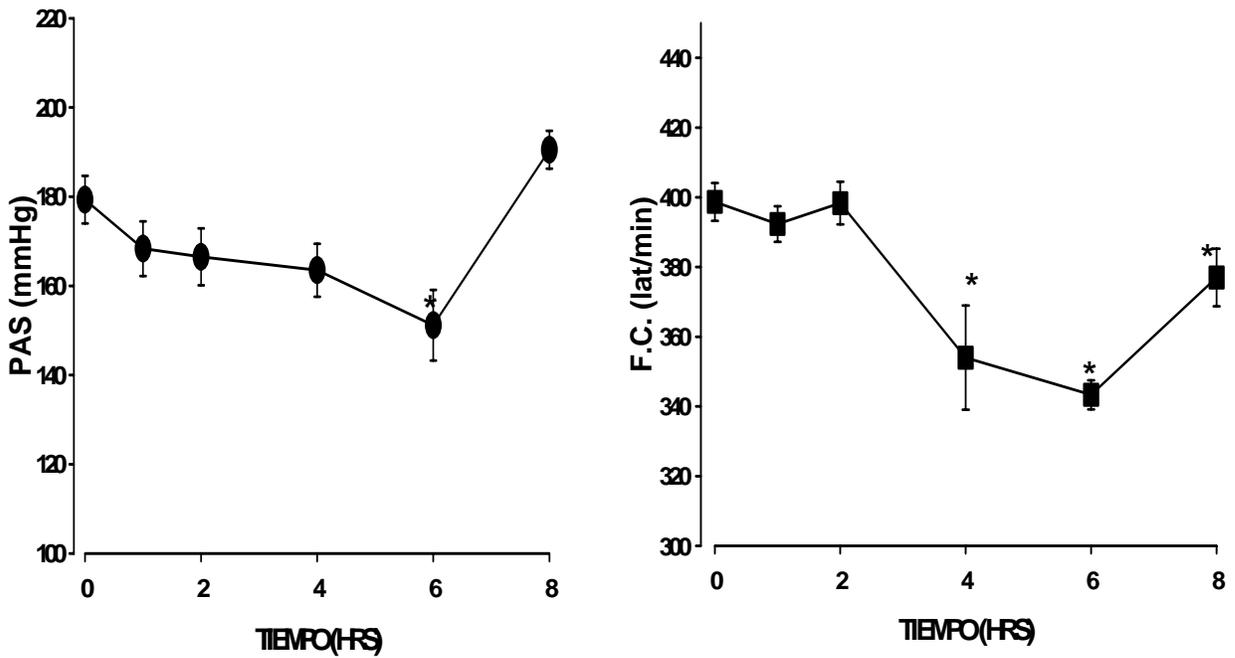


Fig. 10. Efecto del MET dosis de 1 mg/kg sobre la Presión Arterial y la Frecuencia Cardiaca. \*P<0.05 vs control

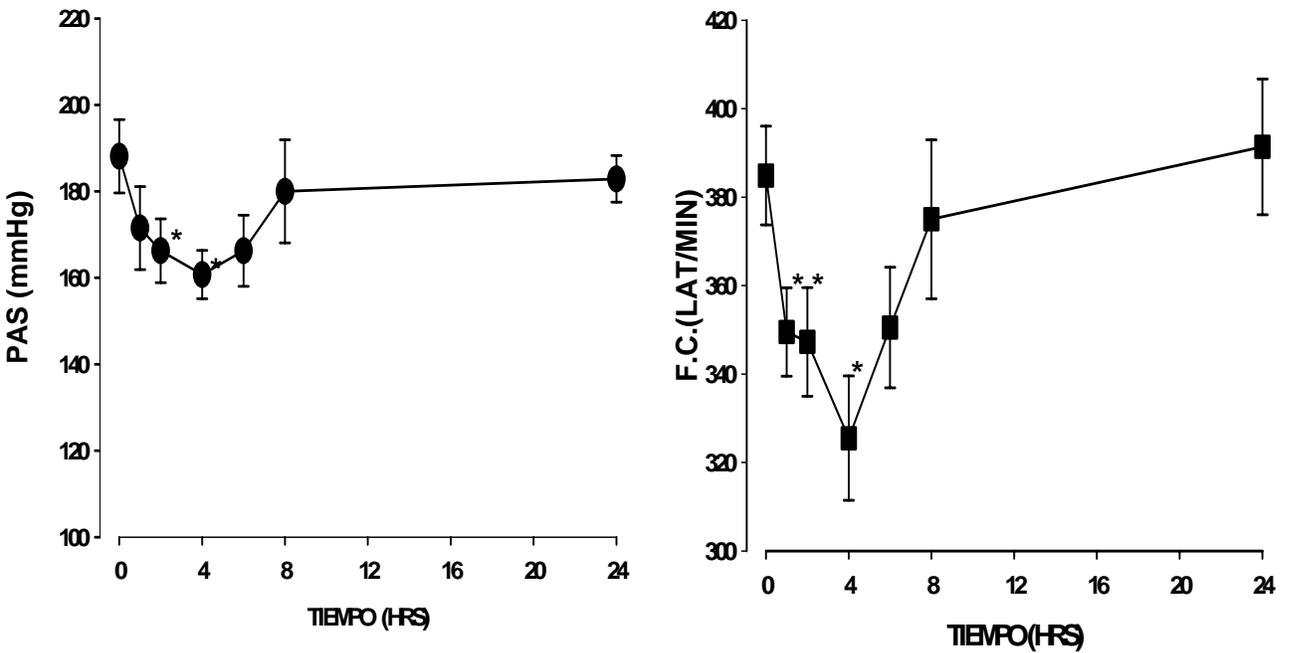


Fig. 11. Efecto del MET dosis de 3.1 mg/kg sobre la Presión Arterial y la Frecuencia Cardiaca. \*P<0.05 vs control

Efecto del Metoprolol en la presión arterial y la frecuencia cardiaca

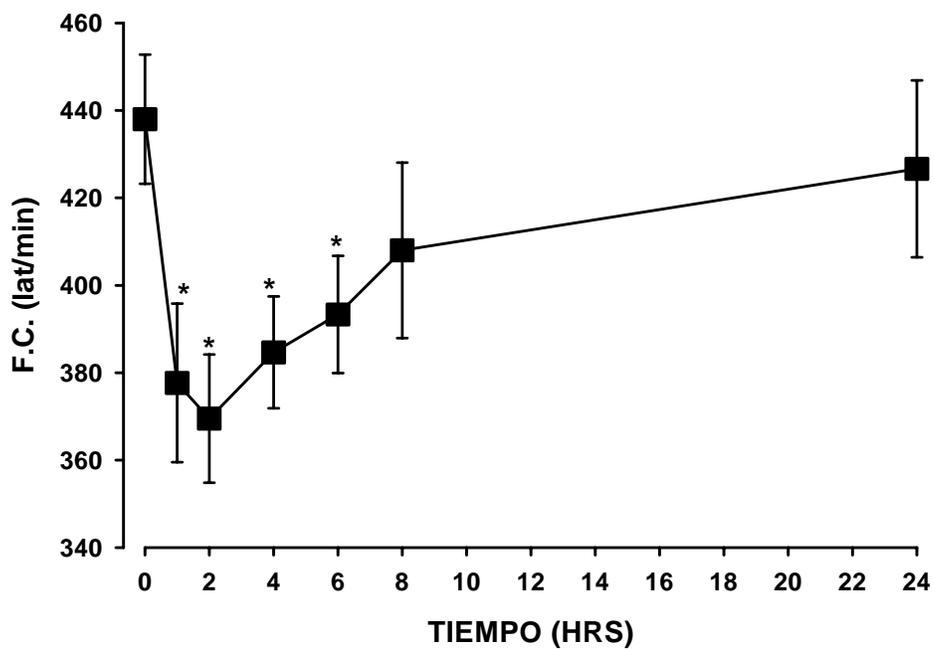
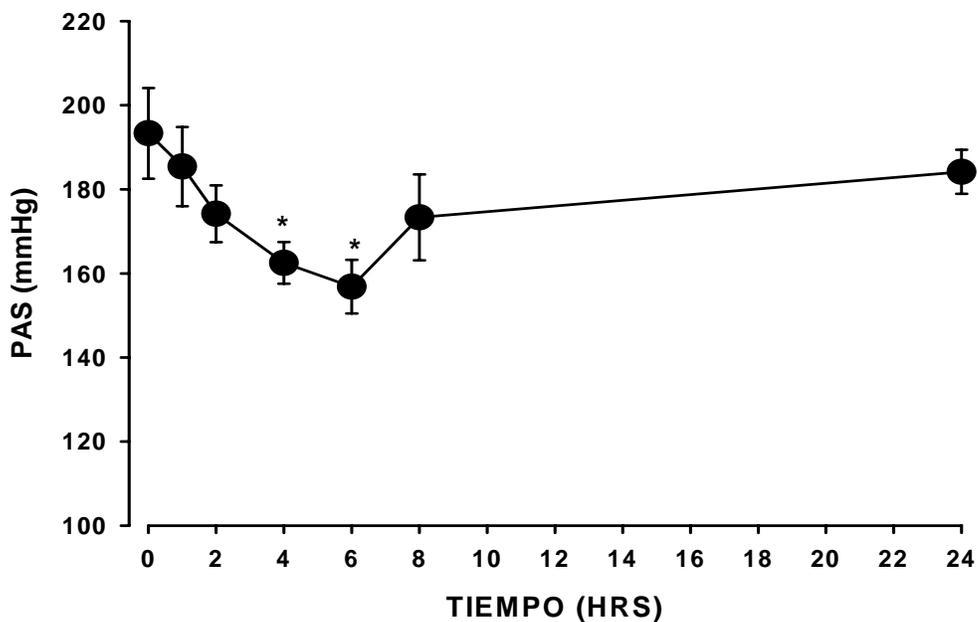


