



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUATITLAN

"DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS  
TIMORFOLINICOS LQM318, LQM319, LQM320 Y  
LQM322 Y DEL COMPUESTO MORFOLINICO LQM301 EN  
AORTA TORACICA Y ABDOMINAL DE RATA WISTAR  
NORMOTENSA."

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA  
P R E S E N T A  
ITZEL FABIANA GUTIÉRREZ ROJO

ASESOR: DRA. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR  
COASESORES: DR. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO  
Q.F.B. JAZMÍN FLORES MONROY

CUATITLAN IZCALLI, EDO. MEX

2007.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
PRESENTE

DEPARTAMENTO DE  
EXAMENES PROFESIONALES

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

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

"Determinación del Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320 y LQM322 y del Compuesto Morfolínico LQM301 en aorta torácica y Abdominal de rata Wistar normotensa".

que presenta la pasante: Itzel Fabiana Gutiérrez Rojo  
con número de cuenta: 09626698-8 para obtener el título de :  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 3 de octubre de 2007

|                  |  |  |
|------------------|--|--|
| PRESIDENTE       | <u>M.C. Soledad Carreto García</u>       |  |
| VOCAL            | <u>Dra. Luisa Martínez Aguilar</u>       |  |
| SECRETARIO       | <u>MVZ. Jorge Torres Martínez</u>        |  |
| PRIMER SUPLENTE  | <u>QFB. Martha Patricia Zúñiga Cruz</u>  |  |
| SEGUNDO SUPLENTE | <u>MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy</u> |  |

## GRACIAS A LA VIDA

Gracias a la vida que me ha dado tanto.

Me dio dos luceros que, cuando los abro,

perfecto distingo lo negro del blanco,

y en el alto cielo su fondo estrellado

y en las multitudes el hombre que yo amo.

Gracias a la vida que me ha dado tanto.

Me ha dado el oído que, en todo su ancho,

graba noche y día grillos y canarios;

martillos, turbinas, ladridos, chubascos,

y la voz tan tierna de mí bien amado.

Gracias a la vida que me ha dado tanto.

Me ha dado el sonido y el abecedario,

con él las palabras que pienso y declaro:

madre, amigo, hermano y luz alumbrando

la ruta del alma del que estoy amando.

Gracias a la vida que me ha dado tanto.

Me ha dado la marcha de mis pies cansados;

con ellos anduve ciudades y charcos,

playas y desiertos, montañas y llanos,

y la casa tuya, tu calle y tu patio.

Gracias a la vida que me ha dado tanto.

Me dio el corazón que agita su marco

cuando miro el fruto del cerebro humano;

cuando miro el bueno tan lejos del malo,  
cuando miro el fondo de tus ojos claros.  
Gracias a la vida que me ha dado tanto.  
Me ha dado la risa y me ha dado el llanto.  
Así yo distingo dicha de quebranto,  
los dos materiales que forman mi canto,  
y el canto de ustedes que es el mismo canto  
y el canto de todos, que es mi propio canto.  
Gracias a la vida que me ha dado tanto.

*Violeta Parra*

### *Dedicatorias:*

Nuestra vida está unida a la de los demás, por lo tanto nuestras acciones, no sólo nos afectan directamente a nosotros mismos como consecuencia, causa y efecto, sí no también a las personas que nos rodean. Mi vida siempre ha estado ligada a personas indescriptibles que saben realmente lo que soy, como soy y aún así siguen a mi lado.

Pensé que escribir esto sería muy fácil y sin embargo hoy...cuando trato de hacerlo ya no me parece que lo sea, ¿cómo decirles lo que siento y que puedan sentirlo también? ¿cómo perder el temor de dejar a alguien sin nombrar? ¿cómo explicar en unas cuantas palabras lo importante y especial que son cada uno de ustedes?

A mi mamá y mi papá, por que sé que han hecho todo lo que ha estado en sus manos para sacarnos adelante a mí y a mis hermanos, por darme la vida, un hogar, protección, su apoyo y mucho amor, por siempre preocuparse por mí, por cuidarme y enseñarme el valor de la familia.

A Sandy y Anahí, por ser dos personas maravillosas y únicas, por ser cómplices, confidentes y más que hermanas, mejores amigas. Por las mañanas de café y chisme y las tardes de palomitas y refresco. Por que aún con lo diferente que somos hemos logrado convivir, por que al pasar de los años nuestro lazo se ha hecho más fuerte (e irrompible). Por que pocas personas pueden presumir de una bella relación con sus hermanas y afortunadamente yo soy una de esas personas. No tengo palabras para describir lo importante de su presencia en mi vida.

A mis hermanos, Beto y René, y a mi cuñado Pablito por el tiempo que me dedicaron cuando era niña y por el que compartimos en el presente, por que aunque no platicamos tan seguido sé que cuando los necesito están ahí, y les interesa lo que pasa conmigo.

A Quetzy, al Negro, Are, Mickey, Ala, Yoyis y Ari, por que los he visto crecer y los quiero (aunque son los niños más loquitos que conozco), por dejarme estar a su lado, por que con sus ocurrencias y sonrisas han llenado mi vida y lo siguen haciendo. Por que sé que puedo sentirme orgullosa de ustedes.

A Camenchita por ser una mujer admirable al nunca rendirse, siempre mirar hacia adelante, por superar tantas pruebas y luchar por los suyos, por ser la piedra angular de ésta familia y ejemplo de valor, fortaleza, superación y amor.

A Humberto René, por ser mi hermanito y el ejemplo más tangible de luchar y perseguir tus sueños sin rendirse no importa lo lejos que se encuentren.

A Chio y Becky, por ser mis tías buena onda, con las que se puede hablar, reír y en quienes se puede confiar. A toda mi familia, a mis tíos, tías, primos y por supuesto a Ivonne, Salo, Shanty, Gely, Shanik, Dejanira, Dul y Brenda mis compañeros en la niñez.

A mis amigos de la prepa a cada uno del Hank, por las incansables tardes y las maravillosas noches en las canchas, a los que por circunstancias ajenas a nosotros mismos, se alejaron y a los que siguen ahí: Juan Manuel (Barrio), Omar (Fuma), Eduardo (K-dna), a Canek, a Nefta y Belí (mis compadres), por 10 años de amistad y los que faltan.

A Be, porque además de ser mi comadre (y promotora) es mi mejor amiga, por compartir y guardar los secretos, por las tardes de Go y Chucho's, y las fiestas en su casa.

A Juan Manuel por estar ahí cuando me sentía mal, y porque al simplemente desaparecer de mi vida dejó el más bello recuerdo de su amistad, un vacío y la esperanza en su vuelta.

A mis amigos de la Universidad, a Rosita, Rosa, Iván, Luciano, José Luis, Carlitos, Sara, Pedro y Fer, por los días de clase, los viernes de ludoteca y los de fiesta, porque solo ellos entienden las noches sin dormir, lo eterno de los días de clase, las ganas de salir corriendo, en fin todos los esfuerzos, frustraciones y alegrías de ésta carrera que elegimos.

A Rosita por escucharme y entenderme cuando pensé que nadie lo haría, por que pensé que no encontraría otra amiga y sin embargo ella está a mi lado.

Y a los amigos que he conocido relativamente hace poco tiempo y que sin embargo me han demostrado que puedo confiar en ellos, a Diego, Omar (Negro), Francisco (Panchirris), Gabriel (Chino), Enrique, José, Efraín, Jesús y Vic, por todos los momentos agradables y los que no lo han sido tanto, por los días felices que hemos pasado y los que están por venir.

A la Dra. Luísa Martínez y Q.F.B. Jazmín Flores, por su apoyo, ayuda, comprensión en todo momento, por confiar en mi capacidad, por mostrarme el maravilloso mundo de la investigación, pero sobre todo por brindarme su amistad.

A Silvia, Ely y Tamara, por hacer más amenas las horas de trabajo en el laboratorio durante el desarrollo experimental de este proyecto, y por dejarme conocerlas.

Al amor de mi vida que se fue y al que está por venir.

Quisiera que realmente con lo que han leído pudiera hacerles sentir lo que cada uno de ustedes significa para mí: por su ejemplo de superación incansable, por su comprensión y confianza, por su amor y amistad incondicional, porque sin su apoyo no hubiera sido posible la culminación de mi carrera profesional.

Por lo que ha sido y será... gracias.

Hoy agradezco a Dios haberlos traído a mi vida. Y deseo que su vida esté llena de alegría y amor.

Que Dios los bendiga a todos.

Los amo.

|tzel



## *Agradecimientos:*

A la UNAM por darme educación y la oportunidad de conocer a personas maravillosas.

A la FESC y a todos los maestros que compartieron su conocimiento conmigo.

Por aportar su punto de vista y hacer las correcciones necesarias a ésta tesis, al jurado:

MC. Soledad Carreto García.

Dra. Luisa Martínez Aguilar.

MVZ. Jorge Torres Martínez.

MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy.

QFB. Martha Patricia Zúñiga Cruz.

A DGAPA-UNAM mediante los proyectos PAPIIT IN 207705, PAPIME EN 201004 y CÁTEDRA IN-17, por el apoyo proporcionado.

Al Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM y al Bioterio del CINVESTAV del IPN.

|  |           |
|--|-----------|
| <b>ÍNDICE</b>  | <b>I</b>  |
| <b>ABREVIATURAS</b>  | <b>IV</b> |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>                                     | <b>VI</b> |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS</b>                                      | <b>IX</b> |
| <b>RESUMEN</b>   | <b>X</b>  |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b>                                       | <b>1</b>  |
| <b>2. OBJETIVO GENERAL</b>                                   | <b>3</b>  |
| <b>2.1. Objetivos Particulares</b>                           | <b>3</b>  |
| <b>3. HIPÓTESIS</b>  | <b>4</b>  |
| <b>4. MARCO TEÓRICO</b>                                      | <b>5</b>  |
| <b>4.1. Búsqueda y Diseño de Nuevos Fármacos</b>             | <b>5</b>  |
| 4.1.1. Étapas del Desarrollo de un Fármaco                   | <b>5</b>  |
| <b>4.2. Compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos</b>        | <b>6</b>  |
| <b>4.3. Sistema Cardiovascular</b>                           | <b>9</b>  |
| 4.3.1. Anatomía y función                                    | <b>10</b> |
| 4.3.2. Corazón   | <b>10</b> |
| 4.3.3. Vasos Sanguíneos                                      | <b>11</b> |
| <b>4.4. Aorta</b>  | <b>14</b> |
| 4.4.1. Anatomía y función                                    | <b>14</b> |
| 4.4.2. Partes de la Aorta                                    | <b>14</b> |
| 4.4.3. Características de la Aorta                           | <b>15</b> |
| 4.4.3.1. Elementos de la Pared Vascular                      | <b>15</b> |
| <b>4.5. Receptores Farmacológicos y Farmacodinamia</b>       | <b>16</b> |
| 4.5.1. Definición y Función de los Receptores Farmacológicos | <b>16</b> |
| 4.5.2. Interacciones Fármaco-Receptor                        | <b>17</b> |
| 4.5.2.1. Agonistas y Antagonistas                            | <b>19</b> |
| 4.5.3. Tipos de Receptores                                   | <b>20</b> |
| 4.5.4. Receptores Acoplados a Proteínas G (RAPG)             | <b>20</b> |
| 4.5.4.1. Proteínas G   | <b>21</b> |
| 4.5.4.2. Dianas para las Proteínas G                         | <b>22</b> |
| 4.5.5. Clasificación de Receptores                           | <b>22</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.5.6.   |           |
| <b>4.6. Aspectos Cuantitativos de la Acción Farmacológica</b>  | <b>22</b> |
| 4.6.1. Relación Dosis-Respuesta  | 22        |
| 4.6.2. Curvas Dosis-Respuesta  | 23        |
| 4.6.3. Gráfica Doble Recíproca y $K_D$   | 24        |
| <b>4.7. Receptores Adrenérgicos</b>  | <b>27</b> |
| 4.7.1. Definición de Receptores Adrenérgicos   | 27        |
| 4.7.2. Receptores adrenérgicos- $\alpha_1$   | 27        |
| 4.7.3. Sitios de distribución de los receptores adrenérgicos   | 27        |
| 4.7.4. Respuesta Adrenérgica- $\alpha_1$ sobre aorta y Vía de Señalización   | 28        |
| 4.7.5. Vía de Señalización de la Interacción Fenilefrina-Receptor<br>Adrenérgico- $\alpha_1$   | 28        |
| <b>5. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>  | <b>30</b> |
| 5.1. Material Biológico  | 30        |
| 5.2. Material  | 30        |
| 5.3. Equipo  | 30        |
| 5.4. Soluciones  | 30        |
| 5.5. Metodología   | 31        |
| <b>6. RESULTADOS</b>   | <b>34</b> |
| 6.1. Determinación del Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos<br>LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301<br>sobre la respuesta a fenilefrina en aorta torácica de rata<br>Wistar normotensa      | 35        |
| 6.2. Determinación del Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos<br>LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301<br>sobre la respuesta a fenilefrina en aorta abdominal de rata<br>Wistar normotensa     | 40        |
| 6.3. Determinación del % de Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos<br>LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301<br>sobre la respuesta a fenilefrina en aorta torácica de rata<br>Wistar normotensa | 45        |

|  |    |
|--|----|
| 6.4. Determinación del % de Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta a fenilefrina en aorta abdominal de rata Wistar normotensa | 48 |
| 6.5. Determinación de $K_D$ de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 por el Método Doble Recíproca en aorta torácica de rata Wistar normotensa            | 51 |
| 6.6. Determinación de $K_D$ de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 por el Método Doble Recíproca en aorta abdominal de rata Wistar normotensa           | 51 |
| 6.7. Determinación del Efecto Máximo ( $E_{máx}$ ) y la Concentración Efectiva 50 ( $CE_{50}$ ) para aorta torácica y abdominal  | 52 |
| 7. ANÁLISIS DE RESULTADOS  | 54 |
| 8. CONCLUSIONES  | 59 |
| 9. PERSPECTIVAS  | 60 |
| 10. REFERENCIAS  | 61 |
| ANEXO I  | 64 |
| ANEXO II   | 67 |