Fig. 12. Efecto del MET dosis de 10 mg sobre la Presión Arterial y la Frecuencia Cardiaca. \*P<0.05 vs control

La administración oral del análogo 7D1 produjo un efecto hipotensor marcado relacionado con la dosis. La administración de 1 mg/kg disminuyó la presión arterial sistólica y la frecuencia cardiaca siendo más notorio y prolongado sobre la PAS a pesar de una ligera recuperación a la hora 4 comparado con su registro basal. El efecto fue estadísticamente significativo (Fig .13)

La administración de 7D1 a 3.1 mg/Kg disminuyó la presión arterial sistólica, aunque el efecto no se notó muy pronunciado en las primeras horas sino hasta la hora seis siendo mayor el decremento que la dosis anterior utilizada. En la frecuencia cardiaca se observó un efecto bradicardico que perdura desde la primera hora hasta ocho horas después de la administración. Tanto la F.C. como la PAS son estadísticamente significativos de acuerdo su control basal. (Fig. 14)

La administración de 7D1 a 10 mg/Kg produjo un decremento estadísticamente significativo de acuerdo a su control basal en la PAS, observándose un efecto hipotensor pronunciado y sostenido hasta por 8 hrs., mientras que en la F.C. no se presentó efecto significativo. (Fig. 15)

La administración de 31 mg/Kg nos permitió ver un efecto significativo tanto en la F.C. como en la PAS. En la PAS el decremento fue de aproximadamente 62 mmHg en la primera hora después del tratamientos y pudiéndose observar hasta 8 hrs. después. (Fig.16)

Efecto antihipertensivo del análogo 7D1 (2R,2'R) del Metoprolol

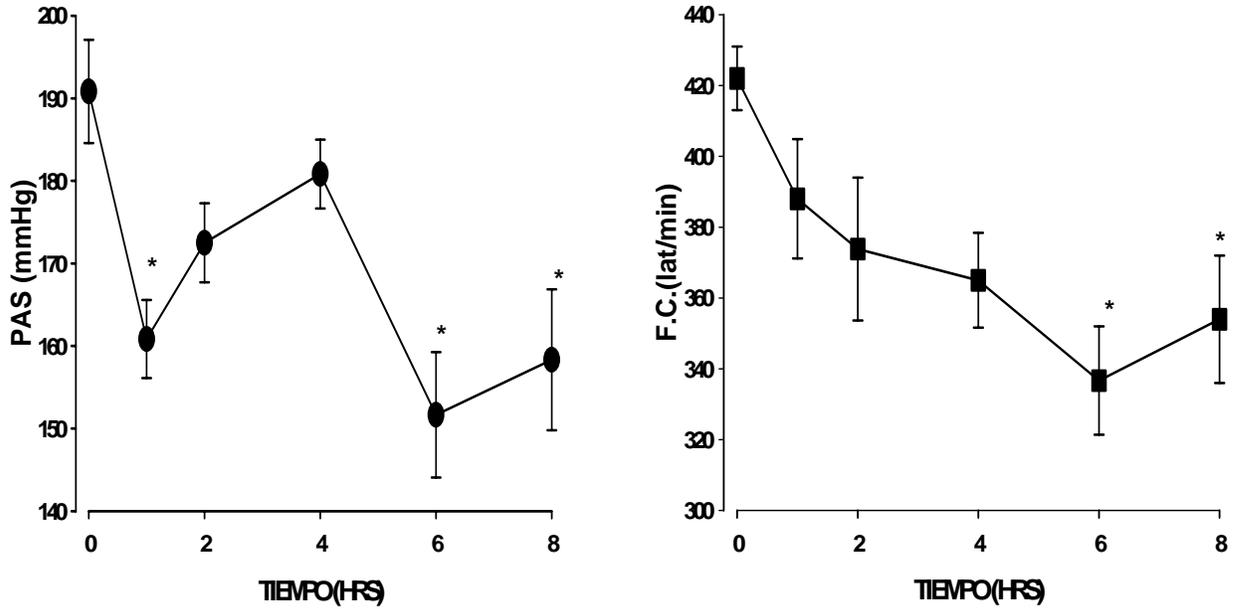


Fig. 13. Efecto del 7D1 dosis de 1 m /Kg sobre la Presión Arterial y la Frecuencia Cardiaca. \*P<0.05 vs control

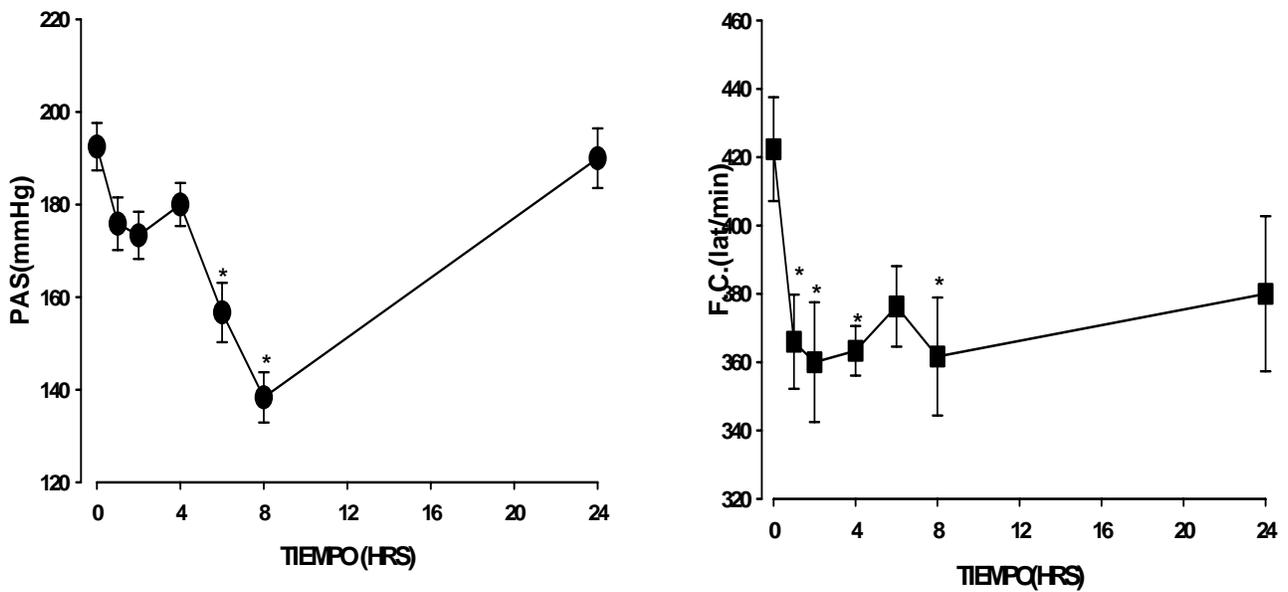


Fig. 14. Efecto del 7D1 dosis de 3.1 mg/Kg sobre la Presión Arterial y la Frecuencia Cardiaca. \*P<0.05 vs control