## ABREVIATURAS

|                  |                                  |
|------------------|----------------------------------|
| AC               | Antes de Cristo                  |
| ACh              | Acetilcolina                     |
| ACTH             | Hormona Adrenocorticotrópica     |
| ADN              | Ácido Desoxirribonucleíco        |
| AMPc             | Adenosin Monofosfato Cíclico     |
| Ca <sup>2+</sup> | Calcio                           |
| CCLM             | Cadenas Ligeras de la Miosina    |
| cm               | Centímetros                      |
| CO <sub>2</sub>  | Dióxido de Carbono               |
| COOH             | Grupo Carboxilo                  |
| COMT             | Catecol Orto-metiltransferasa    |
| DAG              | Diacilglicerol                   |
| DE <sub>50</sub> | Dosis Efectiva 50                |
| E                | Enzima                           |
| E <sub>máx</sub> | Efecto máximo                    |
| F                | Fármaco                          |
| FR               | Complejo Fármaco-Receptor        |
| g                | Gramos                           |
| GDP              | Guanidildifosfato                |
| GTP              | Guanidiltrifosfato               |
| HTA              | Hipertensión Arterial            |
| IP <sub>3</sub>  | Inositol 1, 4, 5-trifosfato      |
| k <sub>1</sub>   | Constante de Asociación          |
| k <sub>2</sub>   | Constante de Disociación         |
| KD               | Kilodaltons                      |
| K <sub>D</sub>   | Constante de Disociación         |
| μL               | Microlitros                      |
| M                | Molar                            |
| mL               | Mililitros                       |
| mm               | Milímetros                       |
| NH <sub>2</sub>  | Grupo Amino                      |
| O <sub>2</sub>   | Oxígeno                          |
| OMS              | Organización Mundial de la Salud |

|                     |   |
|---------------------|---|
| PIP <sub>2</sub>    | Fosfatidilinositol 4, 5-bifosfato       |
| PLC                 | Fosfolipasa C                           |
| PKC                 | Proteincinasa C                         |
| R                   | Receptor                                |
| RAPG                | Receptores Acoplados a Proteínas G      |
| Resp                | Respuesta o efecto                      |
| Resp <sub>máx</sub> | Respuesta o efecto máximo               |
| SIDA                | Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> División por regiones de la molécula Changrolina   | 7  |
| <b>Figura 2.</b> Reacción química de síntesis de la serie de compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos  | 9  |
| <b>Figura 3.</b> Esquema de la circulación pulmonar y general   | 9  |
| <b>Figura 4A.</b> Sistema Vascular. Localización de venas y arterias en todo el cuerpo  | 11 |
| <b>Figura 4B.</b> Corazón y su anatomía   | 11 |
| <b>Figura 5.</b> Comparación de venas, arterias y capilares   | 12 |
| <b>Figura 6.</b> Unión de arterias y venas, por medio de capilares  | 13 |
| <b>Figura 7A.</b> Localización de la aorta ascendente y descendente.  | 15 |
| <b>Figura 7B.</b> Localización del cayado o arco aórtico y división de la aorta descendente torácica y abdominal  | 15 |
| <b>Figura 8.</b> Elementos de la pared vascular arterial  | 16 |
| <b>Figura 9.</b> Tipos de dianas de la acción de agonistas y antagonistas   | 19 |
| <b>Figura 10.</b> Esquema de los tipos de receptores  | 20 |
| <b>Figura 11.</b> Modelo general de secuencias de aminoácidos en los receptores acoplados a proteínas G   | 21 |
| <b>Figura 12.</b> Curva teórica de logaritmo dosis-respuesta  | 23 |
| <b>Figura 13A.</b> Gráfica de dosis-respuesta lineal  | 24 |
| <b>Figura 13B.</b> Gráfica logaritmo dosis-respuesta de dos fármacos  | 24 |
| <b>Figura 14.</b> Relación lienal entre dosis y respuesta cuando se grafican los recíprocos de la dosis y del efecto  | 25 |
| <b>Figura 15.</b> Comparación de las curvas de respuesta de dos fármacos A y B  | 26 |
| <b>Figura 16.</b> Estructura química de la Fenilefrina  | 29 |
| <b>Figura 17.</b> Vía de señalización de la interacción Fenilefrina-Receptor Adrenérgico  | 29 |
| <b>Figura 18.</b> Esquema de la preparación de anillos aislados de aorta en baño de órgano  | 32 |
| <b>Figura 19A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM301 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa | 35 |
| <b>Figura 19B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM301  | 35 |
| <b>Figura 20A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM318 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa | 36 |
| <b>Figura 20B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM318  | 36 |
| <b>Figura 21A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM319 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa | 37 |
| <b>Figura 21B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM319  | 37 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 22A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM320 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa  | <b>38</b> |
| <b>Figura 22B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM320   | <b>38</b> |
| <b>Figura 23A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM322 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa  | <b>39</b> |
| <b>Figura 23B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM322   | <b>39</b> |
| <b>Figura 24A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM301 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>40</b> |
| <b>Figura 24B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM301   | <b>40</b> |
| <b>Figura 25A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM318 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>41</b> |
| <b>Figura 25B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM318   | <b>41</b> |
| <b>Figura 26A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM319 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>42</b> |
| <b>Figura 26B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM319   | <b>42</b> |
| <b>Figura 27A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM320 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>43</b> |
| <b>Figura 27B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM320   | <b>43</b> |
| <b>Figura 28A.</b> Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM322 en el modelo <i>in vitro</i> de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>44</b> |
| <b>Figura 28B.</b> Gráfica Doble Recíproca de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del LQM322   | <b>44</b> |
| <b>Figura 29.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM301 en aorta torácica de rata Wistar normotensa                          | <b>45</b> |
| <b>Figura 30.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM318 en aorta torácica de rata Wistar normotensa                          | <b>45</b> |
| <b>Figura 31.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM319 en aorta torácica de rata Wistar normotensa                          | <b>46</b> |



|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 32.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM320 en aorta torácica de rata Wistar normotensa  | <b>46</b> |
| <b>Figura 33.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM322 en aorta torácica de rata Wistar normotensa  | <b>47</b> |
| <b>Figura 34.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM301 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>48</b> |
| <b>Figura 35.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM318 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>48</b> |
| <b>Figura 36.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM319 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>49</b> |
| <b>Figura 37.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM320 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>49</b> |
| <b>Figura 38.</b> Curva Concentración- % de efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM322 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa | <b>50</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tabla 1.</b> Estructuras químicas de los compuestos evaluados en aorta torácica y abdominal de rata Wistar normotensa | <b>8</b>  |
| <b>Tabla 2.</b> Tipos de enlace en la unión Fármaco-Receptor   | <b>18</b> |
| <b>Tabla 3.</b> Localización de adrenoreceptores y respuesta a su actividad  | <b>28</b> |
| <b>Tabla 4.</b> Composición de la solución fisiológica de Krebs  | <b>31</b> |
| <b>Tabla 5.</b> Afinidad para aorta torácica en ratas normotensas  | <b>51</b> |
| <b>Tabla 6.</b> Afinidad para aorta abdominal en ratas normotensas   | <b>51</b> |
| <b>Tabla 7.</b> % de $E_{máx}$ para aorta torácica de ratas normotensas  | <b>52</b> |
| <b>Tabla 8.</b> % de $E_{máx}$ para aorta abdominal de ratas normotensas   | <b>52</b> |
| <b>Tabla 10.</b> Concentración Efectiva 50( $CE_{50}$ ) para aorta abdominal de ratas normotensas                        | <b>53</b> |

## RESUMEN

Para analizar la respuesta de un órgano a un fármaco, suelen llevarse a cabo experimentos en tejidos aislados *in vitro* (ya sea aorta de conejo, duodeno de cobayo, aurícula de rata), es decir, fragmentos de órganos mantenidos en condiciones de viabilidad que conservan su capacidad de respuesta, los cuales muestran que la magnitud de las respuestas graduales está en relación con la concentración o dosis de fármaco que se aplique al tejido. Ésta respuesta o efecto se cuantifica mediante la representación de los datos obtenidos en Curvas Concentración-Respuesta y Doble Recíproca, así mismo la determinación de éstas curvas nos ayudan a dilucidar el tipo de respuesta del tejido al fármaco. Sabemos que en el músculo liso arterial, uterino y bronquial, entre otros, se localizan receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , cuya actividad principal es la contracción, la aorta es una arteria importante que posee este tipo de receptores. Para realizar las Curvas Concentración-Respuesta se utiliza fenilefrina que es un agonista directo de los receptores  $\alpha_1$  adrenérgicos, lo que significa que al formarse el complejo fármaco-receptor (fenilefrina-receptor  $\alpha_1$  adrenérgico), esto dará como consecuencia final la contracción del músculo liso vascular.

A la hipertensión arterial se le conoce como “el asesino silencioso”, ya que durante la mayor parte de su historia natural no presenta síntomas; y cuando estos se presentan, puede ser demasiado tarde, ya que corresponden a graves complicaciones cardiovasculares, como el infarto al miocardio y la enfermedad cerebrovascular. La prevalencia nacional en la población entre 20 y 69 años es del 30%. Se calcula que el 61% de los individuos hipertensos ignoran que lo son, y sólo el 19.2% se encuentra controlado. Es importante asentar que la hipertensión en nuestra población afecta no sólo al adulto mayor, sino también a la población de menor edad (menos de 54 años).<sup>2,3</sup>

En la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores “Cuautitlán” Campo-1 en el laboratorio de Química Medicinal se logró sintetizar una serie de compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos, con clave LQM301, LQM318, LQM319, LQM320, LQM322, los cuales, en este trabajo, han sido sometidos a estudios de actividad biológica dentro del Laboratorio de Farmacología del Miocardio, a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar, de la misma entidad académica, esperando que estos compuestos interactúen con el receptor adrenérgico y la respuesta sea modificada, encontrándose que los compuestos 301, 320 y 319 muestran una respuesta hipotensora, mientras que el 318 no posee actividad alguna al ser probados en el modelo *in vitro* de baño de órgano, cual constituye un gran logro dentro de la investigación científica dentro de la Universidad.

## 1. INTRODUCCIÓN.

Las grandes epidemias del pasado y algunas contemporáneas, como el SIDA, fueron y son causadas por agentes infecciosos bacterianos, parasitarios o virales, con un modelo biológico relativamente simple que comprende al agente causal, al huésped susceptible y la forma de contagio o transmisión particular, por lo tanto, si se conoce la naturaleza biológica es posible establecer su prevención, control y tratamiento.<sup>1</sup>

Sin embargo, algunas epidemias más recientes, no son de naturaleza infecciosa, sino enfermedades crónico-degenerativas (tales como la *diabetes mellitus*, aterosclerosis e hipertensión arterial, entre otras). México vive una transición epidemiológica, con coexistencia de enfermedades infecciosas y crónico-degenerativas. La mortalidad por enfermedad cardiovascular representa el 26%, pero podría aumentar, debido a que los factores de riesgo van en ascenso. El envejecimiento poblacional, bajo nivel socioeconómico, sedentarismo, obesidad, alcoholismo y tabaquismo, condicionan una alta prevalencia de hipertensión arterial.<sup>1,2</sup>

A la hipertensión arterial se le conoce como “el asesino silencioso”, ya que durante la mayor parte de su historia natural no presenta síntomas; y cuando estos se presentan, puede ser demasiado tarde, ya que corresponden a graves complicaciones cardiovasculares, como el infarto al miocardio y la enfermedad cerebrovascular. La prevalencia nacional en la población entre 20 y 69 años es del 30%. Se calcula que el 61% de los individuos hipertensos ignoran que lo son, y sólo el 19.2% se encuentra controlado. Es importante asentar que la hipertensión en nuestra población afecta no sólo al adulto mayor, sino también a la población de menor edad (menos de 54 años).<sup>2,3</sup>

Es así que la vida y el cuidado de ella han conducido al diseño y desarrollo de nuevos fármacos, además de técnicas especiales para el estudio de la eficacia, seguridad y de la relación riesgo-beneficio de cada medicamento. La investigación médica y farmacéutica, los equipos multidisciplinarios, la tecnología computarizada y la práctica institucional se han vuelto fundamentales para este fin. El desarrollo de un nuevo fármaco, representa la culminación de muchos años de esfuerzo realizado por un equipo multidisciplinario. Es el terreno de prueba en el que fructifican la inteligencia, la creatividad y la perseverancia de los investigadores.<sup>4</sup>

En la Universidad Nacional Autónoma de México la investigación constituye una de las tareas fundamentales del quehacer académico, la Facultad de Estudios Superiores “Cuautitlán” no es la excepción, y es por eso que el Laboratorio de Química Medicinal en coordinación con el Laboratorio de Farmacología del Miocardio, han desarrollado una línea de investigación orientada a la síntesis y valoración biológica de nuevos compuestos que posean un efecto antihipertensivo.

Es por ésta razón, que en el presente trabajo se evaluó el efecto de compuestos de la serie LQM300's, los cuales fueron sintetizados en el Laboratorio de Química Medicinal, a cargo del Dr. Enrique Ángeles Anguiano. Se caracterizó el efecto de estos compuestos sobre el sistema adrenérgico  $\alpha_1$  en aorta abdominal y torácica de rata Wistar normotensa, esto en el laboratorio de Farmacología del Miocardio del cual es responsable la Dra. Luisa Martínez Aguilar.

Es necesario resaltar la importancia de la investigación multidisciplinaria que se lleva a cabo dentro de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, y hacer notar que no se concibe un proyecto que empieza con el desarrollo en un área, como en este caso sería el diseño y síntesis en el Laboratorio de Química Medicinal sin el apoyo de otras áreas como Morfofisiología, Bioquímica, Farmacología, Toxicología, Estadística, cuyo fin es la comprensión y valoración de la actividad biológica producida por un nuevo fármaco. Así mismo ocurre en el transcurso de la carrera donde no se puede tener el conocimiento solo en una materia, si no que tiene un papel fundamental poder integrar el conocimiento adquirido en todas las materias de los semestres cursados.

## 2. OBJETIVO GENERAL

Realizar las Curvas Dosis-Respuesta y Doble Recíproca a fenilefrina en ausencia y presencia de los compuestos LQM301, LQM318, LQM319, LQM320 y LQM322, mediante un modelo *in vitro* de órgano aislado de aorta torácica y abdominal de rata Wistar normotensa para determinar si los compuestos LQM300's, modifican la respuesta de los tejidos a fenilefrina y si esto se debe a que los compuestos interaccionan con los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ .

### 2.1. Objetivos particulares

- Determinar el Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta adrenérgica  $\alpha_1$  en aorta torácica de rata Wistar normotensa, mediante la realización de las Curvas Concentración-Respuesta a Fenilefrina
- Determinar el Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301, sobre la respuesta adrenérgica  $\alpha_1$  en aorta abdominal de rata Wistar normotensa, mediante la realización de las Curvas Concentración-Respuesta a Fenilefrina
- Determinar el % de Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta adrenérgica  $\alpha_1$  en aorta torácica de rata Wistar normotensa, mediante la realización de las Curvas Concentración-% de Efecto a Fenilefrina
- Determinar el % de Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta adrenérgica  $\alpha_1$  en aorta torácica de rata Wistar normotensa, mediante la realización de las Curvas Concentración-% de Efecto a Fenilefrina
- Determinar la constante de afinidad ( $K_D$ ) de la Fenilefrina en ausencia y presencia de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301, por el Método Doble Recíproca en aorta torácica de rata Wistar normotensa
- Determinar la constante de afinidad ( $K_D$ ) de la Fenilefrina en ausencia y presencia de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 por el Método Doble Recíproca en aorta abdominal de rata Wistar normotensa

### **3. HIPÓTESIS**

La Fenilefrina es un agonista directo de los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , lo que significa que al formarse el complejo fármaco-receptor (fenilefrina-receptor adrenérgico  $\alpha_1$ ), esto dará como consecuencia final la contracción del músculo liso vascular, por lo que se espera que si los compuestos LQM301, LQM318, LQM319, LQM320 y LQM322, interactúan con el receptor adrenérgico  $\alpha_1$  de la aorta torácica y abdominal de rata Wistar normotensa, la respuesta será modificada, es decir, la Curva a Fenilefrina se modificará y con ello podríamos obtener un antagonismo o un sinergismo sobre la actividad vasoconstrictora.