Efecto antihipertensivo del análogo 7D1(2R,2'R) del Metoprolol

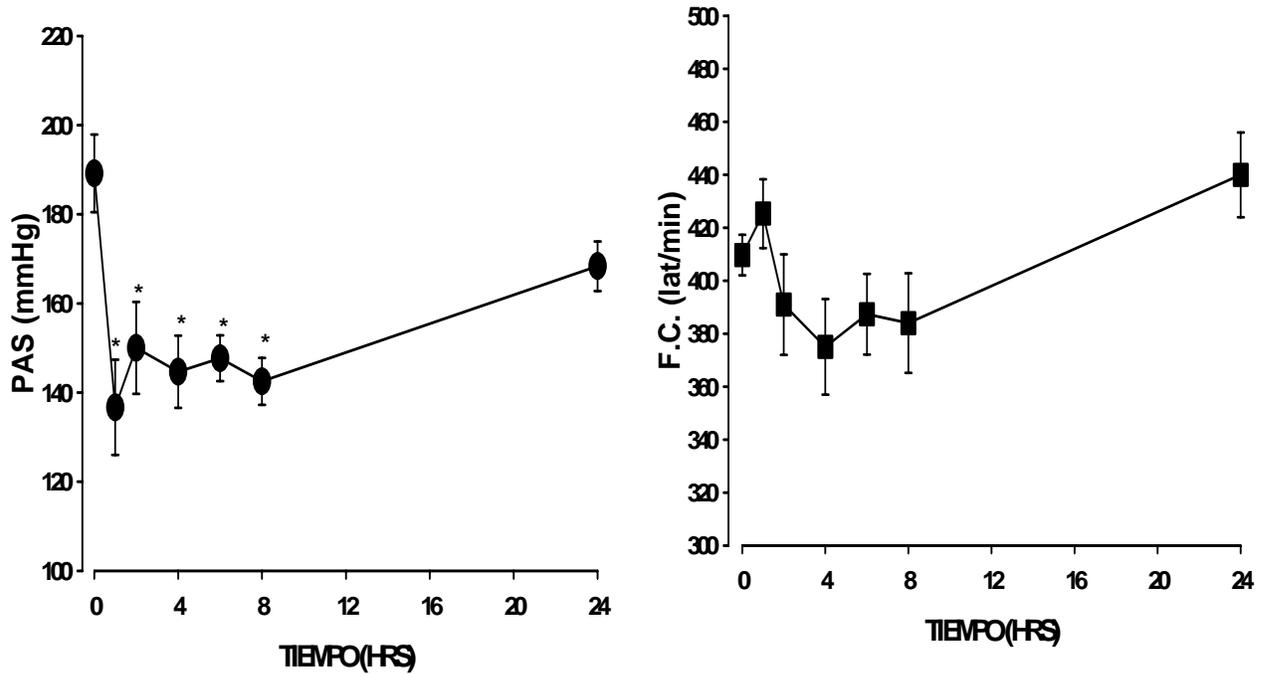


Fig. 15. Efecto del 7D1 dosis de 10 mg /Kg sobre la Presión Arterial y la Frecuencia Cardíaca. \*P<0.05 vs control

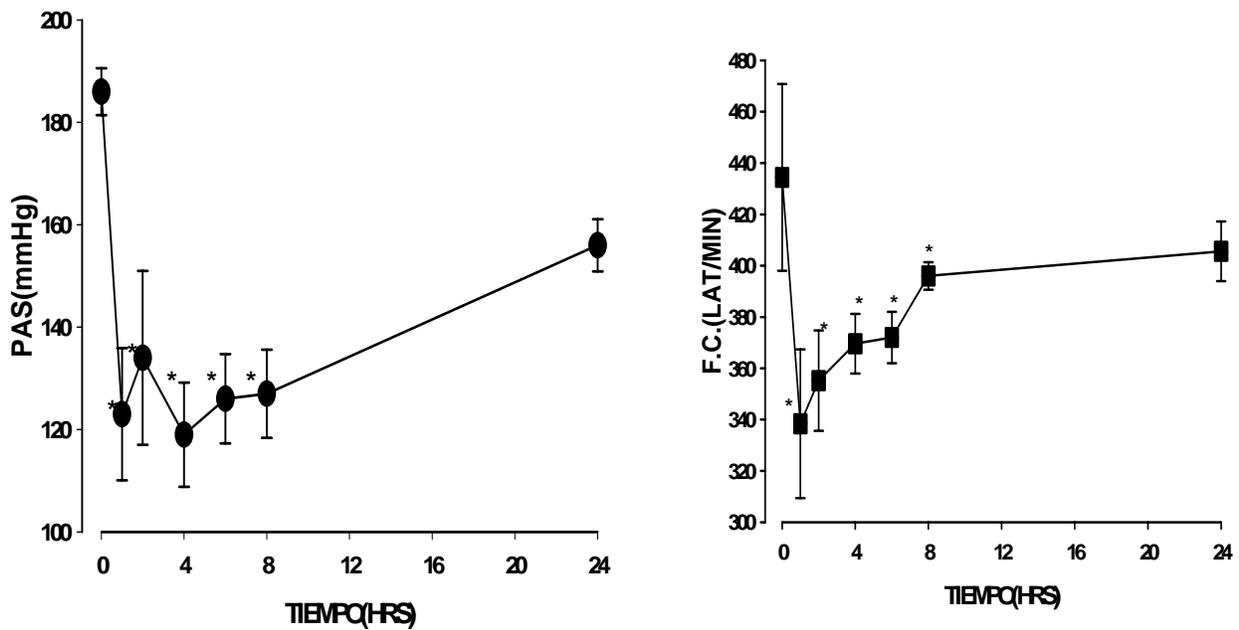


Fig. 16. Efecto del 7D1 dosis de 31 mg /Kg sobre la Presión Arterial y la Frecuencia Cardíaca. \*P<0.05 vs control

## RESULTADOS

---

La administración del 7D2 10 mg/Kg no mostró un efecto hipotensor ni bradicárdico significativo. (Fig.17)

A la dosis de 31 mg/Kg observamos una disminución de PAS estadísticamente representativa en la hora seis pero de corta duración, puesto que a la hora ocho ya se encontraba recuperada. En la frecuencia cardíaca a pesar de disminuir gradualmente no fue significativa. (Fig.18)

El análogo 8D1 administrado a 3.1 mg/Kg mostró un decremento en la PAS durante la hora uno y dos con posterior recuperación y en la F.C. No hubo diferencia estadísticamente significativa. (Fig.19)

A la dosis de 10 mg/Kg se observó una disminución de PAS y F.C. aunque el efecto fue de corta duración, es mayor que la dosis de 3.1 mg, Siendo estadísticamente significativa en F.C. en las horas cuatro, seis y ocho después del tratamiento. (Fig. 20)

Efecto antihipertensivo de análogo 7D2 (2S,2'R) del Metoprolol

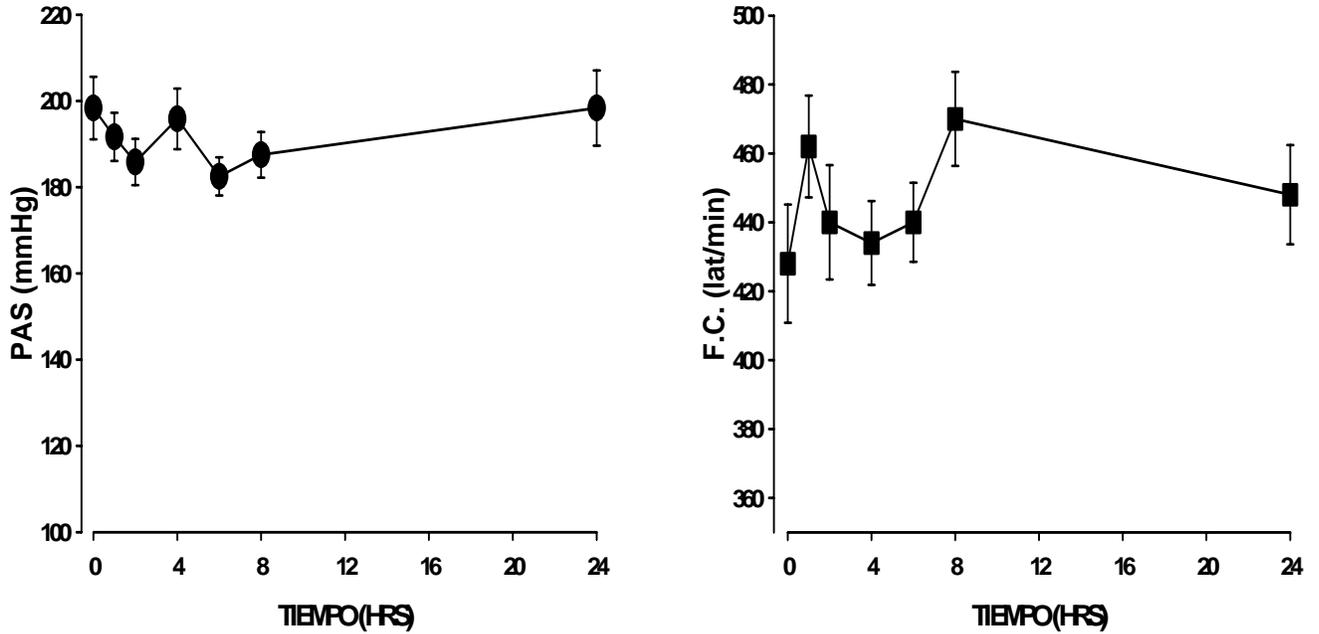


Fig. 17. Efecto del análogo 7D2 dosis 10 mg /kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