## 4. MARCO TEÓRICO

Aunque la utilización de plantas y minerales para restablecer la salud perdida, o modificar la conducta, entre otros, se conoce desde la antigüedad, los medicamentos con el sentido y forma en que los conocemos actualmente son relativamente recientes y, más concretamente, de los últimos 50 años. Desde la tercera centuria AC hasta principios del siglo XX, la mayoría de los principios activos útiles ( morfina, quinina, digitálicos, ergotamina y atropina) eran de origen vegetal, y sus usos terapéuticos se basaban en descubrimientos fortuitos.<sup>4,5</sup>

La historia del descubrimiento de los fármacos se encuentra íntimamente relacionada con el desarrollo de las ciencias experimentales, en general, y de la química orgánica, en particular, al menos hasta los últimos 20 años, en que se produce la explosión de los métodos biológicos. Con el desarrollo de métodos de síntesis, la aparición de técnicas instrumentales que han originado métodos de análisis poderosos, la aplicación de la informática, así como el desarrollo de la biología molecular, se ha podido conocer la estructura de los receptores o se tiene una idea aproximada de los mismos y, en muchos casos, se ha establecido la relación entre la estructura química de un fármaco y su acción biológica. Actualmente, los principios activos útiles derivan de productos naturales, de la síntesis química o de una combinación de ambos por métodos que varían entre el hallazgo fortuito y la síntesis racional.<sup>4,5</sup>

### 4.1. Búsqueda y diseño de nuevos fármacos

La búsqueda de estructuras químicas que muestren actividad biológica es una meta difícil. El diseño de fármacos tiene como objetivos no solo lograr una buena actividad biológica, sino también conseguir el control de su paso a través de membranas y de su transformación en metabolitos no tóxicos. Al diseñar un fármaco es fundamental poder conocer la toxicidad, el modo de acción, el metabolismo, la excreción, la forma farmacéutica así como la relación existente entre el efecto máximo del fármaco y su dosis. Sin embargo, el efecto de un fármaco varía de unos individuos a otros.<sup>5,6</sup>

#### 4.1.1. Étapas del desarrollo de un fármaco

En el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos se suelen distinguir 3 etapas:

- 1) Descubrimiento: Consiste en la identificación, aislamiento y caracterización de una nueva sustancia con actividad biológica, que se suele dominar prototipo o cabeza de serie. Este puede obtenerse mediante síntesis orgánica, a partir de fuentes naturales o mediante biotecnología.<sup>6</sup>
- 2) Optimización: En esta etapa se realizan modificaciones sintéticas del prototipo con objeto de mejorar su potencia y selectividad y disminuir su toxicidad y efectos colaterales. Actualmente hay métodos eficientes para la optimización de la potencia y el perfil



farmacológico que pueden consistir en síntesis de análogos, isómeros, modificación de grupos funcionales o del sistema de anillos de la molécula modelo. También se dispone actualmente de métodos de diseño asistidos por computadora. Una vez que se ha descubierto un nuevo fármaco, porque se ha demostrado una actividad útil en un compuesto, y se ha optimizado este prototipo o “cabeza de serie”, comienza su desarrollo y finaliza la investigación básica.<sup>6</sup>

- 3) Desarrollo: En esta fase se realiza la optimización de la ruta sintética más favorable para la obtención del mejor compuesto diseñado en la etapa anterior. Se modifican también las propiedades farmacocinéticas y farmacéuticas del fármaco para su utilización en clínica.<sup>6</sup>

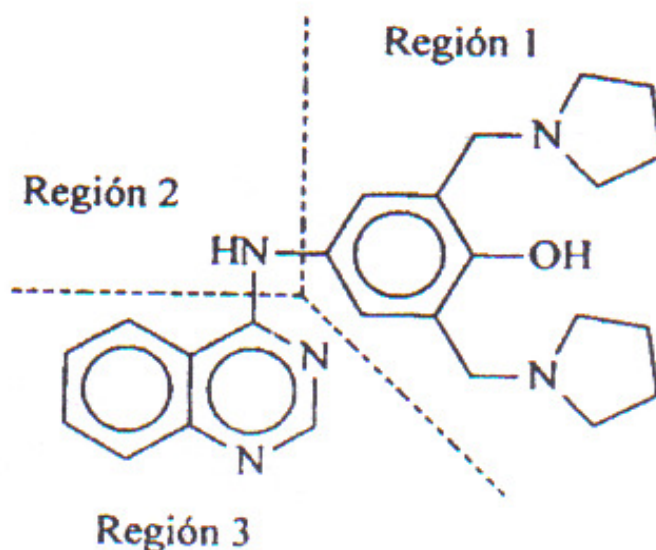
Le sucede una etapa preclínica, en la que el fármaco debe ser rigurosamente sometido a una serie de ensayos biológicos para determinar su eficacia, toxicidad y farmacología. Estos ensayos determinarán el espectro de actividad biológica del nuevo compuesto y ayudarán a aclarar su mecanismo de acción, empleando técnicas para observar, reportar y analizar los efectos primarios y secundarios que podría tener la sustancia en el hombre, las cuales van desde el tratamiento *in vitro* de partículas subcelulares, el uso del tubo de cultivo, tejidos u órganos aislados (para constatar, por ejemplo, el aumento de la contractilidad cardíaca, aumento de tono uterino, entre otros), hasta la administración a animales intactos (para detectar, por ejemplo, alteraciones en el aparato cardiovascular, como hipotensión, alteración de la frecuencia cardíaca, o del sistema nervioso central), para demostrar la hipótesis de que el nuevo compuesto tiene o no utilidad en determinado padecimiento humano. Existen más de 350 modelos que proveen sistemas de funcionamiento en ciertos órganos similares a los humanos.<sup>5, 6, 7</sup>

Si un compuesto presenta una actividad conveniente en un sistema de prueba experimental y demuestra ser inocuo por examen toxicológico, se transforma en candidato para los ensayos clínicos, que se efectúan en la última etapa, la etapa clínica, en la que se distinguen las fases I-IV.<sup>5</sup>

#### **4.2. Compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos**

En el siglo XIX los químicos y farmacéuticos pusieron gran interés en descubrir los principios activos de los extractos vegetales. Actualmente se han hecho importantes descubrimientos en el campo farmacológico y se sigue investigando para descubrir nuevos principios activos que puedan curar enfermedades que aún hoy no tienen tratamiento y para obtener fármacos más activos y menos tóxicos que los ya existentes. Es por este motivo que a finales de los años 70`s, un grupo de investigadores de la República de China, al examinar las propiedades antimaláricas

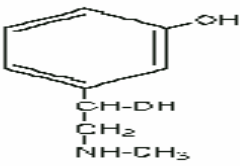
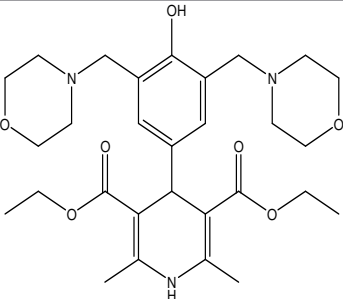
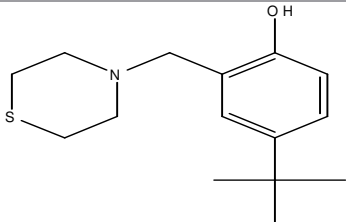
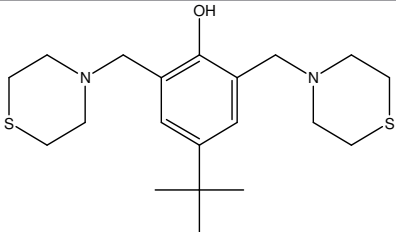
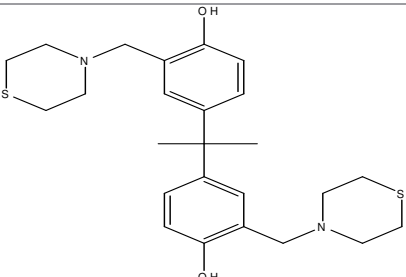
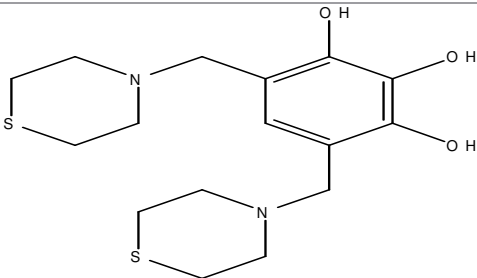
de los derivados de la febrifugina (fármaco alcaloide, aislado de la planta *Dichroa febrifuga*), advirtieron que un compuesto en prueba la Changrolina, era un agente antiarrítmico efectivo, ésta molécula se puede dividir en tres regiones, se identificó a la región 1 como responsable de la actividad antiarrítmica. <sup>8, 9, 10</sup>

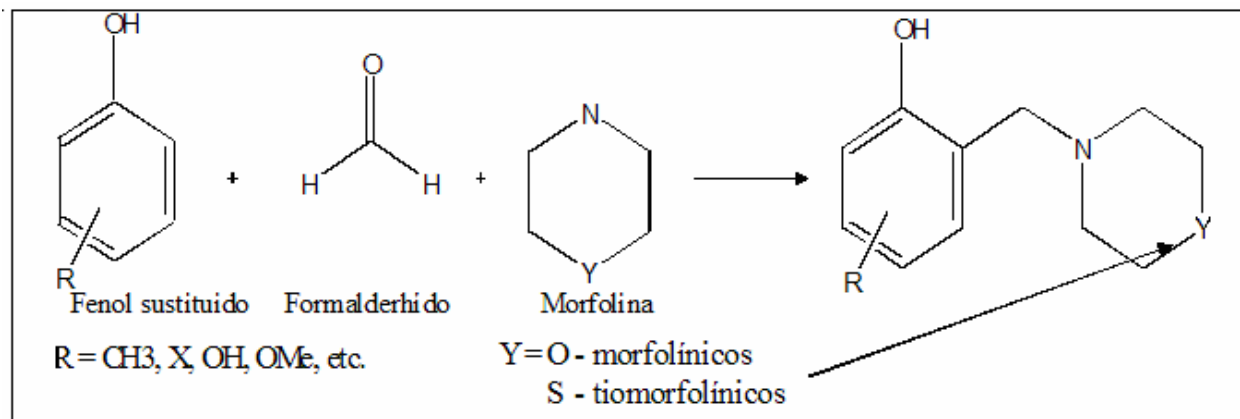


**Figura 1.** División por regiones de la molécula Changrolina

Los mismos investigadores, iniciaron el estudio de relación estructura química-actividad biológica, cambiando los sustituyentes de las regiones 2 y 3 (**Fig 1**), de ésta manera encontraron que los anillos pirrolídnicos podían sustituirse por otros anillos heterocíclicos, como la morfolina y la tiomorfolina. Estos acontecimientos aportaron las bases para que el laboratorio de Química Medicinal de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores “Cuautitlán” Campo-1, iniciara el diseño y síntesis de compuestos mediante la reacción química entre un fenol sustituido, un formaldehído más una molécula de morfolína o tiomorfolína (**Fig 2**), obteniendo así una serie de compuestos Morfolínicos y Tiomorfolínicos, con clave LQM301, LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 (**Tabla 1**), los cuales fueron sometidos a estudios de actividad biológica dentro del Laboratorio de Farmacología del Miocardio, a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar, de la misma entidad académica, encontrándose que estos compuestos derivados del fenol mostraban una respuesta hipotensora, al ser probados en dos modelos *in vivo* (rata Wistar normotensa anestesiada e hipertensa espontánea consciente) lo cual es un gran logro dentro de la investigación científica dentro de la Universidad. <sup>9, 10, 11</sup>

**Tabla 1.** Estructuras químicas de los compuestos evaluados en aorta torácica y abdominal de rata Wistar normotensa

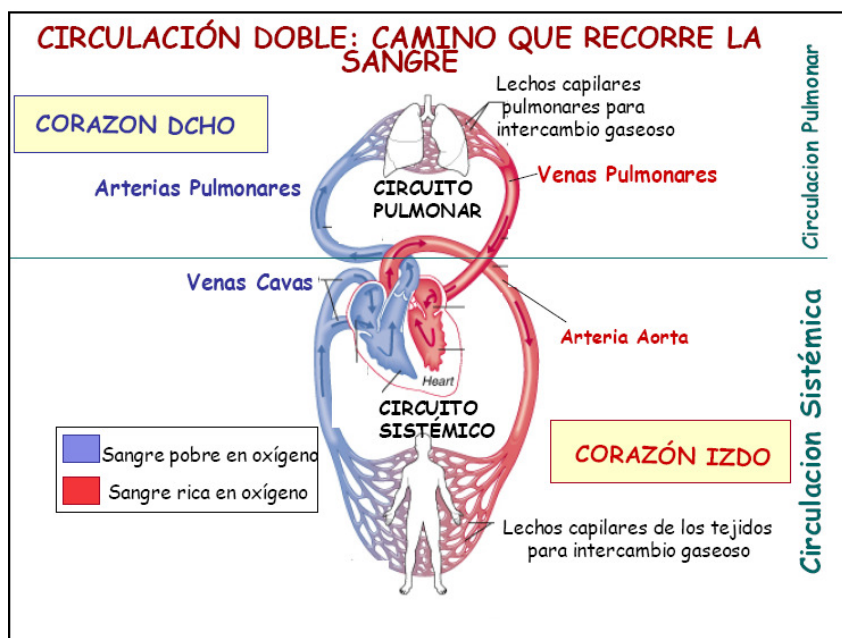
| COMPUESTO   | ESTRUCTURA   |
|-------------|--|
| FENILEFRINA |    |
| LQM301      |    |
| LQM318      |   |
| LQM319      |  |
| LQM320      |  |
| LQM322      |  |



**Figura 2.** Reacción química de síntesis de la serie de compuestos morfolínicos y tiomorfolínicos

### 4.3. Sistema Cardiovascular

El aparato circulatorio se compone de 2 sistemas separados, pero conectados: el sistema vascular sanguíneo (cardiovascular), que transporta sangre, y el sistema vascular linfático (compuesto por capilares y vasos linfáticos), que recolecta y regresa el exceso de líquido extracelular (linfa) al sistema vascular sanguíneo.<sup>11, 12, 15</sup>



**Figura 3.** Esquema de la circulación pulmonar y general<sup>15</sup>

#### 4.3.1. Anatomía y Función

El sistema cardiovascular, está compuesto por el corazón, los vasos sanguíneos, que incluyen arterias, venas y capilares. (**Fig 4A**). Los dos circuitos básicos del flujo sanguíneo son: la **circulación pulmonar** que lleva la sangre pobre en oxígeno hasta los pulmones, donde se oxigena, y la regresa a la mitad izquierda del corazón y la **circulación sistémica o general**, que envía sangre rica en oxígeno del corazón a todas las demás partes de nuestro cuerpo, para regresar a la mitad derecha del corazón. En el corazón no hay mezcla de sangre oxigenada y no oxigenada, concretamente la sangre oxigenada pasa por la parte izquierda del corazón y la no oxigenada pasa por la parte derecha (**Fig 3**).<sup>11, 12, 13, 14, 15</sup>

#### 4.3.2. Corazón

El corazón presenta (**Figura 4B**):

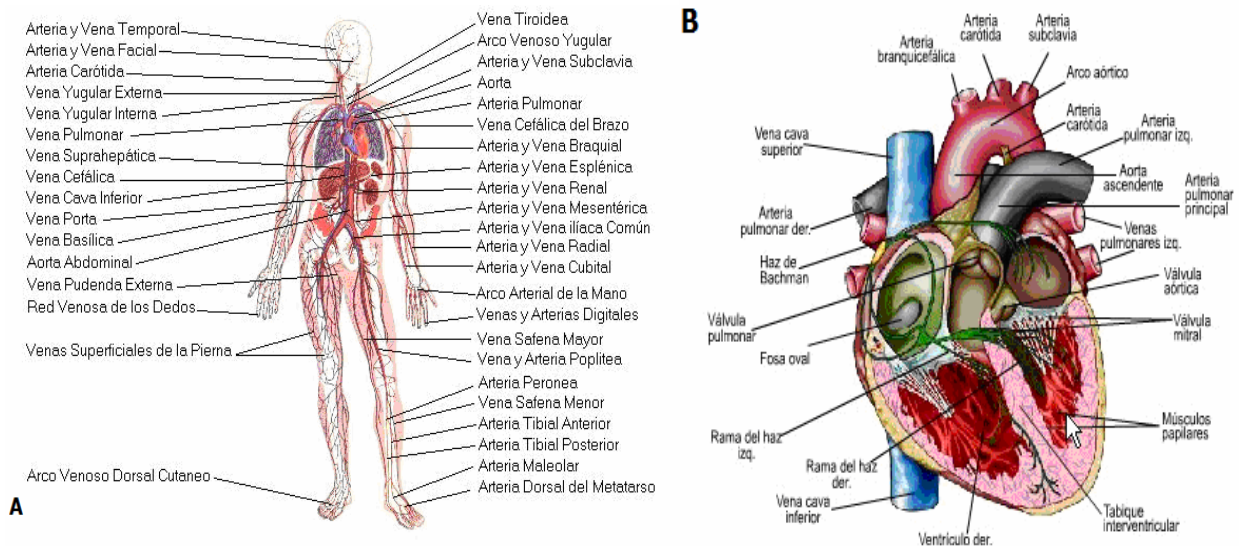
- **2 aurículas** que reciben la sangre
- **2 ventrículos** que expulsan sangre
- **Válvula mitral** que se encuentra entre la aurícula izquierda y el ventrículo izquierdo y se encarga de regular el paso de la sangre
- **Válvula tricúspide** ubicada entre la aurícula derecha y el ventrículo derecho

El corazón funciona como una bomba, para lo cual realiza movimientos de relajación (**diástoles**) seguidos de movimientos de contracción (**sístoles**). El **ciclo cardíaco** (latido) dura 0.8 segundos y presenta las siguientes etapas:

- **Diástole ventricular.** Es cuando los ventrículos se relajan. Durante la diástole ventricular, la presión de los ventrículos cae por debajo del pico al que llegó durante la sístole. Cuando la presión en el ventrículo izquierdo cae por debajo de la presión de la aurícula izquierda, la válvula mitral se abre, y el ventrículo izquierdo se llena con sangre que se había estado acumulando en la aurícula izquierda. Un 70% del llenado de los ventrículos ocurre espontáneamente.
- **Diástole auricular.** Es cuando las aurículas están relajadas. La presión del ventrículo derecho cae por debajo del de la aurícula derecha, la válvula tricúspide se abre, y el ventrículo derecho se llena de la sangre que se acumulaba en la aurícula derecha.

Juntas se les conoce como la **diástole cardíaca**, y duran aproximadamente la mitad de la duración del ciclo cardíaco, es decir, unos 0.4 s .

- **Sístole auricular.** Las paredes de las aurículas se contraen, se abren las **válvulas auriculo-ventriculares** (mitral y tricúspide) y la sangre pasa a los ventrículos. Esta fase dura 0.15 segundos.
- **Sístole ventricular.** Las paredes de los ventrículos se contraen y la sangre del ventrículo izquierdo pasa a la arteria aorta, desde donde fluye rápidamente a los órganos a través de arterias conductoras ricas en elastina y colágeno. La progresiva ramificación da lugar a arterias cada vez más musculares, que finalizan en arteriolas y capilares, donde a medida que la sangre recorre los capilares, el oxígeno y demás nutrientes se introducen en las células, y los desechos de las células se desplazan a los capilares sanguíneos y linfáticos, los capilares sanguíneos se van agrupando formando vénulas poscapilares, vénulas y venas cada vez más grandes, que conducen la sangre, a través de la vena cava, hasta llevarla de regreso al corazón. Las vías linfáticas siguen un trayecto similar a las venas y descargan en las venas cavas poco antes de que éstas arriben al corazón. La sangre desoxigenada que es impulsada por el ventrículo derecho viaja por la arteria pulmonar, los capilares pulmonares. Esta fase dura 0.3 segundos.<sup>11, 12, 15</sup>



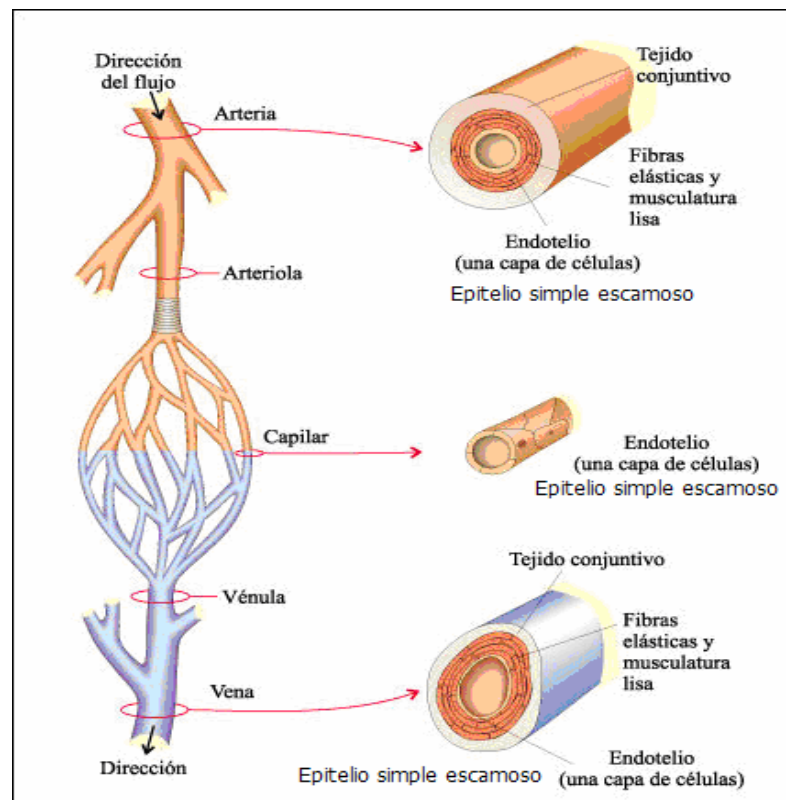
#### 4.3.3. Vasos Sanguíneos

Los vasos sanguíneos son los conductos por los que circula la sangre y su estructura refleja las exigencias funcionales que existen en diferentes puntos del organismo. Hay tres clases: **arterias, venas y capilares (Fig 5)**. La sangre sale del corazón por las arterias y llega a él por las venas. Los capilares unen ambos vasos. Por lo tanto la circulación es completa: del corazón

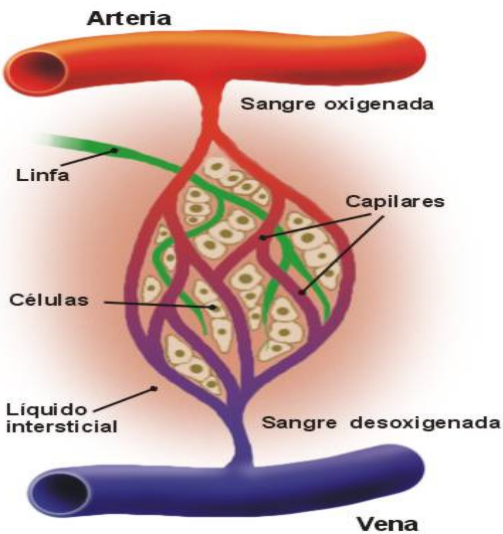
a los tejidos, de los tejidos al corazón, luego a los pulmones y nuevamente al corazón para volver oxigenada, a los tejidos.<sup>14, 17</sup>

Las **venas** son los vasos que llevan la sangre de los tejidos al corazón, tienen en general un diámetro total mayor, una luz más amplia y una pared más delgada que las arterias, son muy poco elásticas, por ello poseen válvulas internas para evitar el regreso de la sangre. Todas ellas, menos las venas pulmonares, conducen sangre pobre en oxígeno (**Fig 5**).<sup>14, 15, 17</sup>

Los **capilares** son vasos delgados (diámetro-7 micras) su contorno está formado por una sola célula escamosa, originados por las sucesivas ramificaciones de arterias y venas, que unen el final de las arterias con el principio de las venas (**Fig 6**). Las paredes son delgadas y permiten el intercambio de gases en los pulmones y nutrientes en los tejidos, la entrada de nutrientes en el intestino y la salida de los productos de excreción en los riñones (**Fig 5**).<sup>15</sup>



**Figura 5.** Comparación de venas, arterias y capilares<sup>18</sup>



**Figura 6.** Unión de arterias y venas, por medio de capilares <sup>15</sup>

Las **arterias** son los vasos que llevan la sangre del corazón a los tejidos, para que las arterias resistan las presiones pulsátiles elevadas, producidas por el corazón a las que están sometidas, sus paredes son generalmente más gruesas y expandibles que las de las venas. Son elásticas gracias a su una gruesa túnica media. Todas ellas, menos la arteria pulmonar, llevan sangre rica en oxígeno. El espesor de la pared arterial disminuye conforme lo hace el calibre del vaso (**Fig 6**). <sup>14, 15, 17</sup>

Existen 3 clases de arterias según su tamaño y sus características estructurales:

- 1) arterias de gran calibre elásticas o de conducción, como la aorta y sus grandes ramas (arteria nominada, subclavia, carótida común, ilíaca y pulmonar), que se ramifican para dar lugar a las arterias musculares.
- 2) arterias de pequeño y mediano calibre musculares o de distribución que comprenden a otras ramas de la aorta (arterias coronarias y renales, llamadas también arterias distributivas), y cuyas paredes son relativamente más gruesas, lo que impide que se colapsen cuando se doblan las articulaciones. Éstas dan lugar a los vasos de resistencia “arteriolas” así llamados porque son los que presentan la mayor resistencia a la presión sanguínea.
- 3) arteriolas (100 micras de diámetro) que discurren por el interior de órganos y tejidos. tienen múltiples capas de células musculares lisas en sus paredes, y arteriolas. El grado de contracción o tono de estos vasos regula la cantidad de sangre que fluye por la red capilar a cada pequeña área de tejido. <sup>17, 19</sup>



Todos los vasos de resistencia, suelen estar ricamente inervados por el sistema nervioso simpático, cuya actividad provoca generalmente contracción.<sup>19</sup>

#### 4.4. Aorta

La aorta es la principal arteria del cuerpo humano.<sup>20</sup>

##### 4.4.1. Anatomía y Función

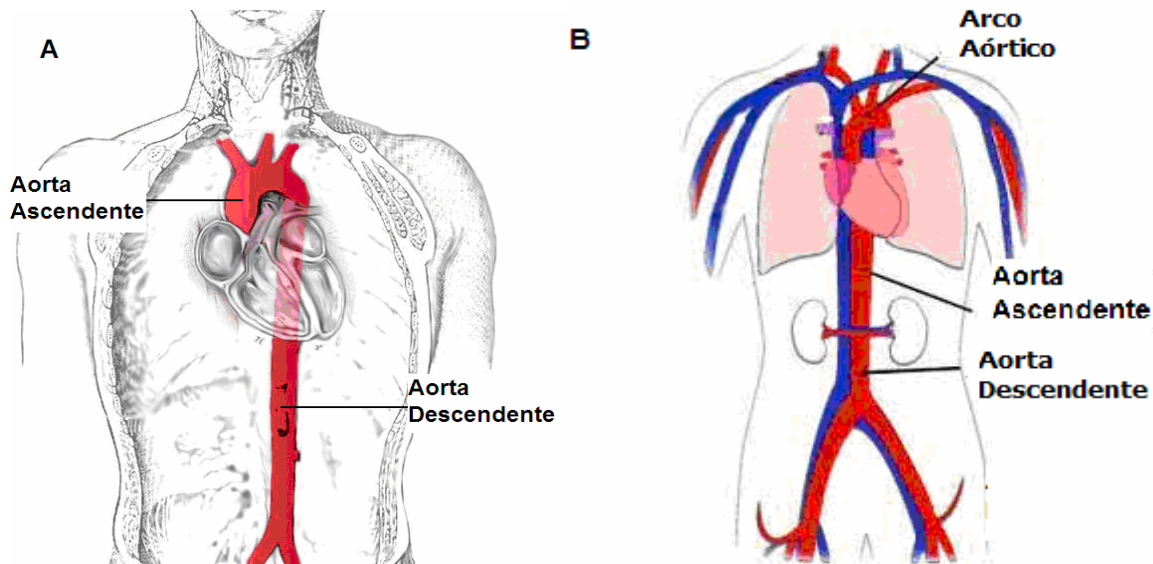
La aorta da origen a todas las arterias del sistema circulatorio, excepto a las arterias pulmonares, que salen del ventrículo derecho. La función de la aorta es transportar y distribuir sangre rica en oxígeno a todas esas arterias. La circulación sistémica o mayor comienza con el bombeo de sangre del ventrículo izquierdo a la arteria de mayor calibre, la aorta (con un diámetro de 2 a 3 cm, en un individuo adulto).<sup>13, 19, 20</sup>

##### 4.4.2. Partes de la Aorta

Sus cuatro partes primordiales (en un individuo adulto) son (**Fig 7**):

- ❖ **AORTA ASCENDENTE:** mide aproximadamente 5 cm de longitud y es la porción de aorta que está entre el corazón y el comienzo del arco de la aorta; ésta asciende desde la base del corazón y emite 2 ramas: las arterias coronarias que irrigan el miocardio.
- ❖ **ARCO DE LA AORTA (o cayado aórtico):** tiene de 4 a 5 cm de longitud y es la continuación de la aorta ascendente, que emerge del ventrículo izquierdo, sigue un trayecto posterosuperior y luego se dobla hacia abajo, en forma de arco invertido. Aquí se originan las principales arterias que irrigan la cabeza, brazos y el corazón.
- ❖ **AORTA DESCENDENTE:** la sección que va desde el arco aórtico hasta el lugar donde se bifurca en las arterias ilíacas derecha e izquierda (que irrigan la pelvis y las piernas); desciende inmediatamente por delante de la columna vertebral. A lo largo de su trayecto nacen las principales arterias que irrigan las vísceras.
  - **AORTA TORÁCICA:** tiene aproximadamente 20 cm de longitud, es la porción de la aorta descendente que se encuentra entre el cayado aórtico y el diafragma.
  - **AORTA ABDOMINAL:** es la porción de la aorta descendente que va desde el diafragma hasta el nacimiento de las arterias ilíacas.