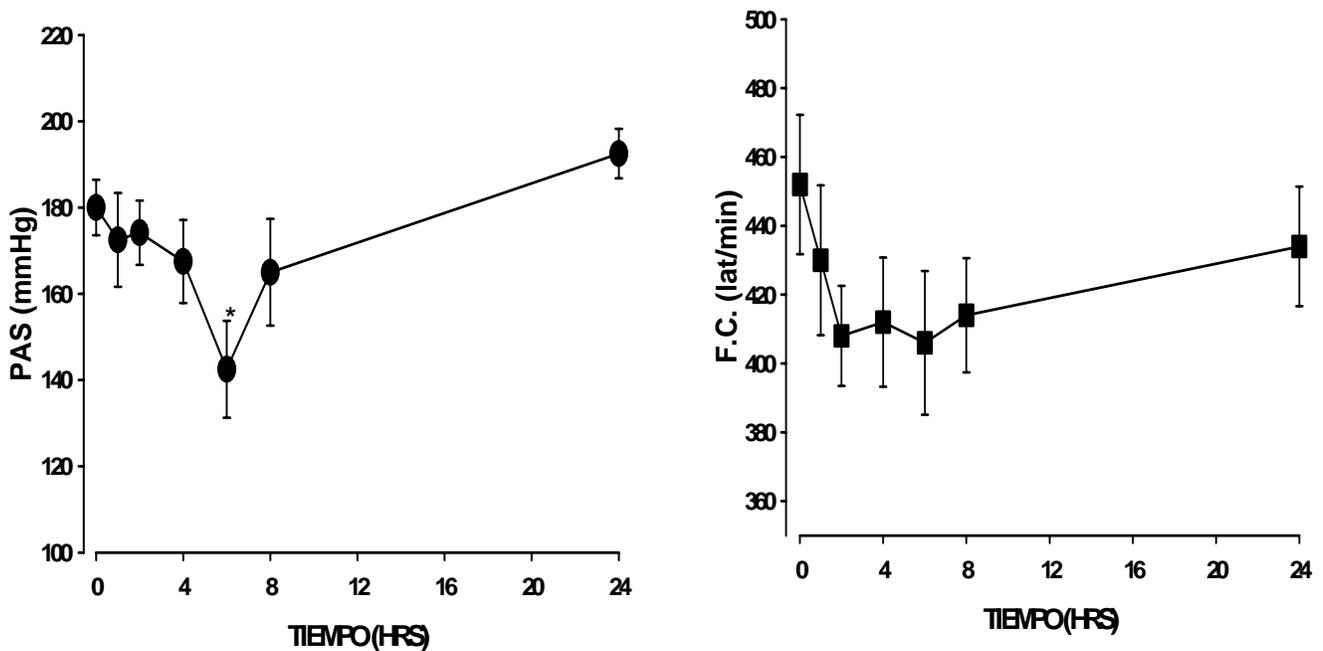


Fig. 18. Efecto del análogo 7D2 dosis 31 mg/kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

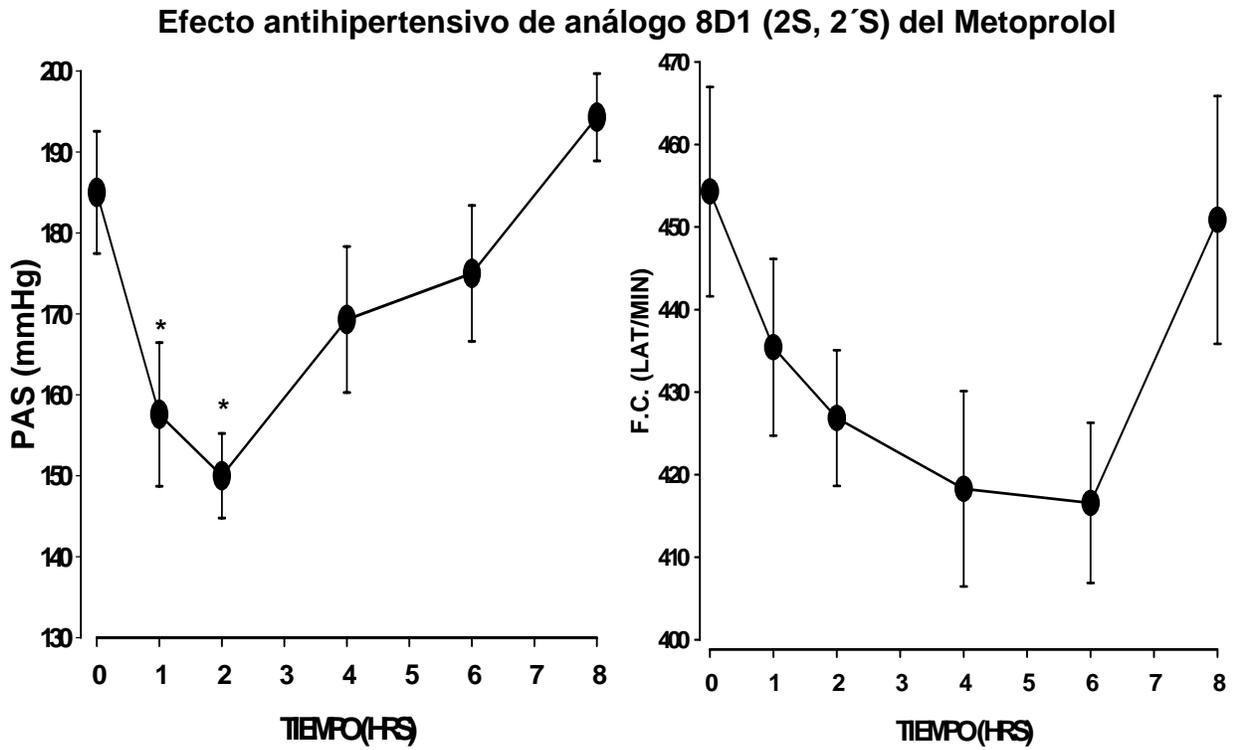


Fig. 19. Efecto del análogo 8D1 dosis 3.1 mg/kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

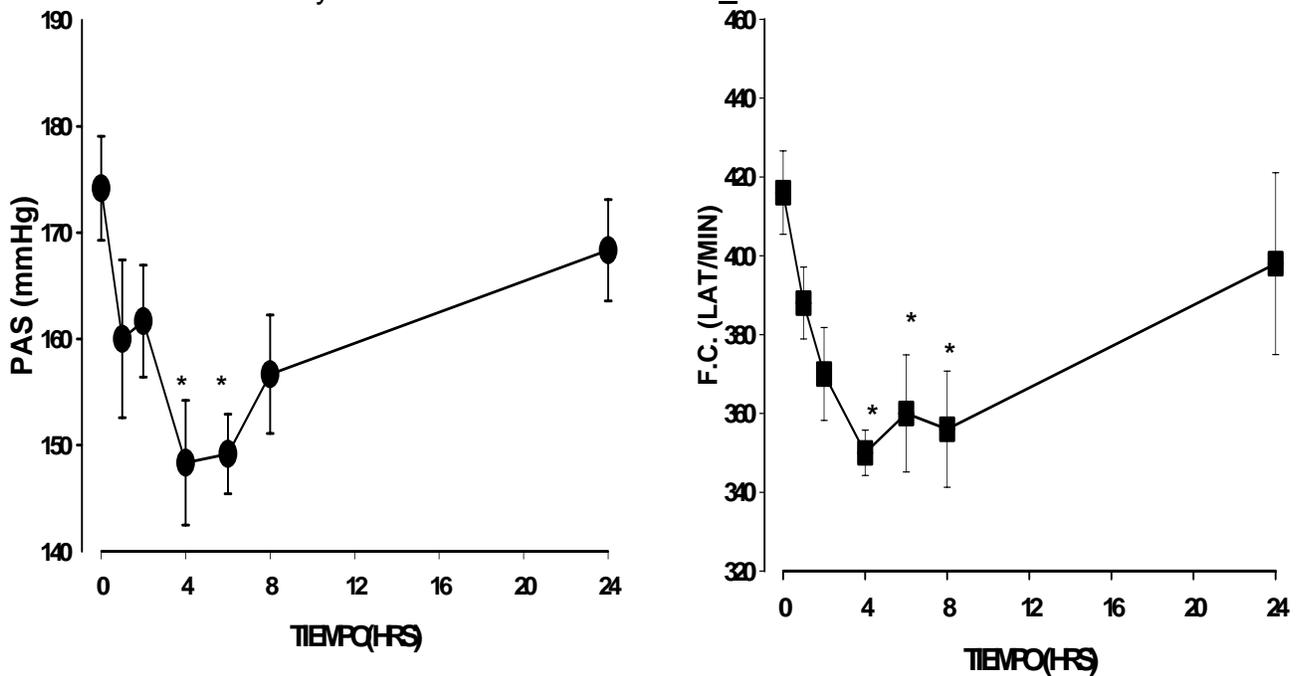


Fig. 20. Efecto del análogo 8D1 dosis 10 mg/kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

Otro efecto importante en presión arterial sistólica de tipo dosis respuesta se observó con el análogo 8D2. El cual a dosis de 1 mg/kg presentó un efecto hipotensor después de la primera hora de haberse tratado con duración hasta las 6 hrs. siendo estadísticamente significativo mientras que en la frecuencia cardiaca no se observó ningún efecto. (Fig.21)

A la dosis de 3.1 mg/Kg el efecto hipotensor es mayor que 1 mg/kg. El decremento de presión arterial sistólica se observa hasta 24 hrs. después de la administración siendo significativos. En la frecuencia cardiaca a esta dosis no hay efecto. (Fig. 22)

A partir de la dosis de 10 mg/Kg observamos un efecto significativo en la frecuencia cardiaca y en la presión arterial sistólica que se prolonga después de la administración hasta 24 horas en el caso de 10 mg/Kg. (Fig23) y solo hasta 8 hrs. en la frecuencia cardiaca. (Fig. 24). Siendo mayor el efecto en la presión arterial a la dosis de 31 mg/Kg pero no en la frecuencia cardiaca ya que la dosis de 10 mg/Kg es mayor.

Efecto antihipertensivo de análogo 8D2 (2S,2'R) del Metoprolol

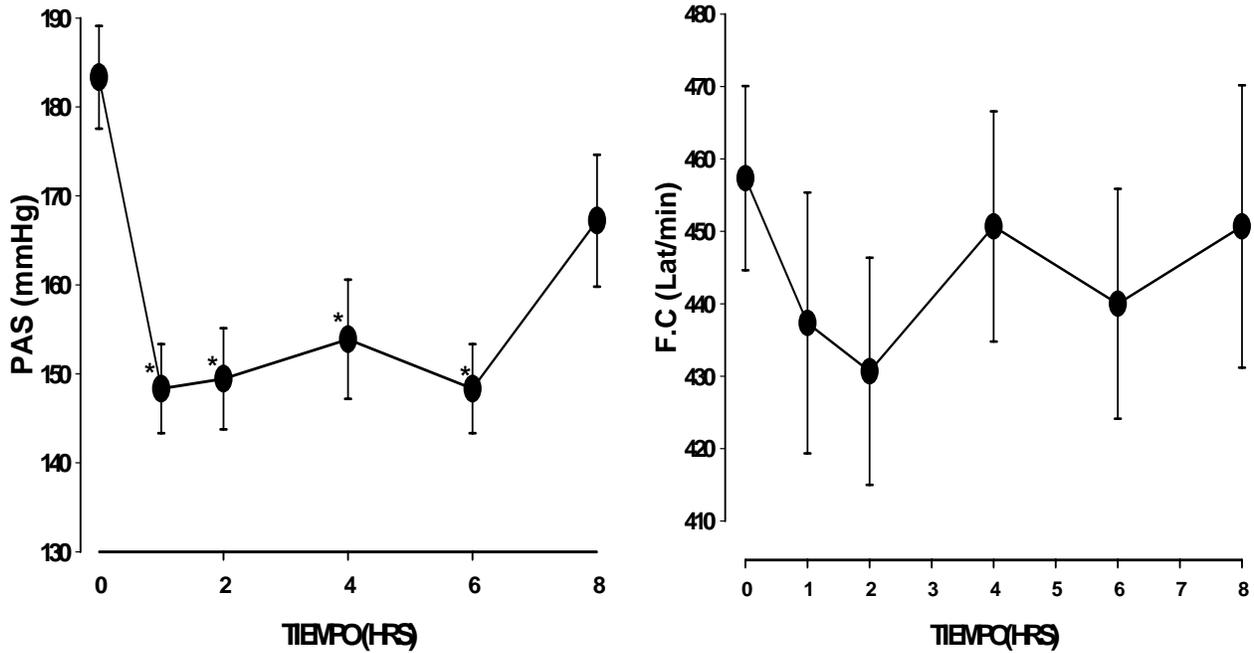


Fig. 21. Efecto del análogo 8D2 dosis 1 mg /kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

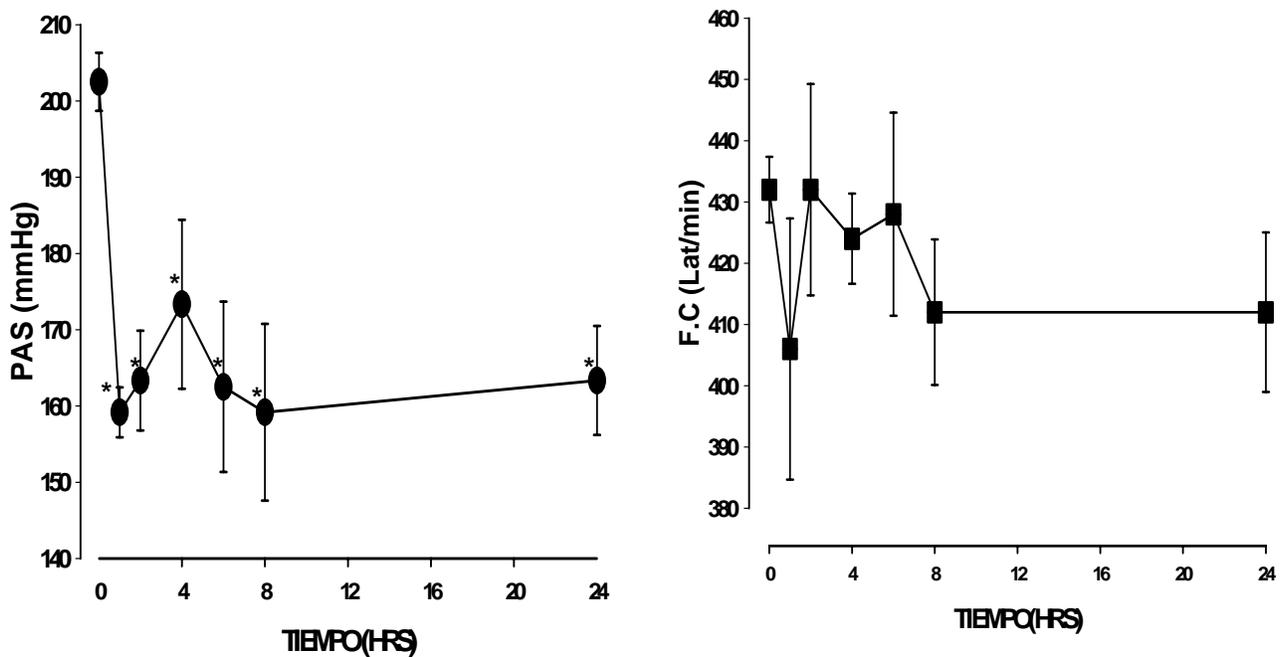


Fig. 22. Efecto del análogo 8D2 dosis 3.1 mg/kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

Efecto antihipertensivo de análogo 8D2 (2S,2'R) del Metoprolol

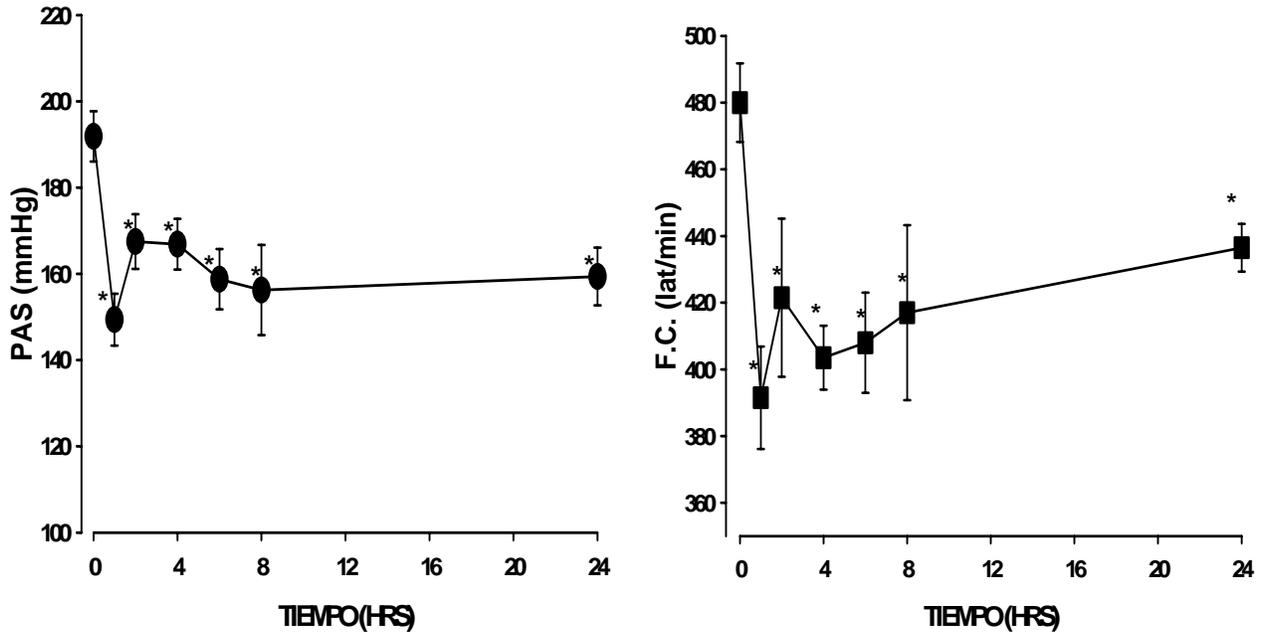


Fig. 23. Efecto del análogo 8D2 dosis 10 mg/kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