Todos los órganos principales, a excepción del hígado, estómago y bazo (que los irrigan ramas del tronco celiaco) reciben su irrigación sanguínea de arterias que surgen de la aorta.<sup>13, 19, 20</sup>



**Figura 7. A.** Localización de la aorta ascendente y descendente. **B.** Localización del cayado o arco aórtico y división de la aorta descendente torácica y abdominal <sup>7, 36</sup>

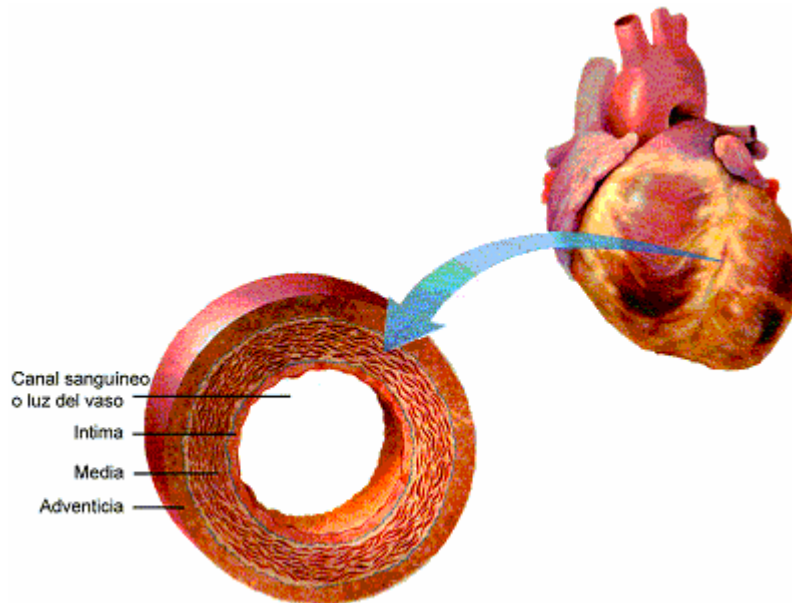
#### 4.4.3. Características de la Aorta

La **aorta** y sus ramas principales (arterias bronquioencefálica, carótida primitiva, subclavia e ilíaca primitiva) son arterias elásticas y como tal son muy flexibles y extensibles. Además de conducir la sangre procedente del corazón, esta se distiende durante la sístole y se contrae en la diástole, amortiguando la onda de pulso y equilibrando el flujo discontinuo de sangre creada por el bombeo intermitente del corazón. Este estiramiento confiere la energía potencial que ayudará a mantener la presión sanguínea durante la diástole, momento durante el cual la aorta se contrae, por el rebote de las fibras elásticas que integran su pared.<sup>19, 20</sup>

##### 4.4.3.1. Elementos de la Pared Vascular

Los elementos básicos de la pared vascular son: células endoteliales, células musculares lisas y la matriz extracelular, que contiene elementos elásticos, colágeno y proteoglucanos, todos ellos se disponen en capas concéntricas: la túnica íntima (adyacente a la luz): formada por células endoteliales, y una mínima cantidad de tejido conjuntivo fibroelástico subendotelial, la túnica media: formada por fibras musculares y la adventicia: formada por una capa envolvente de tejido conjuntivo que contiene fibras nerviosas y vasa vasorum dispersos (**Fig 8**). La media de la aorta contiene muchas fibras elásticas dispuestas en capas compactas concéntricas separadas en forma alterna por capas de fibras musculares. Los elementos elásticos de la aorta permiten que este vaso se distienda durante la sístole y acumule entonces parte de la energía del latido cardíaco. A continuación, y entre las contracciones cardíacas, durante la fase diastólica del ciclo

cardíaco, la fuerza elástica de la pared vascular impulsa la sangre hacia el sistema vascular periférico. Con el envejecimiento, la aorta pierde elasticidad, y estos vasos se vuelven menos distensibles, especialmente cuando aumenta la presión arterial.<sup>17, 19</sup>



**Figura 8.** Elementos de la pared vascular de una arteria coronaria<sup>21</sup>

#### **4.5. Receptores Farmacológicos y Farmacodinamia**

Uno de los aspectos más significativos de la farmacodinamia, es el estudio del mecanismo de acción de los fármacos, debido a que es muy importante conocer la manera en la que los fármacos son capaces de afectar las funciones de un sistema biológico para producir una respuesta. Puesto que para un número considerable de fármacos estos mecanismos suponen una interacción con receptores celulares.<sup>22</sup>

A finales del siglo XIX Erhlich fue quien precisó primero la idea de los receptores, que Langley había emitido. Sus planteamientos son válidos en la actualidad, con las modificaciones propias del progreso científico. Al reconocer que las reacciones químicas que van a tener lugar en las células son decisivas para determinar las relaciones entre la estructura química y la actividad biológica de los fármacos, planteó el concepto de receptor, que es una de las piedras angulares del pensamiento científico para el desarrollo de fármacos.<sup>5, 23</sup>

##### **4.5.1. Definición y Función de Receptores Farmacológicos**

Un receptor es una macromolécula blanco especializada; se encuentra en la superficie o dentro de la célula, se une a un agente y media sus acciones farmacológicas. Su función consiste en la unión al ligando apropiado, y la consecuente propagación de su señal reguladora en la célula blanco. La identificación de las 2 funciones de los receptores (unirse a ligandos y propagar el

mensaje), permitió especular sobre la existencia de 2 dominios funcionales dentro del receptor: un dominio de unión con el ligando y otro dominio efector. Los fármacos interactúan con los receptores, debido a esto modifican la función celular originando una respuesta. El receptor reconoce su ligando (especificidad), acopla o traduce ésta unión en una reacción por medio de un cambio conformacional o un efecto bioquímico y también coordina e integra una buena parte de la información extracelular con la propia, para modular las acciones que llevará a cabo.<sup>23, 24, 25, 26</sup>

Los efectos reguladores de un receptor pueden ejercerse en forma directa en las estructuras blanco, es decir en la o las proteínas efectoras, o pueden ser transmitidas a blancos celulares por moléculas intermediarias, que son los transductores.<sup>25</sup>

Entre los receptores más importantes están las proteínas celulares, cuya función normal es servir de receptores de ligandos endógenos, en particular hormonas, factores de crecimiento y neurotransmisores. Los neurotransmisores son sustancias químicas que tras ser liberadas desde las terminaciones nerviosas, atraviesan el espacio sináptico y se fijan a receptores presinápticos y postsinápticos,<sup>25, 27</sup>

#### 4.5.2. Interacción Fármaco-Receptor

El principio más importante que Clark (1926) asumió para establecer la teoría ocupacional es que la magnitud de un efecto farmacológico es directamente proporcional al número de receptores ocupados por el mismo y que la respuesta máxima se obtiene únicamente cuando están ocupados todos los receptores disponibles. La noción de unión de partes complementarias entre el fármaco y su receptor (imagen de la llave dentro de la cerradura) es fundamental y ha llevado a postular y después demostrar, que los receptores son sitios saturables estereoespecíficos con relación al fármaco, capaces de unirse a este último de manera reversible (**Tabla 2**), con una alta afinidad por las uniones de baja energía, y que la naturaleza del complejo fármaco-receptor que se forma define su acción farmacológica.<sup>23, 24, 26, 28, 29</sup>

En la interacción de un fármaco con un receptor participan diferentes tipos de fuerzas químicas (**Tabla 2**), pero la mayoría establece enlaces reversibles. Para que estas fuerzas de fijación débiles y de corta duración puedan actuar, el ligando y el receptor deben ser complementarios a nivel molecular; es decir, las formas de sus moléculas y la localización de sus grupos de fijación deben acoplarse e implica que las ligeras alteraciones en la molécula del fármaco ocasionarán cambios drásticos en la capacidad de este último para unirse al receptor. Así la interacción fármaco-receptor precipita una respuesta biológica y la magnitud de tal reacción es proporcional al número de complejos formados:

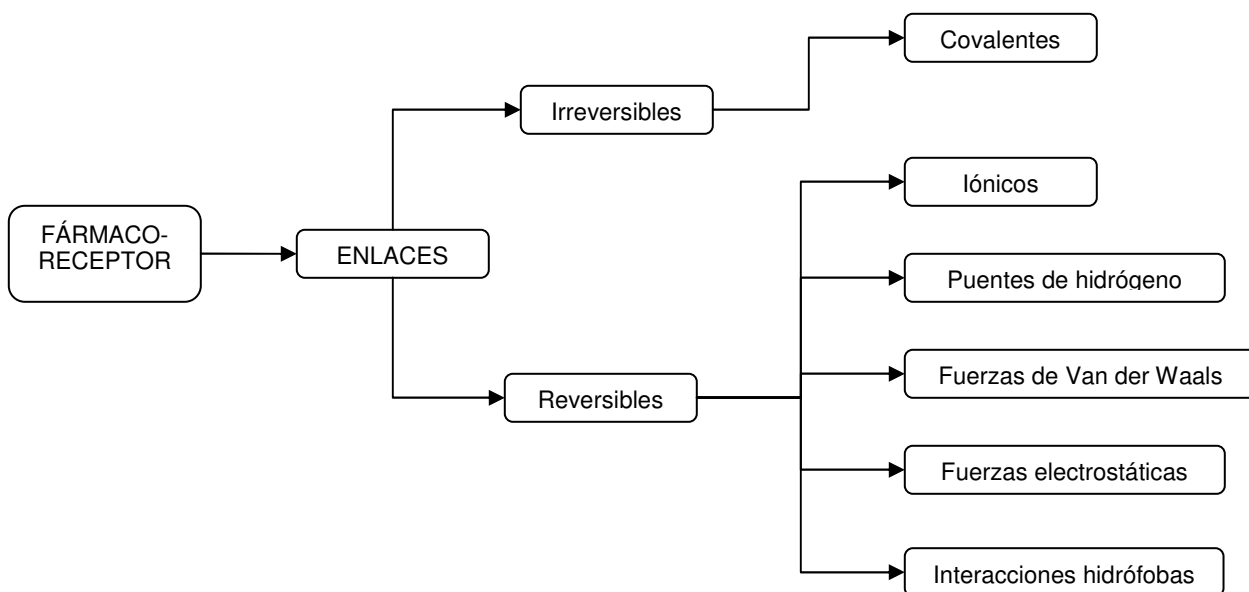
COMPLEJO  
 FÁRMACO + RECEPTOR → FÁRMACO-RECEPTOR → EFECTO<sup>23, 24, 26, 29, 30, 31</sup>

Por lo tanto los dos requisitos básicos de ésta interacción son:

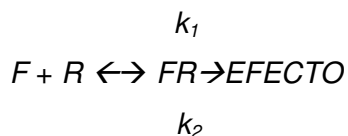
- ✓ la **afinidad** del ligando o fármaco por su receptor, que hace que se fije al mismo, incluso cuando haya una concentración muy pequeña de fármaco
- ✓ la **actividad intrínseca** del receptor y del fármaco que le permite a éste unirse y actuar sólo sobre un tipo concreto de receptores (gracias a la cual puede discriminar una molécula de otra, aún cuando sean parecidas) y producir una respuesta.<sup>31, 33</sup>

De manera que estos 2 factores se han considerado como los más importantes desde el punto de vista del fármaco para entender la respuesta de un fármaco sobre un receptor.<sup>29</sup>

**Tabla 2.** Tipos de enlace en la unión fármaco-receptor<sup>30, 31</sup>



Desde la concepción de la teoría de los receptores, se sugirió que la combinación fármaco-receptor, y por tanto las respuestas a diversas dosis de un fármaco se regían por la ley de acción de masas, según ésta teoría el efecto de un fármaco es proporcional a la acción de los receptores que ocupa, presentándose el efecto máximo cuando se ocupan todos los receptores, y la ecuación que describe esta reacción es:



donde  $F$  = moléculas de fármaco;  $R$  = número de receptores libres;  $FR$  = complejo fármaco-receptor o número de receptores ocupados; y  $k_1$  y  $k_2$  son las respectivas constantes de la velocidad de asociación y disociación del complejo.<sup>22, 31</sup>

#### 4.5.2.1. Agonistas y Antagonistas

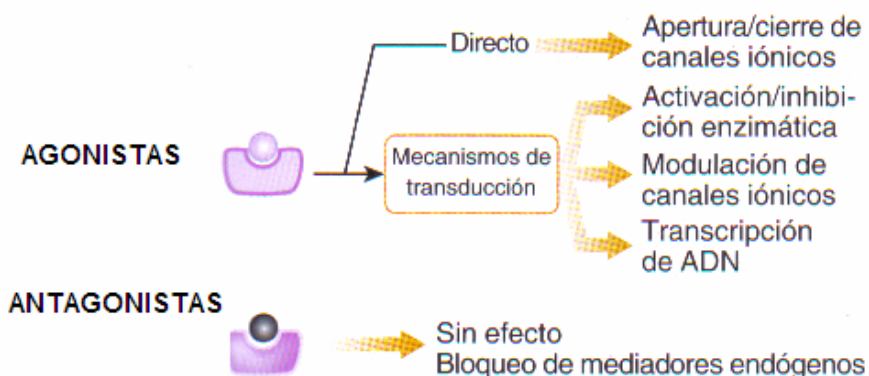
##### ✍ AGONISTAS

Los agonistas son fármacos que tienen gran actividad intrínseca y afinidad, se fijan al receptor y son capaces de activar de forma completa el sistema efector (**Fig 7**). La capacidad de los agonistas para activar a los receptores, una vez fijados a éstos, se denomina eficacia. Los agonistas presentan alta eficacia y son capaces de producir una respuesta máxima al ocupar únicamente un pequeño porcentaje de los receptores disponibles.<sup>27, 34</sup>

##### ✍ ANTAGONISTAS

Son aquellos que están dotados de afinidad pero carecen de actividad intrínseca, es decir, poseen los requisitos estructurales necesarios para ocupar y fijarse a los receptores pero no los activan, no inducen un cambio de conformación y no generan una respuesta. Sin embargo los antagonistas ocupan al receptor e impiden que los agonistas se fijen y por consiguiente, bloquean su acción (**Fig 9**). Los antagonistas pueden ser:<sup>27, 33</sup>

- **Competitivos:** son fármacos que se unen al receptor de manera reversible sin activar el sistema efector para ese receptor. Un antagonista competitivo produce un desplazamiento paralelo de la curva de c-r a la derecha del agonista, lo que hace que el fármaco se manifieste como si fuera menos potente y la respuesta máxima no disminuye.<sup>24, 27, 34</sup>
- **No Competitivos:** estos fármacos son conocidos como antagonistas irreversibles y pueden evitar la unión del agonista o impedir que éste active el receptor. Un antagonista no competitivo reduce la respuesta máxima.<sup>24, 27</sup>

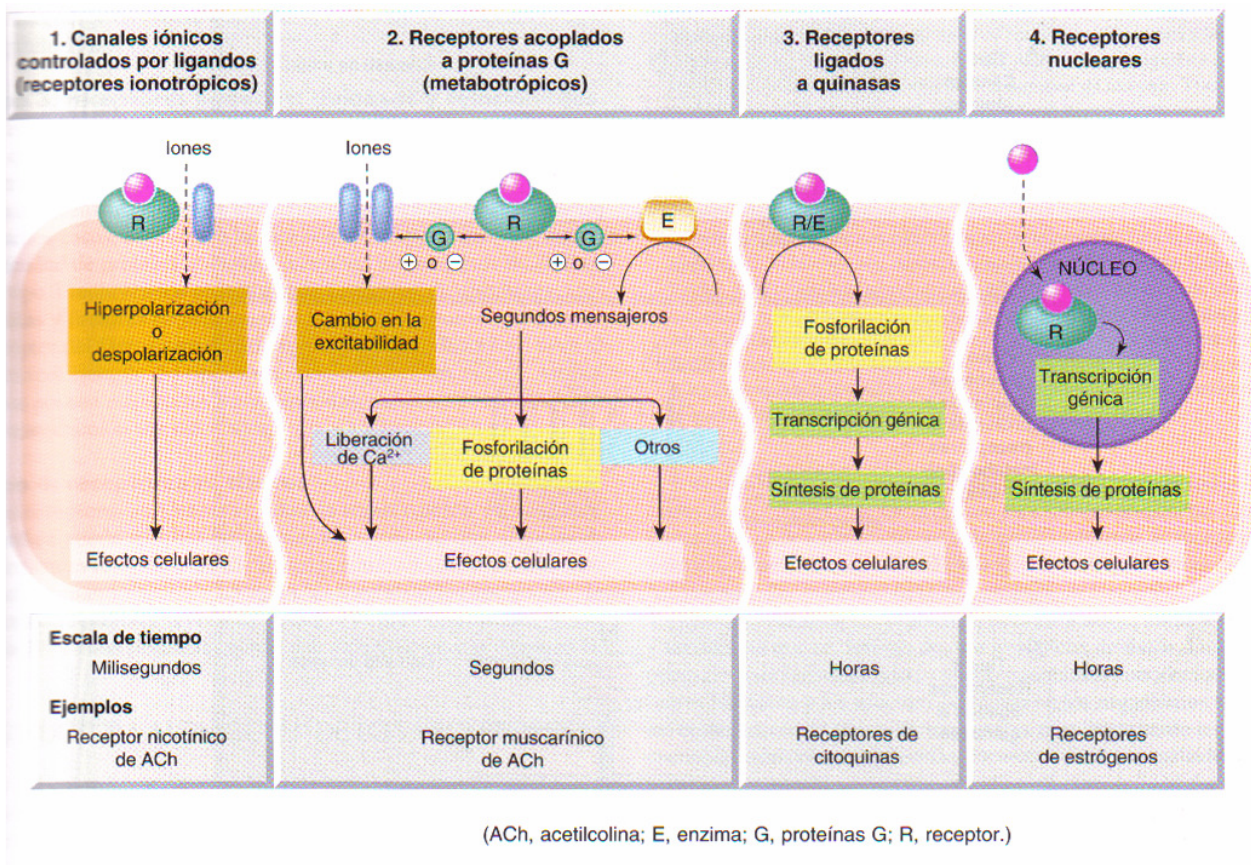


**Figura 9.** Tipos de dianas de la acción de agonistas y antagonistas<sup>12</sup>

### 4.5.3. Tipos de Receptores

En la superficie celular hay diferentes tipos de receptores para mensajeros químicos y factores de crecimiento importantes que son:

- Asociados directamente a canales iónicos multiméricos (ionotrópicos)
- Asociados a través de proteínas G a enzimas de membrana y procesos intracelulares (metabotrópicos)
- Asociados directamente a tirosina cinasas
- Asociados a interacción con el ADN (receptores de esteroides) (**Fig 10**)<sup>17, 27</sup>



**Fig 10.** Esquema de los tipos de receptores<sup>12</sup>

### 4.5.4. Receptores Acoplados a las Proteínas G (RAPG)

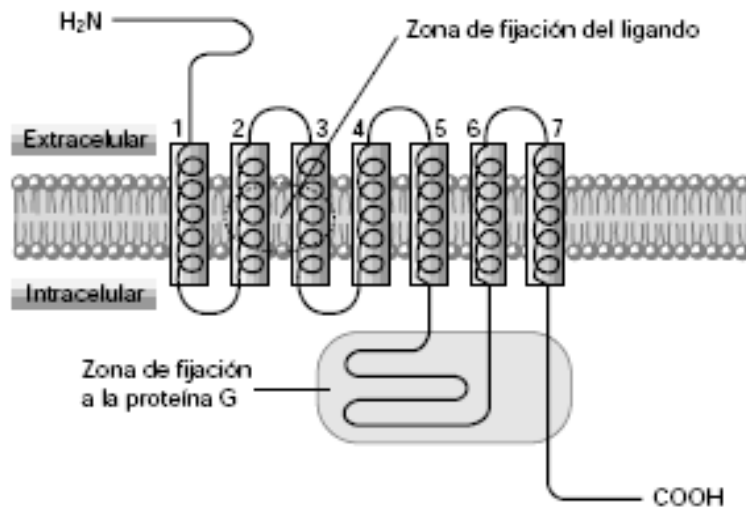
Los receptores asociados a las proteínas G están formados por una cadena polipeptídica con 400-500 residuos de aminoácidos y poseen siete  $\alpha$ -hélices que abarcan todo el espesor de la membrana (**Fig 11**). El tercer bucle intracelular del receptor es mayor que los otros bucles e interacciona con la proteína G. Al unirse al ligando, se activa una señal que se transmite al

complejo de las proteínas G que, a su vez, activa un sistema efector, que produce segundos mensajeros intracelulares.<sup>17, 27</sup>

Los integrantes de este grupo facilitan la unión de GTP a proteínas G específicas.

Los receptores ligados a proteína G y las proteínas G mismas constituyen familias de proteínas homólogas. Los receptores son proteínas hidrófobas que abarcan todo el espesor de la membrana plasmática en 7 segmentos helicoidales  $\alpha$ . Los receptores interactúan con las proteínas G en su faz citoplasmática.

Las proteínas G se ligan a la faz interior de la membrana plasmática; son moléculas heterodiméricas (subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ), su clasificación se basa en la identidad de sus diferentes subunidades  $\alpha$ . Los polipéptidos mencionados tienen enormes dominios para interacciones con receptores y efectores.<sup>25</sup>



**Figura 11.** Modelo general de las secuencias de aminoácidos en los receptores acoplados a proteínas G y que contienen 7 segmentos transmembrana<sup>31</sup>

#### 4.5.4.1. Proteínas G

Muchos receptores en la membrana plasmática regulan diferentes proteínas efectoras por mediación de un grupo de proteínas ligadas a GTP, las llamadas proteínas G. En el estado de reposo la proteína G es un trímero desacoplado que está formado por las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . La ocupación del receptor por el agonista origina un cambio en la conformación, y provoca un aumento de su afinidad por el trímero. La subsiguiente asociación del trímero con el receptor provoca que el GDP fijado a la subunidad  $\alpha$ , se disocie de ésta. El GTP reemplaza al GDP en el espacio que deja éste y, de este modo, activa a la proteína G y provoca la disociación de la subunidad  $\alpha$  y del dímero  $\beta\gamma$ . La asociación de  $\alpha$ -GTP constituye la forma activa de la proteína G, este complejo se mueve libremente por el plano de la membrana, donde es capaz de regular



la actividad de efectores específicos. Los efectores incluyen enzimas como la adenililciclase y las fosfolipasas A<sub>2</sub>, C y D; canales que son específicos para los iones de calcio, potasio y sodio, y algunas proteínas de transporte. El dímero βγ permanece asociado a la membrana debido a su hidrofobicidad. El ciclo se completa cuando la subunidad α, que posee actividad enzimática, hidroliza el GTP unido a ella, que pasa a convertirse en GDP, se disocia del efector y vuelve a unirse al dímero βγ.<sup>25, 27</sup>

#### 4.5.4.2. Dianas para las Proteínas G

- CANALES IÓNICOS
- SEGUNDOS MENSAJEROS
  - o Sistema Adenililciclase/AMPc
  - o Sistema Fosfolipasa C/inositol fosfato
  - o Sistema Guanililciclase<sup>27</sup>

#### 4.5.5. Clasificación de los Receptores

Los receptores asociados a proteínas G están implicados en una transmisión relativamente rápida, generándose una respuesta en segundos. Por costumbre, los receptores de medicamentos se han identificado y clasificado más bien conforme al efecto y la potencia relativa de agonistas y antagonistas selectivos. Por ejemplo:<sup>25, 27</sup>

- Receptores colinérgicos (muscarínicos y nicotínicos)
- Receptores adrenérgicos
- Receptores dopaminérgicos
- Receptores serotoninérgicos
- Receptores a opioides

Al ampliarse la diversidad y selectividad de los fármacos se ha podido observar que existen múltiples subtipos de estos receptores.<sup>25</sup>

#### 4.6. Aspectos cuantitativos de la acción farmacológica

La relación gráfica entre la magnitud de la respuesta y la dosis que la produce constituye el elemento fundamental para la cuantificación de la actividad farmacológica y permite estudiar las características fármaco-receptor.<sup>22</sup>

##### 4.6.1. Relación Dosis-Respuesta

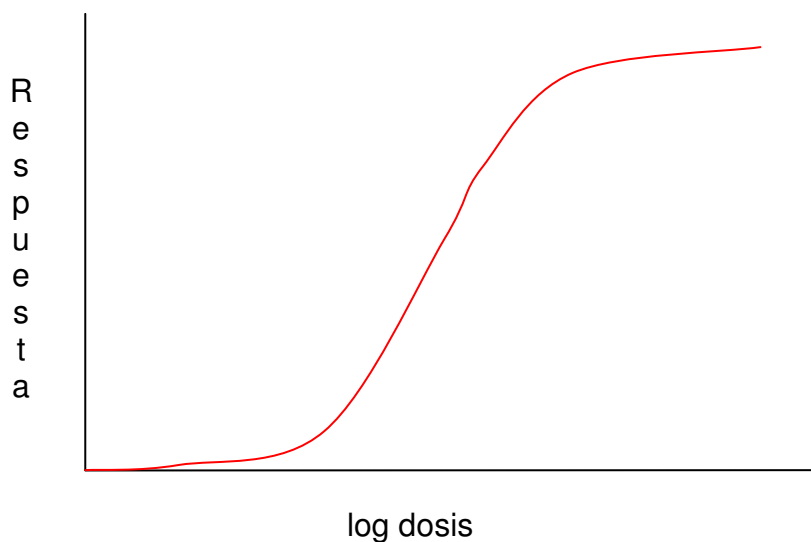
El efecto farmacológico o respuesta biológica consecutiva a la interacción fármaco-receptor es susceptible de medición o cuantificación. Las respuestas son por lo general graduales esto significa que existe una relación sistemática y continua entre la dosis aplicada y la magnitud o

intensidad de efecto que dicha dosis produce. Para obtener una expresión gráfica de ésta relación en un sistema de coordenadas se acostumbra colocar la dosis o concentración del fármaco, que es la variable independiente en las abscisas y la respuesta o variable dependiente en las ordenadas.<sup>22, 28</sup>

Las mediciones de las respuestas pueden efectuarse por diversos medios, siendo el más representativo el experimento de órgano aislado. Se obtiene un registro que luego se grafica como respuesta en función de la concentración o dosis aplicada, obteniéndose las denominadas curvas dosis-respuesta o curvas concentración-efecto.<sup>28</sup>

#### 4.6.2. Curvas Dosis-Respuesta

Cuando la respuesta de un sistema receptor-efector particular (un sistema *in vitro*, un animal o un paciente) se mide respecto a concentraciones crecientes de un fármaco, la gráfica de la respuesta en relación con la concentración o dosis se conoce como curvas dosis-respuesta (**Fig 12**). Si se grafican los mismos datos sobre ejes semilogarítmicos, se obtiene una curva sigmoidea, lo que simplifica la manipulación matemática.<sup>34</sup>



**Figura 12.** Curva teórica del log dosis-respuesta

La magnitud del efecto del fármaco depende de su concentración en el sitio del receptor, que a su vez la determinan la dosis suministrada y los factores propios de la sustancia, como ritmo de absorción, distribución y metabolismo. El efecto de un fármaco se analiza con mayor facilidad al graficar el grado de reacción contra el logaritmo de la dosis utilizada (**Fig. 13**), de forma tal que se obtiene una curva dosis-respuesta.<sup>24</sup>

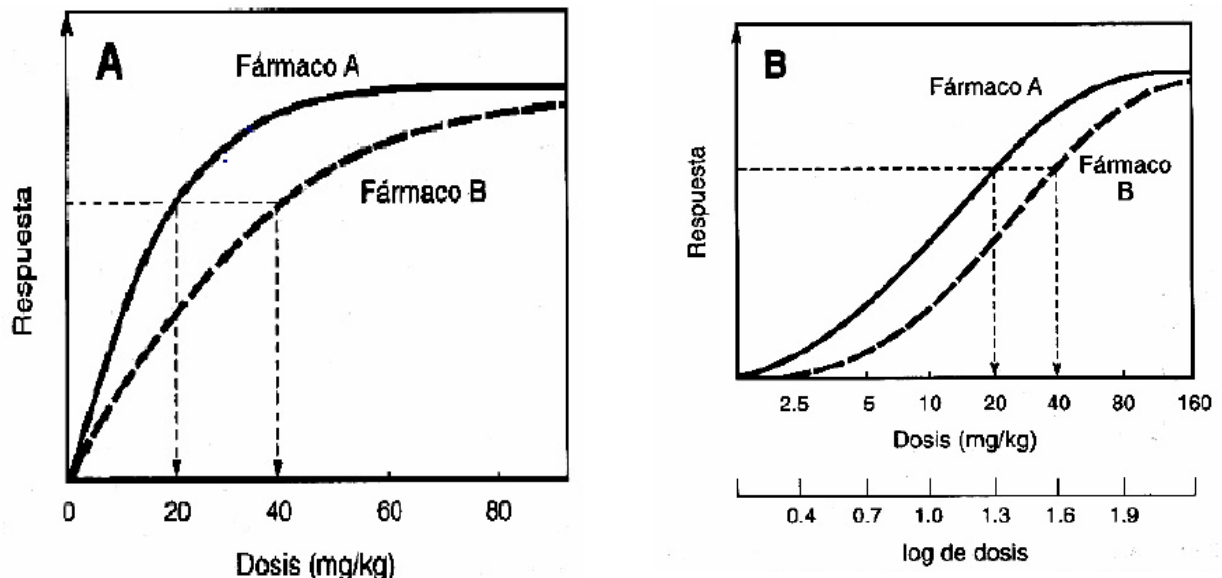


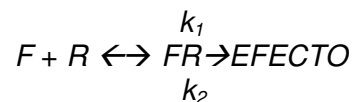
Figura 13. A. Gráfica de dosis-respuesta lineal y B. Gráfica Logaritmo de Dosis-Respuesta de 2 fármacos que tienen potencias diferentes<sup>30</sup>

#### 4.6.3. Gráfica Doble Recíproca y $K_D$

Según la teoría más común sobre la acción de los fármacos, las moléculas de los fármacos deben fijarse a receptores en el cuerpo antes de que pongan en marcha el proceso de respuesta. Por tanto, el grado de acción es proporcional a la ocupación de receptores o, en otras palabras, a la concentración (que se indica entre corchetes) de los complejos fármaco-receptor [FR]:

$$\text{Respuesta} = \alpha[\text{FR}]$$

donde  $\alpha$  es una constante de proporcionalidad, conocida como *actividad intrínseca*. El complejo se forma y disocia (de acuerdo a la ley de acción de masas) en sus componentes en un estado estable dinámico:



en el que F representa al fármaco, R a los receptores y FR al complejo fármaco-receptor;  $k_1$  y  $k_2$  son las constantes que rigen respectivamente la asociación y disociación de F y R. El desarrollo de ésta relación conduce al cálculo de la constante de disociación  $K_D$  del complejo fármaco-receptor y de la población de dicho receptor en un determinado tejido.<sup>22, 30, 33</sup>

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

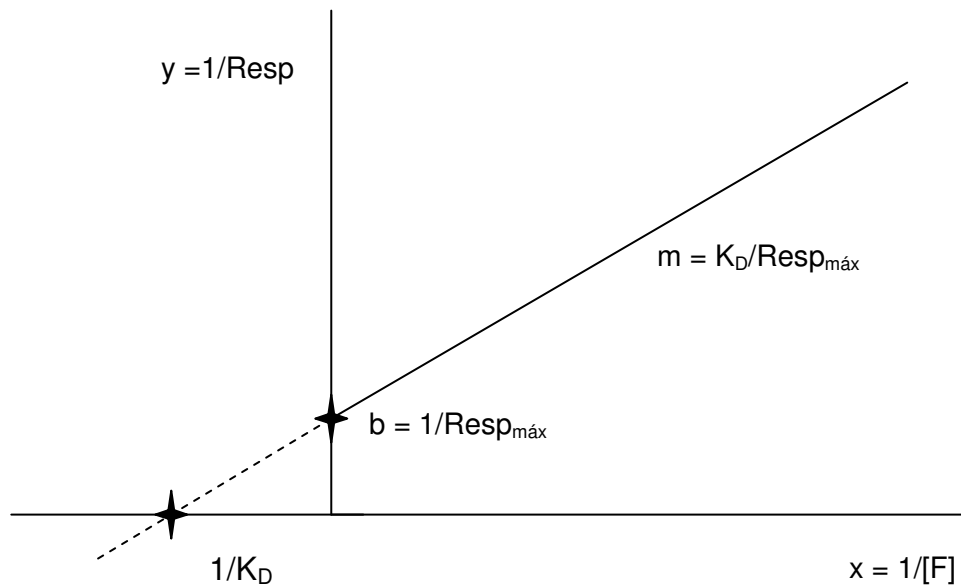
$$Respuesta = \frac{\alpha[F][R]}{K + [F]}$$

Además, es posible transformarla en una ecuación lineal:

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

$\downarrow$                        $\downarrow$                        $\swarrow$                        $\downarrow$   
 $y$                        $=$                        $mx$                        $+$                        $b$                       , por lo tanto

$$b = \frac{1}{Resp_{m\acute{a}x}} \quad y \quad m = \frac{K}{Resp_{m\acute{a}x}}$$