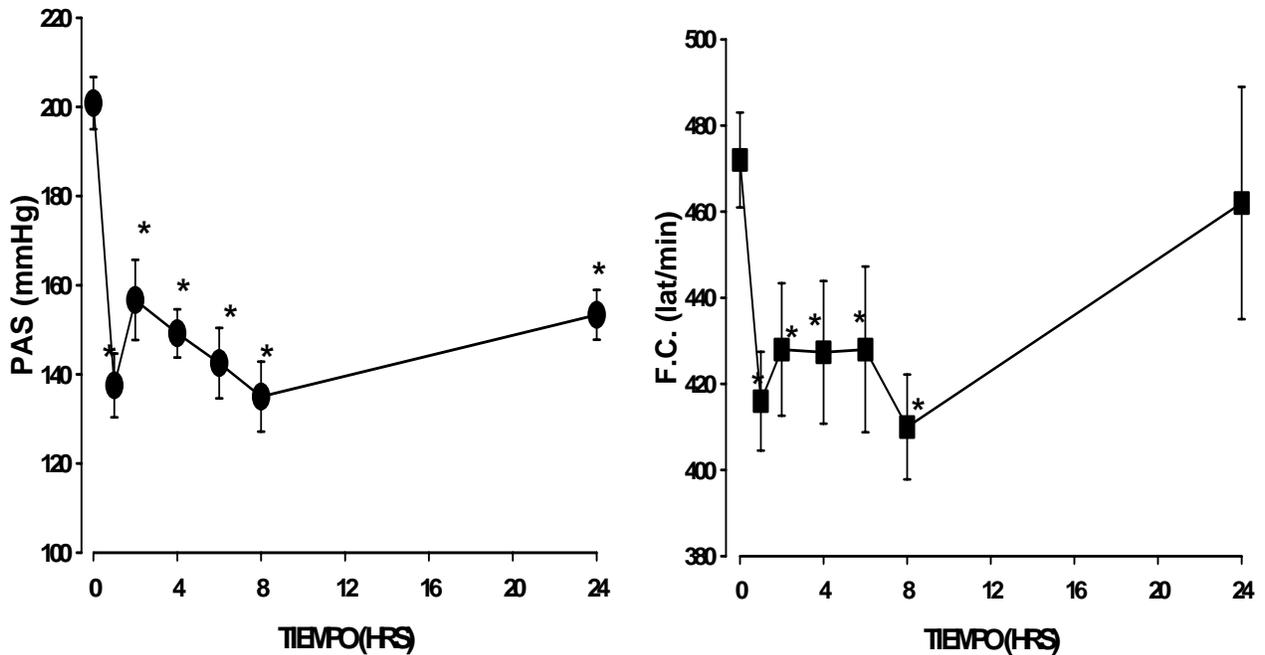


Fig. 24. Efecto del análogo 8D2 dosis 31 mg/kg sobre la Presión Arterial Sistólica y la Frecuencia Cardiaca. \* $P \leq 0.05$  Vs control

Los análogos del Metoprolol muestran un efecto antihipertensivo dependiente de la dosis siendo los más activos el 7D1 y 8D2, los menos activos el 7D2 y el 8D1. Al parecer el análogo 7D1 resulta mas activo en la primeras 8 hrs. después de la administración. (Fig. 25)

En la figura 26 se puede observar que el análogo más activo es el 8D2 seguido por el 7D1, 8D1, 7D2, por una posible absorción y/o metabolismo por la generando un metabolito activo que contribuye con la potencia del efecto antihipertensivo y con la finalidad de observar la posible participación del metabolito se decidió administrar por vía intravenosa en ratas SHR anestesiada del análogo 8D2 en dosis acumulativas mostrando un decremento en la presión arterial media y la frecuencia cardiaca de tipo dosis–respuesta, solo que a diferencia de la vía oral el efecto dura unos cuantos segundos. (Fig. 27)

Área Bajo la Curva en decrementos de efecto sobre la presión arterial sistólica.

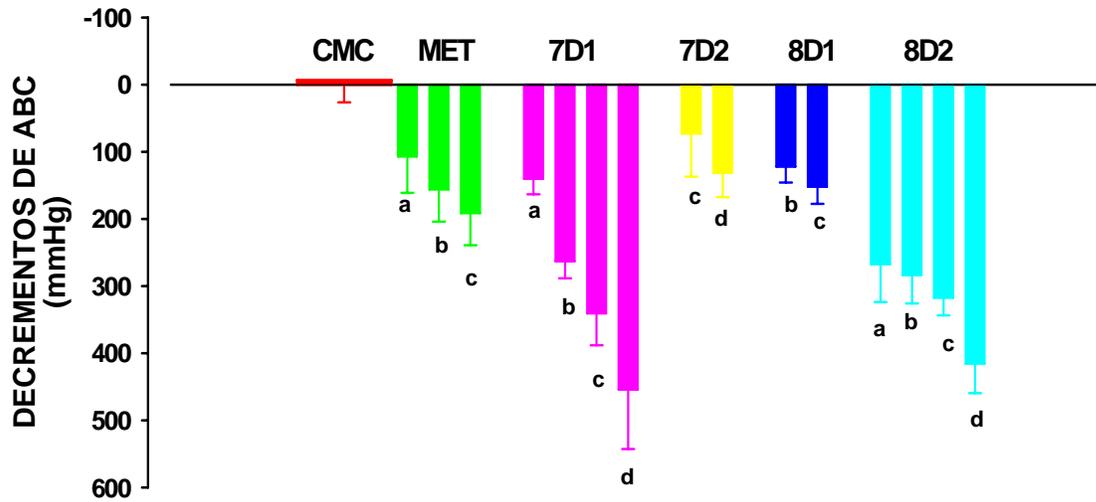


Fig. 25 Efecto de los análogos del Metoprolol de 0 hasta 8 horas a las dosis: a =1 mg b=3.1 mg c=10 mg d=31 mg/kg Sobre la Presión Arterial Sistólica. Se observa el efecto de tipo dosis – dependiente, la magnitud del efecto siendo el más activo a hasta la s 8 hrs. el análogo 7D1.

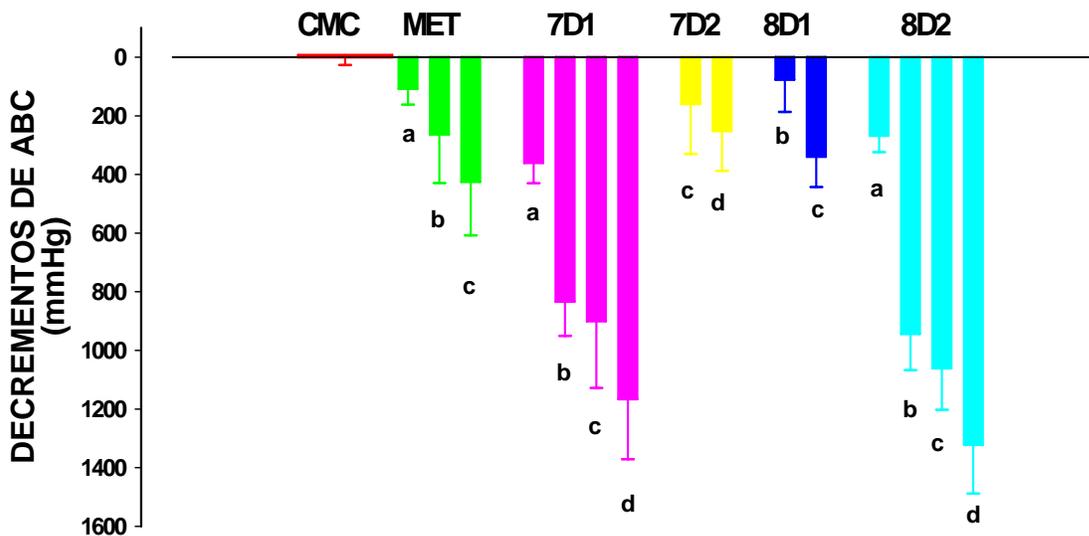


Fig. 26 Efecto de los análogos del Metoprolol de 0 hasta 24 horas a las dosis: a =1 mg b=3.1 mg c=10 mg d=31 mg/kg Sobre la Presión Arterial Sistólica. Se observa que el análogo 8D2 perdura su efecto hasta 24 hrs. siendo más activo que incluso el 7D1.