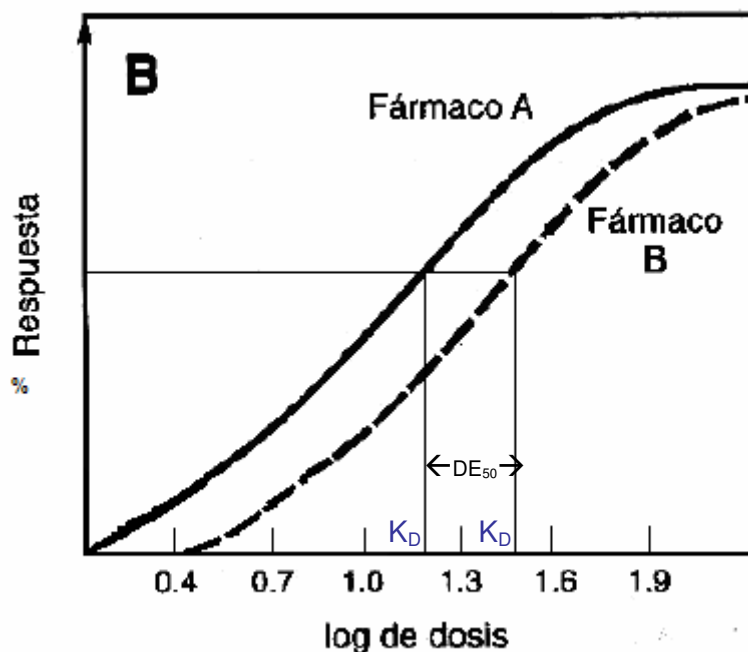


**Figura 14.** Relación lineal entre dosis y respuesta cuando se grafican las recíprocas de la dosis y del efecto <sup>22</sup>

Cuando se obtiene una recta al ajustar la gráfica "recíproca doble" (**Fig. 14**), significa que puede aplicarse la teoría de la ocupación de receptores de la acción farmacológica y a partir de estos registros es posible calcular la respuesta o efecto máximo y la constante de disociación del complejo fármaco receptor  $K_D$ , (que corresponde a  $k_2/k_1$ ), y es el recíproco de la constante de asociación ( $1/K_a$ ), se expresa en unidades de concentración molar y se aplica para dilucidar si un antagonista es o no competitivo. <sup>6, 30, 35</sup>

La constante de disociación,  $K_D$ , es el parámetro usado para representar la afinidad de un fármaco por su receptor, siendo la afinidad una medida de la probabilidad de que un fármaco interaccione con su receptor para formar el complejo fármaco-receptor. La constante de disociación corresponde a la concentración de fármaco en presencia de la cual existe el 50% de probabilidades de que el fármaco esté ocupando el 50% de los receptores totales. Dicho de otro modo, cuando la fracción de receptores ocupados es del 50%, la concentración de fármaco a la que se ha logrado corresponde a la  $K_D$  (**Fig. 15**). Cuando el valor de la  $K_D$  sea baja la afinidad será alta. <sup>30, 33, 35</sup>

Es así que el término  $DE_{50}$  puede usarse como una medida de la afinidad, es decir la concentración de fármaco a la que están ocupados el 50% de los receptores, ya que el efecto producido es del 50% (**Fig. 15**). <sup>33</sup>



**Figura 15.** Comparación de las curvas de respuesta de dos fármacos A y B, se observa que el índice de afinidad ( $K_D$ ) es igual a la concentración del fármaco que ocupa el 50% de los receptores ( $C_{50\%}$ ), o sea, la dosis efectiva 50 ( $DE_{50}$ )

Cuando el antagonismo es no competitivo se combina de forma reversible con el receptor en el mismo sitio que lo hace el F, originando una disminución de la afinidad entre el F y el R. Inactiva al receptor en tal forma que no se puede formar el complejo FR a ninguna concentración de F. El antagonista se combina con el receptor R en el mismo sitio que lo hace F, pero lo hace tan firmemente que no puede ser desplazado. Hay otra posibilidad: que el antagonista se combine con el receptor R en sitio diferente que F, pero al realizar esta combinación lo deforma en tal manera que también imposibilita la formación del complejo FR. <sup>6, 30</sup>

## 4.7. Receptores Adrenérgicos

En el sistema nervioso simpático se pueden distinguir varios tipos de adrenoceptores. En un principio se identificaron 2 familias de receptores, que se designaron  $\alpha$  y  $\beta$ , de acuerdo con su respuesta a los agonistas adrenérgicos bloqueadores específicos: adrenalina, noradrenalina e isoproterenol. Las alteraciones de la estructura primaria de los receptores modifican su afinidad por diversas sustancias.<sup>24</sup>

### 4.7.1. Definición de Receptores Adrenérgicos

Son las estructuras moleculares que en las células del organismo reciben selectivamente la señal de la adrenalina y la noradrenalina y responden transformándola en una respuesta celular específica. Los adrenoceptores son glucoproteínas de membrana de 64-68 KD, cuyas cadenas polipeptídicas (402-525 aminoácidos) poseen secuencias fuera de la célula (terminal-NH<sub>2</sub>), en la membrana celular (siete hélices transmembrana) y en el citoplasma (terminal-COOH). Estas estructuras poseen, por un lado, los grupos funcionales para fijar agonistas y, por el otro, los encargados de activar la transducción de señales a través de proteínas G. Se observa alto grado de homología estructural y semejanza farmacológica entre los diversos subtipos de adrenoceptores  $\alpha$  humanos y los correspondientes en ratas y ratones.<sup>30, 31</sup>

En 1948 Ahlquist, clasificó los receptores adrenérgicos en dos clases,  $\alpha$  y  $\beta$ . Se definió como *receptores  $\alpha$*  (adrenoceptores  $\alpha_1$ ) los que son estimulados por las tres catecolaminas con el orden de potencia: adrenalina > noradrenalina >> isoprenalina, y como *receptores  $\beta$*  (adrenoceptores  $\beta$ ) los que eran estimulados con el orden de potencia isoprenalina > adrenalina > noradrenalina. Los adrenoceptores  $\alpha$  se subdividen en 2 grupos:  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ .<sup>24, 31</sup>

### 4.7.2. Receptores Adrenérgicos $\alpha_1$

Estos receptores se encuentran en la membrana postsináptica de los órganos efectores y pueden mediar muchos efectos característicos, incluida la contracción del músculo liso.<sup>24</sup>

### 4.7.3. Sitios de distribución de los receptores adrenérgicos

- > músculo liso vascular
- > terminaciones nerviosas presinápticas
- > plaquetas
- > células adiposas
- > encéfalo

Los órganos y tejidos con inervación adrenérgica suelen tener un tipo de receptor en forma predominante (**Tabla 3**).<sup>24, 30, 34</sup>

**TABLA 3.** Localización de adrenoreceptores y respuestas a su activación<sup>31</sup>

| MÚSCULO LISO       | RECEPTORES $\alpha_1$ | RECEPTORES $\alpha_2$ | RECEPTORES $\beta_1$ | RECEPTORES $\beta_2$ |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Arterial           | Contracción           | Contracción           |                      | Relajación           |
| Venoso             | Contracción           | Contracción           |                      | Relajación           |
| Gastrointestinal   | Contracción           | Relajación            |                      | Relajación           |
| Próstata           | Contracción           |                       |                      |                      |
| Dilatador del iris | Contracción           |                       |                      | Relajación           |

#### 4.7.4. Respuesta adrenérgica $\alpha_1$ sobre aorta y Vía de Señalización

Es útil clasificar las respuestas fisiológicas por estimulación adrenérgica de acuerdo con el tipo de receptor particular, ya que muchos fármacos estimulan o inhiben en forma preferencial un solo tipo de receptor.<sup>24</sup>

El adrenoceptor  $\alpha_1$  es un receptor acoplado a la proteína  $G_q$  y asociado al sistema de la fosfolipasa C, situado en la membrana celular, que provoca la formación de dos moduladores: el inositoltrifosfato ( $IP_3$ ) y el diacilglicerol (DAG). Así, la respuesta molecular se caracteriza principalmente por el aumento y la movilización de  $Ca^{2+}$  intracelular, el calcio se fija a continuación a la calmodulina, y la consecuencia de esto es una activación de la cinasa de las cadenas ligeras de la miosina (CCLM), lo cual origina una contracción del músculo liso vascular, así como el incremento en la resistencia periférica y la tensión arterial.<sup>24, 27, 31</sup>

Los fármacos adrenérgicos actúan sobre los receptores que estimulan la noradrenalina o la adrenalina. Algunos agentes adrenérgicos logran su efecto al activar de forma directa el receptor adrenérgico y se denominan simpaticomiméticos.<sup>24</sup>

#### 4.7.5. Vía de Señalización de la interacción Fenilefrina-Receptor adrenérgico $\alpha_1$

Los fármacos que actúan sobre el sistema noradrenérgico pueden ser estimulantes por acción directa o indirecta sobre los receptores. Los estimulantes por acción directa son los adrenérgicos  $\alpha$  (fenilefrina, noradrenalina) los cuales reproducen los efectos de la estimulación simpática.<sup>29</sup>

La fenilefrina es un agente adrenérgico sintético de acción directa (**Fig 16**) que se une en forma dominante a los receptores  $\alpha$ , más a los de tipo  $\alpha_1$  y menos a los  $\alpha_2$ . No es un derivado del catecol y por ello no es sustrato de la COMT. Se une a los receptores  $\alpha_1$ , localizados en la membrana postsináptica, del músculo liso en la aorta, sin interactuar con la neurona presináptica. El receptor activado inicia entonces la síntesis de segundos mensajeros que desencadenan señales intracelulares (**Fig 16**).<sup>24</sup>



Figura 16. Estructura química de la fenilefrina

La liberación de calcio de los depósitos intracelulares es mediada por otro segundo mensajero, el inositol 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ), que es producto de la hidrólisis del lípido de la membrana fosfatidilinositol 4,5-bifosfato ( $PIP_2$ ); dicha reacción es catalizada por una fosfolipasa C (PLC). Tres familias de PLC, cada una con miembros homólogos, reaccionan a tres vías diferentes de transducción de señales (señalización). Las PLC de tipo  $\beta$  (no hay PLC de tipo  $\alpha$ ) son estimuladas por la familia  $G_q$  de proteínas G, y en algunos miembros, por las subunidades  $\beta$ - $\gamma$  y la proteína G. las PLC de tipo  $\gamma$  son activadas por fosforilación de los residuos de tirosina y, por ello, activadas por las cascadas de tirosincinasa, que a su vez son activadas por receptores en la superficie celular. No se conoce el factor que regula la PLC  $\delta$ .<sup>25</sup>

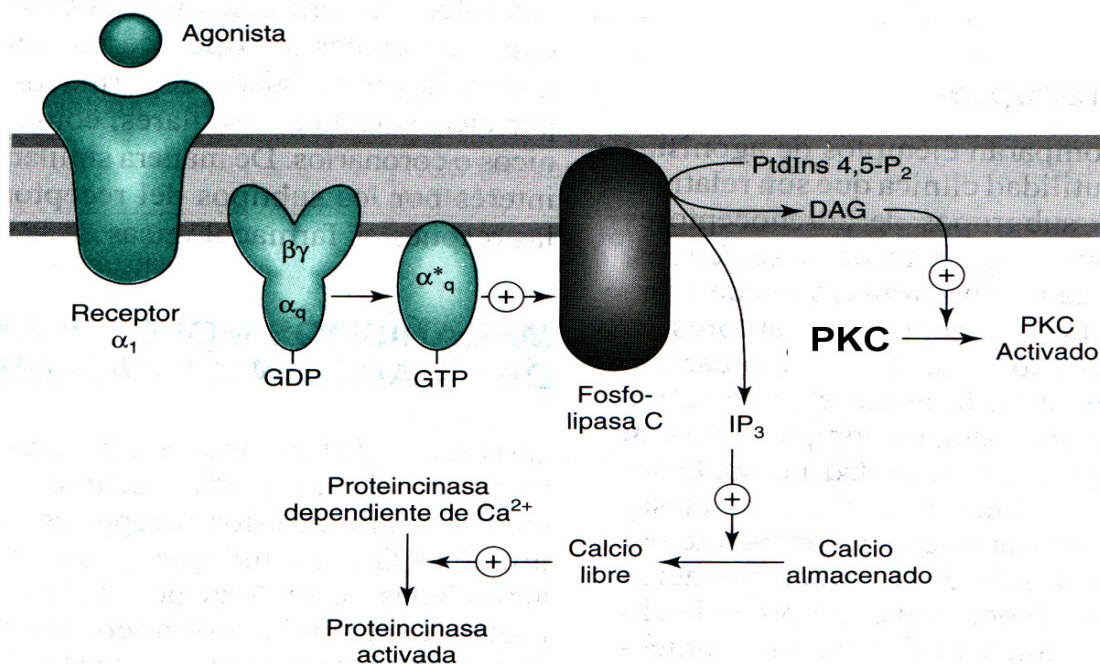


Figura 17. Vía de señalización de la interacción fenilefrina-receptor adrenérgico. Cuando el agonista se fija al receptor, se activa la proteína G que tiene 3 subunidades ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) y provoca que el guanidildifosfato (GDP) unido a la subunidad  $\alpha$ , se desplace para que el guaniltrifosfato (GTP) se una a la fosfolipasa C la cual lleva a un aumento intracelular de los segundos mensajeros  $IP_3$  y DAG, lo que da como resultado final la contracción vascular.



Los iones calcio regulan la actividad celular por interacción con mediadores proteínicos, y entre los ejemplos sobresalientes están la proteincinasa C y la calmodulina. La primera de éstas, a semejanza de su homóloga dependiente de AMPc, posee innumerables sustratos, incluso proteínas que intervienen en otros sistemas de señalización. La activación de la proteincinasa C por el ion de calcio es potenciada por diacilglicerol, el otro segundo mensajero producto de la reacción catalizada por fosfolipasa C que libera IP<sub>3</sub> (**Fig 17**).<sup>25</sup>

## 5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 5.1. Material Biológico

- ✓ Ratas Wistar macho, peso promedio 250-350g proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Medicina-UNAM y Bioterio CINVESTAV-IPN.