Efecto del análogo 8D2 en rata SHR anestesiada (Método Invasivo)

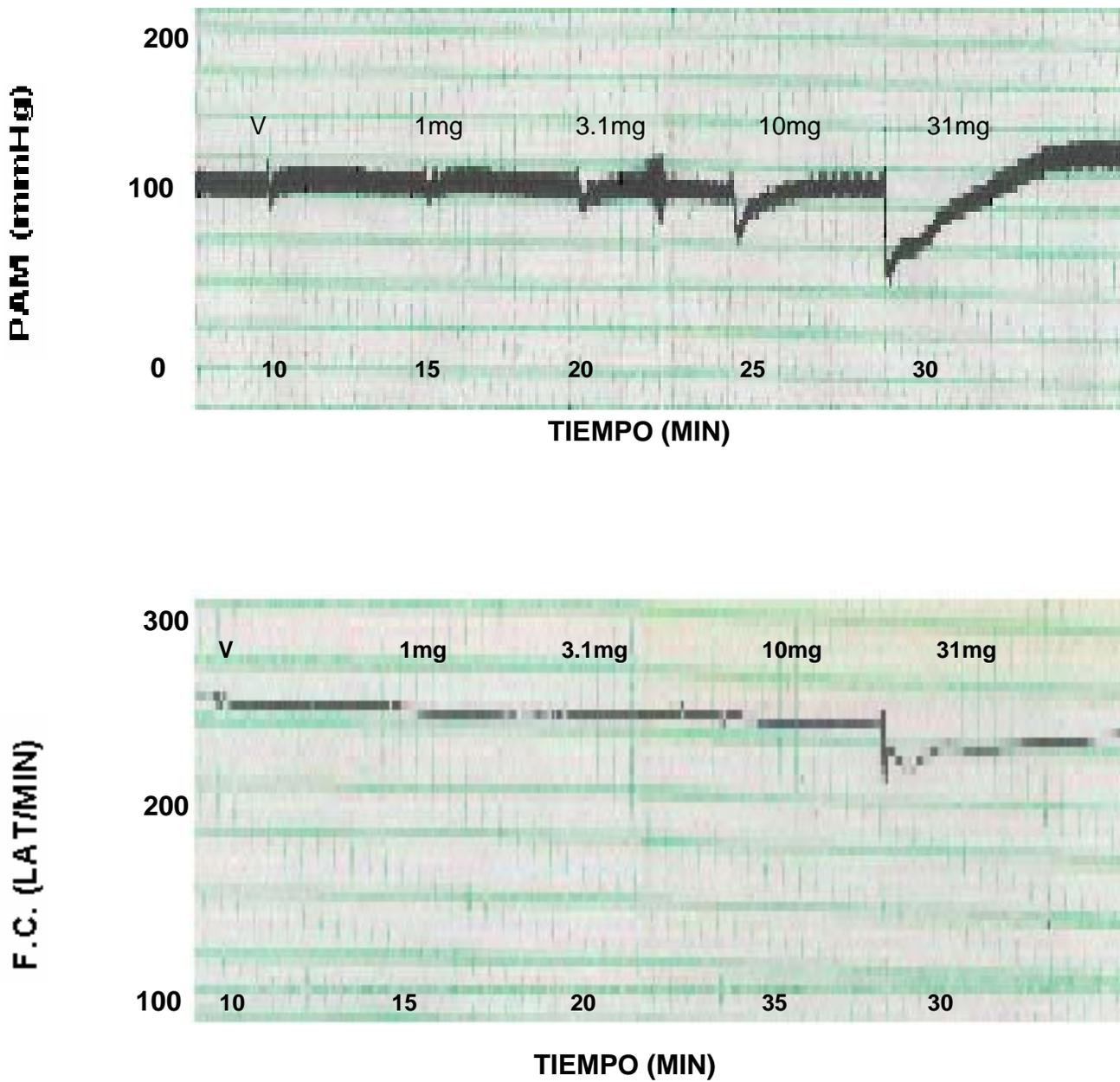


Fig 27. Efecto del 8D2 por vi. en dosis acumulativas de 1 mg – 31 mg/kg sobre la presión arterial media y la frecuencia cardiaca. En esta gráfica se puede observar el efecto antihipertensivo y la corta duración.

### 11. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Está reportado que los beta bloqueadores tienen un ligero efecto hipotensor de corta duración, ya que requieren de una fase de fijación después de la administración oral, se maneja que los beta bloqueadores muestran un efecto hipotensor sostenido después de una administración prolongada<sup>31</sup>

En nuestros resultados se observa un efecto hipotensor de tipo dosis dependiente con el Metoprolol. El efecto es de corta duración en la presión arterial sistólica y en la frecuencia cardiaca es más marcado y duradero.

Aunque el mecanismo antihipertensivo del metoprolol no está muy bien establecido, en algunos trabajos se reporta que el Propanolol, un fármaco antagonista no selectivo de los receptores beta, puede bloquear la entrada de calcio y producir vasodilatación en las microarterias de la retina de algunos bovinos que fueron despolarizados con una alta concentración de potasio en donde la característica de este tejido es la ausencia de receptores beta.<sup>32</sup>

Así también en un trabajo reciente mencionan que el propanolol en aorta y mesentérica muestra un efecto dilatador por bloqueo de canales de calcio y liberación de óxido nítrico.<sup>33</sup>

Estudios previos en el laboratorio 1 de Farmacobiología del CINVESTAV sede sur en donde se estudiaron compuestos análogos a la molécula de metoprolol 7D1, 7D2, 8D1, 8D2 en rata Wistar anestesiada, demostraron que estos diastereoisómeros disminuyen la frecuencia cardiaca y la presión arterial media por un tiempo breve.<sup>1</sup>

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

---

Posteriormente estos análogos fueron probados en anillos de aorta de rata Wistar obteniéndose como posible mecanismo de acción liberación de óxido nítrico y bloqueo de canales de calcio.<sup>2</sup>

Debido a que los beta bloqueadores no reducen la presión arterial en pacientes normotensos se decidió probar estos análogos del Metoprolol en ratas espontáneamente hipertensas las cuales son un buen modelo de experimentación ya que desarrollan una hipertensión arterial genética muy similar a la hipertensión arterial esencial en el humano.

Por lo mencionado anteriormente y los resultados obtenidos se cree que la estructura química de los beta bloqueadores producen un efecto vasodilatador alterno, ya que al adicionar un grupo hidroxilo lo cual genera otro centro estereogénico dentro del Metoprolol hace que el efecto beta sea eliminado y predomine el efecto vasodilatador por bloqueo de canales de calcio y liberación de óxido nítrico por lo tanto el efecto en el decremento de presión arterial sistólica y frecuencia cardiaca se debe a estos mecanismos.

Posiblemente este predominando el bloqueo de los canales de calcio como mecanismo de acción en los análogos ya que esta reportado que en ratas SHR anestesiadas, a la cual se le administró por vía intravenosa un donador de óxido nítrico como el nitroprusiato de sodio y posterior nifedipino, observaron un bloqueo del efecto de los donadores de óxido nítrico.<sup>34</sup>

Por otra parte los análogos que resultaron más activos fueron 7D1 y 8D2 los cuales tiene una configuración R en el alcohol secundario diferente al eutómero del Metoprolol que tiene la configuración S. Cabe mencionar que en algunos trabajos han encontrado que el isómero R-Metoprolol, después de 12 minutos de la administración, muestra una concentración plasmática máxima, también reportan que el tiempo de vida media es más prolongada y se

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

---

metabolizado preferentemente con respecto al S- MET. Aun que no hay nada reportado sobre la actividad farmacológica del R - Metoprolol, posiblemente tenga relación con los mecanismos alternos en disminución de la presión arterial por bloqueo de canales de calcio y liberación de óxido nítrico.

El Metoprolol se elimina por metabolismo hepático incluyendo reacciones de  $\alpha$  hidroxilación y o-dealquilación seguida de una oxidación formándose el metabolito ácido del Metoprolol el cual representa 65% de la dosis administrada mientras que el  $\alpha$  – hidroximetoprolol representa solo el 10%.

Puesto que se conocen los metabolitos del Metoprolol y que su metabolismo se realiza en el extremo opuesto en donde se hizo la adición del segundo centro estereogénico en los análogos, es posible que el 7D1 y 8D2 formen el metabolito ácido el cual junto con el metabolismo saturable, estén prolongando el efecto antihipertensivo.

Hay un efecto irregular en la frecuencia cardiaca, no se observa un efecto de tipo dosis-respuesta esto puede deberse a que los procesos contráctiles del músculo cardiaco son dependientes del movimiento del calcio extracelular y puesto que los análogos tiene un posible mecanismo de acción por bloqueo de canales de calcio, disminuyen la presión arterial y como mecanismo reflejo haya un aumento de la frecuencia cardiaca y ambos mecanismos estén interaccionando.

Al administrar el fármaco por vía intravenosa hay un efecto bradicárdico e hipotensor dependiente de la dosis, pero de corta duración, esto puede deberse a la formación de un metabolito activo que esta dando la prolongación del efecto en la vía oral, mientras que en la vía intravenosa no es suficiente la cantidad de metabolito que se forma puesto que por esta vía, el fármaco llega directamente a la circulación general y solo una parte de la dosis pasa por la vena porta y llega al

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

---

hígado donde una concentración baja del fármaco se metaboliza pero predomina el fármaco original.

Mientras que por la vía oral, el fármaco es absorbido y metabolizado por el efecto del primer paso y posteriormente se dirige hacia la circulación general por lo que hay una mayor concentración de metabolito que del fármaco original.

### 11. CONCLUSIONES

- Debido a los resultados obtenidos podemos decir que los análogos tiene efecto administrándolos por vía oral
- En forma aguda los análogos del Metoprolol 7D1, 7D2, 8D1, 8D2, por vía oral indujeron un efecto antihipertensivo dependiente de la dosis.
- Los análogos 8D2 Y 7D1 resultaron los más activos posiblemente por su configuración R en el alcohol secundario de la cadena alifática contrario al Metoprolol y a lo que se había planteado como hipótesis, esto puede ser debido al impacto de la adición del segundo centro estereogénico.
- El efecto producido por los análogos sobre la presión arterial se mantiene de 8 – 24 hrs. dependiendo de la dosis esto puede ser explicado por la posible formación de un metabolito activo que contribuye con el efecto farmacológico.
- Los resultados obtenidos sobre la frecuencia cardiaca después de administrarse los análogos por vía oral muestran un efecto bradicárdico con un comportamiento irregular no de tipo dosis - respuesta.
- En la administración por vía intravenosa en rata SHR anestesiada el efecto antihipertensivo tiene una duración muy corta, esto puede deberse a que el fármaco llega directamente a la circulación general y por lo tanto la cantidad de metabolito formado es mínimo y hay una mayor concentración del fármaco original.

### **PERSPECTIVAS**

- Partiendo de que se conocen los metabolitos del Metoprolol, donde el metabolito ácido es responsable del 65% de la dosis administrada, se sugiere realizar la síntesis del metabolito ácido de los análogos activos (7D1 y 8D2) y realizarle una caracterización farmacológica con la finalidad de investigar si es el responsable de la actividad farmacológica.

### 13. REFERENCIAS

1. Melgar F, Demare P, Hong E, Rosas M.A, Escalante J, Muñoz-Muñiz O; Juaristi E, Regla I. *Synthesis and Cardiovascular activity of Metoprolol analogues. Bioorg.Med.Chem.Lett.* **2004**; 14 :191-194.
2. Rodríguez J.Licenciatura. Liberación de Oxido Nitrico y Antagonismo de la entrada de Calcio inducida por el  $\pm$  Metoprolol y algunos Análogos de síntesis reciente en Anillos de Aorta de Rata Wistar. *Cinvestav sede sur. Mexico D.F.* **2005**
3. Tortora G, Grabwsky S. *Principios de anatomía y fisiología.* 9<sup>a</sup> ed. Oxford University Press. Mexico D.F. **2002**: 686-700
4. Alcasena MS, Martinez J, Romero J. Hipertensión arterial sistémica: Fisiopatología. *ANALES.* **1998**; 21: 7-18.
5. Merida A, Hernández F; Hernández H. *Regulación normal de la presión arterial sistémica.* Revista Mexicana de Cardiología. **2004**; 15(1): 30-41
6. Carey R, Wang Z, Siragy H. Role of Angiotensin Type 2 in the Regulation of Blood Pressure and Renal Funtion. *Hypertension.* **2005**;35 (part 2): 155-163
7. Ito M, Oliverio M, Mannon P, Best C, Maeda N, Smithies O, Coffman T. Regulation of Blood pressure by the type 1A Angiotensin II receptor gene. *Proc. Natl.Acad.Sci. USA.* **1995**: 3521-3525
8. Vries R, Saxena P, Schalekamp M, Danser A. Vasoconstriction by in situ formed angiotensin II: role of ACE and Chymase. *Cardiovascular Research.* **1999**; 44: 407-415

## REFERENCIAS

---

9. Gayton A, Hall J. *Tratados de fisiología medica*. 9<sup>a</sup> ed. Editorial Mc Graw-Hill. USA **1997**:220-256
10. Rang P, Dale M, Ritter J, Gardner P. *Farmacology*. 4<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone USA **2000**: 213-215
11. Vanhoutte, P. Endothelium and control of vascular function. *Hypertension*. **1989**, June :13(6) part 2, 658-667.
12. Stankevicius E, Kevelaitis E, Vainorius E. Simonsen U. Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors. *Medicina* **2003**;39 (4):333-341
13. Vanhoutte PM. Endothelial Control of Vasomotor Function from Health to Coronary Disease. *Circ J* **2003**;67:572-575
14. Bunting S, Gryglewski RJ, Moncada S, Vane JR: Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin X) which relaxes strips of mesenteric and celiac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins* **1976**; 12: 897-913.
15. Moncada S, Gryglewski RJ, Bunting S, Vane JR. A lipid peroxide inhibits the enzyme in blood vessel microsomes that generates from prostaglandin endoperoxides the substance (prostaglandin X) which prevents platelet aggregation. *Prostaglandins*. **1976**;12(5):715-37
16. William B. Campbell, Gauthier K. What is new in endothelium-derived hyperpolarizing factors?. *Current opinion in Nephrology and Hypertension*. **2002**; 11:177-183

## REFERENCIAS

---

---

17. Bryan R, Golding E, Marrellin S. Endothelium- derived Hyperpolarizing Factor. *Anesthesiology*. **2005**; 102:1261-1277
18. Hecker M. Endothelium- Derived Hyperpolarizing Factor Fact or Fiction?. *New Physiol.Sci*. **2000**, Feb.15, 1-5
19. Corchado M. *Panorama epidemiológico de la hipertensión arterial en México*. Archivos de Cardiología de México. **2001**;71 (supl. 1):192 -197
20. National High Blood Pressure Education Program. The seventh report of the Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. **2003**.
21. Page C, Curtis M, Sutter M, Hoffman. *Farmacología Integral*. Edit.Har Court Brace. España **1998**: 178-188
22. Centeno J, Alfaro S. Aspectos genéticos de la hipertensión arterial. *Revista Medica del Hospital General*.**2003**; 66 (4): 218 – 223
23. Doering C and Zamponi G. Molecular Pharmacology of High Voltage- Activated Calcium – Channels. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. **2003**;6:491-505
24. Hardman J, Limbird I, Molinoff P, Ruddon R y Goodman A. Goodman & Gilman`s. *The pharmacological basic of therapeutics*. 9<sup>th</sup> edition. Mc Graw Hill. E.U.A. **1996**: 238-241, 780-781
25. Velazco A, Lorenzo P, Serrano J y Andrés -Trelles F. *Velásquez Farmacología*. 16<sup>a</sup> edición. Internacional- Mc Graw Hill, España. **1993**:11-19

## REFERENCIAS

---

26. Bolli P, Fernandez P, Buhler F. *Beta- Blockers in the Treatment of Hipertensión*. edited by J.H. Laragh and B.M. Brenner. Raven Press. New York **1990**: 2181-2203
27. Mehvar R, Brocks D. Stereospecific Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Beta Adrenergic Blockers in Humans. *J Pharmaceutic Sci.* **2001**; 4(2):185 – 200
28. Velasco, M; Romero, B; Betancourt, M; Suarez, N; Contreras, F. Uso de los antagonistas Beta-Adrenérgicos en la Hipertensión Arterial. *AVFT*. Julio 2, **2002**
29. Cerqueira, P; Cesarino, E, Mateus, F; Mere, Y; Silva, R; Lanchote, V. Enantioselectivity in the steady-state pharmacokinetics of Metoprolol in Hypertensive patients. *Chirality.* **1999**. 591-597
30. Agrawal Y, Patel R. Chiral chromatographic separation of  $\beta$ - blockers. *Journal of Chromatography B.* **2005**; 820: 23-31
31. Prichard B N C. Hypotensive action of pronethalol. *Brit. M. j.* **1964**;1:1227
32. Rokutanda M., Araki S., Sakanashi M. *A Pharmacological Investigation on Possible Calcium Antagonistic Action of Propranolol.* Arch.int. Pharmacodyn. 262(**1983**) 99-108
33. Priviero FB, Teixeira CE, Toque HA, Claudino MA, Webb RC, De Nucci G, Zanesco A, Antunes E. Vasorelaxing effects of propranolol in rat aorta and mesenteric artery: a role for nitric oxide and calcium entry blockade. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **2006** May-Jun;33(5-6):448-55

## REFERENCIAS

---

34. Lewis S, Bhopatkar M, Walton T, Bates J. Role of voltage – sensitive calcium Channels in nitric oxide – mediated Vasodilatation in spontaneously Hypertensive rats. *European Journal of pharmacology*.**2005**; 528: 144-149
35. Mystry B, Leslie J, Eddington N. Influence of Input Rate on the Stereospecific and Nonstereospecific First Pass Metabolism and Pharmacokinetics of Metoprolol Extended Release Formulations *Chirality*. **2002**; 14: 297-304