### 5.2. Material

- ✓ Pipeta **Transferpette®** de 100 µL
- ✓ Pipetas **Transferpette®** de 1000 µL
- ✓ Cajas de Petri
- ✓ Jeringas de insulina
- ✓ Tabla de disección
- ✓ Estuche de disección
- ✓ Hilo seda de 0.4
- ✓ Viales ámbar
- ✓ Algodón
- ✓ Piseta

### 5.3. Equipo

- ✓ Balanza Analítica **Sartorius® BL60S** (0.1mg-60g)
- ✓ Balanza Granataria **OHAUS®** (0.1-2610g)
- ✓ Computadora integrada al software **ACQ KNOWLEDGE**.
- ✓ Baño **PolyScience® 801** (0-150°C)
- ✓ Termómetro **Widder®** (-20 - +110°C)

### 5.4. Soluciones

- ✓ Solución Fisiológica de Krebs
- ✓ Pentobarbital Sódico (**ANESTESAL** 0.060 g/mL)
- ✓ Carbógeno ( **PRAXAIR** 95% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub>)
- ✓ Compuestos LQM a evaluar (LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, LQM 322)

✓ HCl (0.01M)

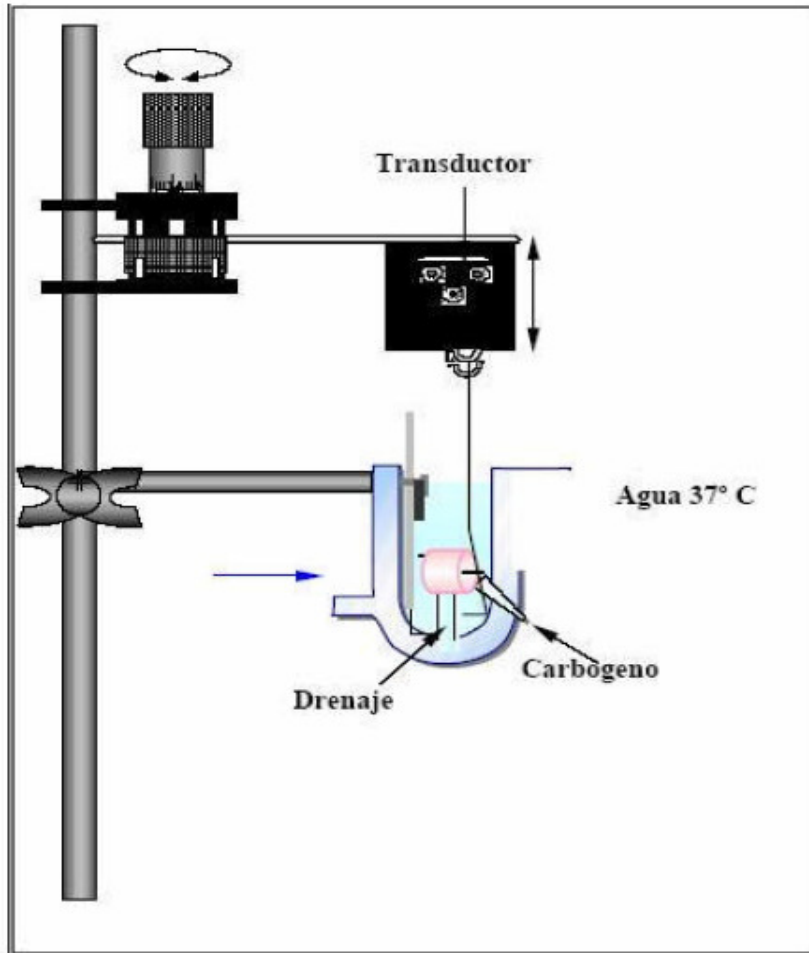
## 5.5. Metodología

### Preparación y montaje de los anillos aórticos

- ✎ Fueron anestesiadas Ratas Wistar macho normotensas con pentobarbital sódico, vía intraperitoneal.
- ✎ Las aortas se extrajeron, se colocaron en solución fisiológica, posteriormente fueron limpiadas de tejido conectivo y se separaron en aorta torácica y abdominal.
- ✎ Cada parte de las aortas (torácicas y abdominales) se cortaron en 2 segmentos anulares y se colocaron en cámaras para órgano aislado (10 mL) (**Fig 18**) con solución Krebs previamente preparada con la composición expuesta en la **Tabla 4**.
- ✎ La solución de Krebs en los baños fue mantenida a 37°C y burbujeada con carbógeno (95% O<sub>2</sub> - 5% CO<sub>2</sub>).
- ✎ Los anillos fueron montados en dos ganchillos de alambre de acero inoxidable y se fijaron 1 al fondo de la cámara y el otro a un transductor (**Fig 18**).
- ✎ Cada anillo aórtico fue sometido a una tensión inicial de 3 g.
- ✎ La actividad de los anillos aórticos se estabilizaron en las cámaras durante 1 hora, haciendo 4 lavados cada 15 minutos con solución de Krebs, antes de iniciar la curva a fenilefrina.

**Tabla 4.** Composición de la solución fisiológica Krebs

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



**Figura 18.** Esquema de la preparación de anillos aislados de aorta en baño de órgano <sup>25</sup>

#### Realización de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina

- ✎ Al finalizar el período de estabilización, se realizó la curva concentración-efecto a fenilefrina en solución de Krebs que correspondía a una concentración de  $10^{-9}$  M para contraer a los anillos aórticos.
- ✎ Después se administró fenilefrina en concentraciones de  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$   $10^{-5}$  hasta  $10^{-4}$  M.
- ✎ Se repitió éste procedimiento hasta obtener  $n=6$  para cada porción de la aorta (torácica y abdominal).

#### Realización de la Curva Concentración-Efecto a Fenilefrina en presencia de Compuestos LQM300`s

- ✎ Para la realización de las Curvas Concentración-Respuesta de los compuestos LQM301, LQM318, LQM319, LQM320 y LQM322, se elaboró el mismo procedimiento hasta la hora de estabilización.

- ✎ Al finalizar el período de estabilización, se administró 0.1 mL del compuesto LQM 300's a una concentración de  $10^{-7}$  M y se incubó 15 minutos en cada cámara.
- ✎ Al terminar el periodo de incubación se realizó la curva concentración-efecto a fenilefrina en concentraciones graduales ( $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-4}$  M)
- ✎ La contracción para cada concentración de fenilefrina en presencia y ausencia de los compuestos fueron registradas en el equipo utilizando el software ACQ 381 KNOWLEDGE.
- ✎ Éste procedimiento se repitió hasta obtener n=6 tanto para la aorta torácica como abdominal.

## 6. RESULTADOS

Para determinar el efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos y Morfolínicos en anillo de aorta de rata normotensa, decidimos ocupar a la Fenilefrina (agonista adrenérgico  $\alpha_1$ ) como el fármaco que provocó una vasoconstricción en la preparación, lo que será observado por un incremento en la tensión (g).

Al realizar una Curva Concentración-Efecto a la Fenilefrina desde la concentración  $10^{-9}$  a  $10^{-4}$  M, obtendremos incrementos graduales de la contracción del anillo de aorta (abdominal o torácica) lo que dio como resultado la construcción de una Curva Gradual Concentración-Efecto al agonista  $\alpha_1$ .

Ahora bien para determinar el efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301, sobre la vasoconstricción a la Fenilefrina, se requirió de adicionarlos en una concentración de  $10^{-7}$  M en 0.1 mL antes de llevar a cabo la Curva Concentración-Efecto a la Fenilefrina en anillo de aorta torácica y abdominal. (**Véase Figs 19A-28B**).

Obsérvese que los compuestos LQM301 y LQM320 fueron capaces de disminuir la contracción provocada por la Fenilefrina en anillo de aorta torácica, mientras que el LQM319 también provocó una disminución en la contracción pero no de manera significativa.

El LQM318 no redujo significativamente el efecto a Fenilefrina y el LQM322 tiende a provocar un aumento en la contracción.

Por otro lado, el efecto de LQM301, LQM319, LQM320 y LQM322, reducen significativamente la contracción del músculo liso vascular de anillo de aorta abdominal. El LQM318 no presentó efecto sobre la vasoconstricción producida por Fenilefrina. (**Véase Figs 24A-28A**).

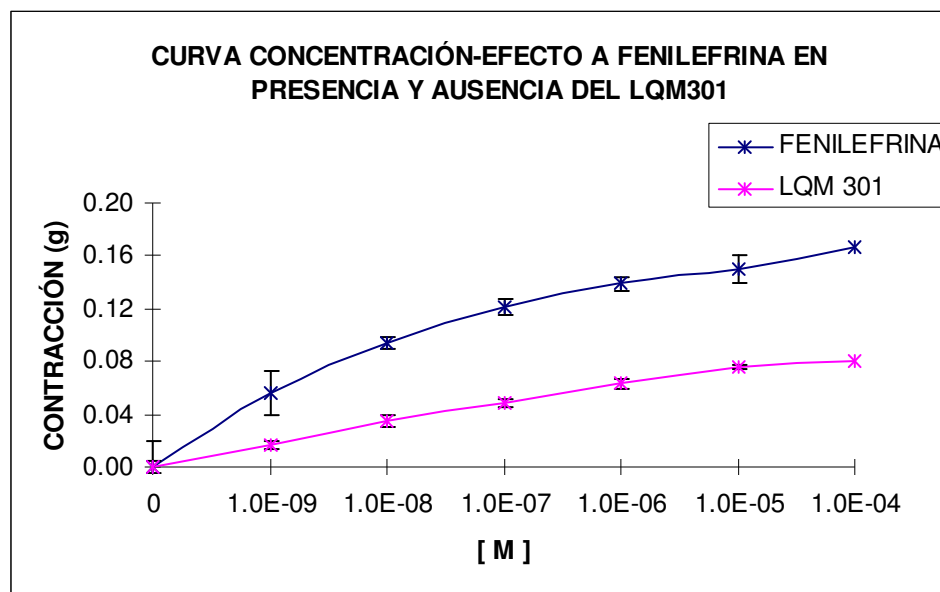
Estos resultados nos dicen que los compuestos de la serie LQM300's son capaces de evitar la contracción dada por el agonista adrenérgico  $\alpha_1$ .

Las Figuras **19B-28B** nos señala el tipo de antagonismo que provoca el LQM301, LQM319, LQM320 y LQM322 en anillo de aorta torácica y abdominal (con excepción de LQM322 en aorta torácica).

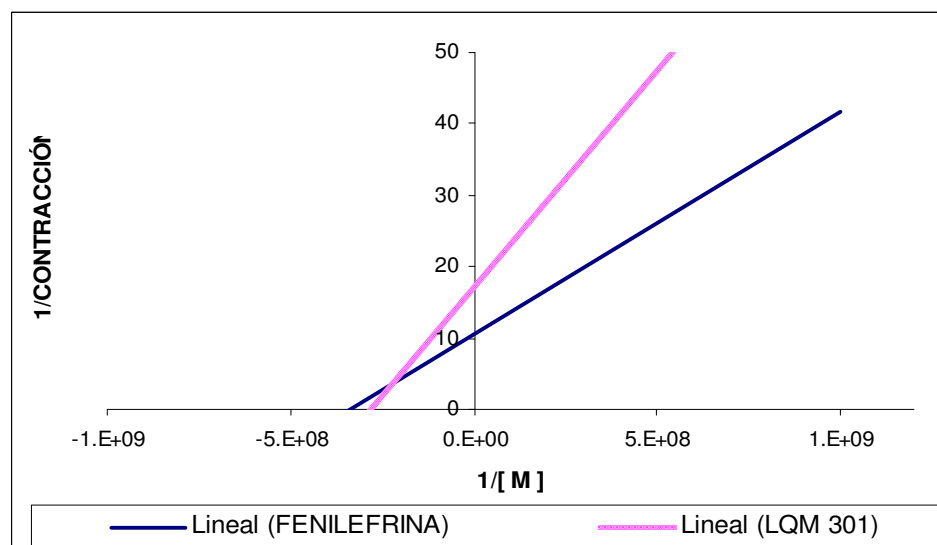
Véase que la  $K_D$  no varía significativamente (**Tablas 5 y 6**) pero si el efecto máximo se ve reducido (**Tablas 7 y 8**) por parte de los compuestos prueba. Entonces se trata de un antagonismo de tipo no competitivo. (**Véase Figs(29-38)**). Se muestran los resultados de las Curvas a Fenilefrina en ausencia y presencia de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301, expresados en Concentración (M) vs % de Efecto, donde observamos las mismas tendencias con respecto a las Curvas Concentración (M) vs Efecto de contracción (g).

6.1. Determinación del Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta a fenilefrina en aorta torácica de rata Wistar normotensa

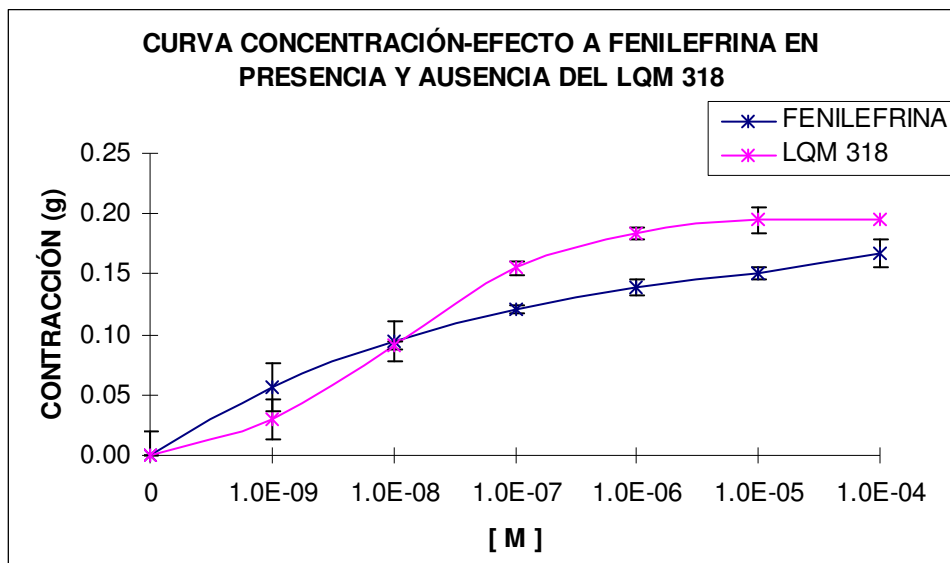
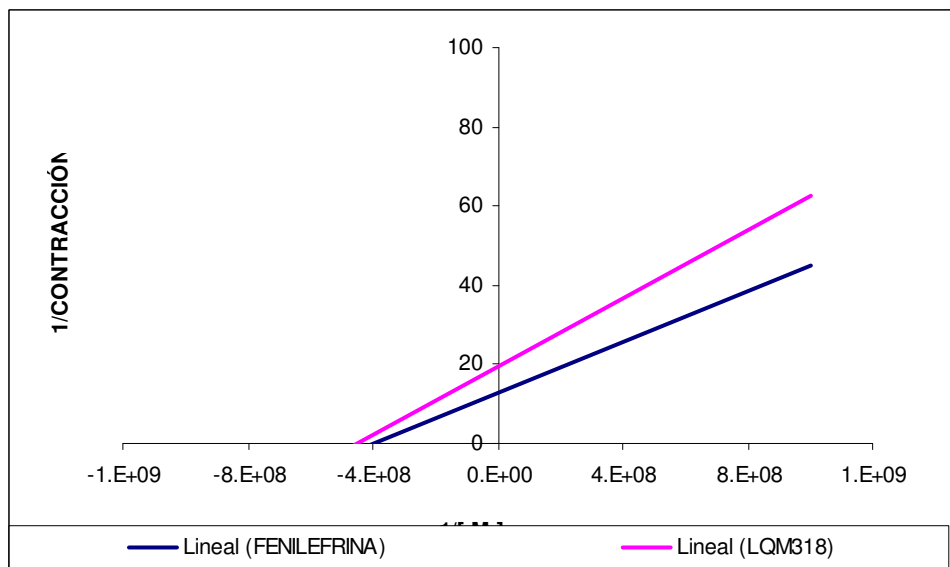
A



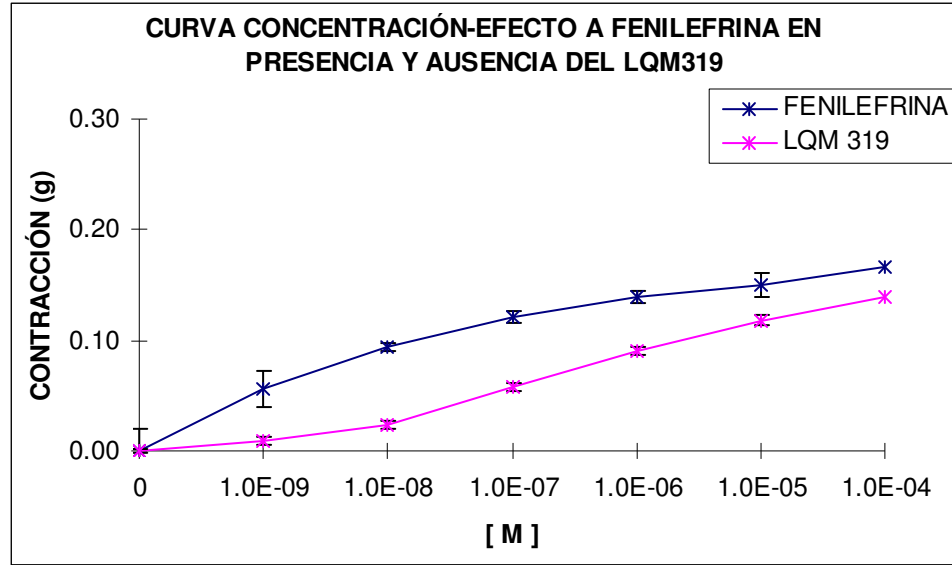
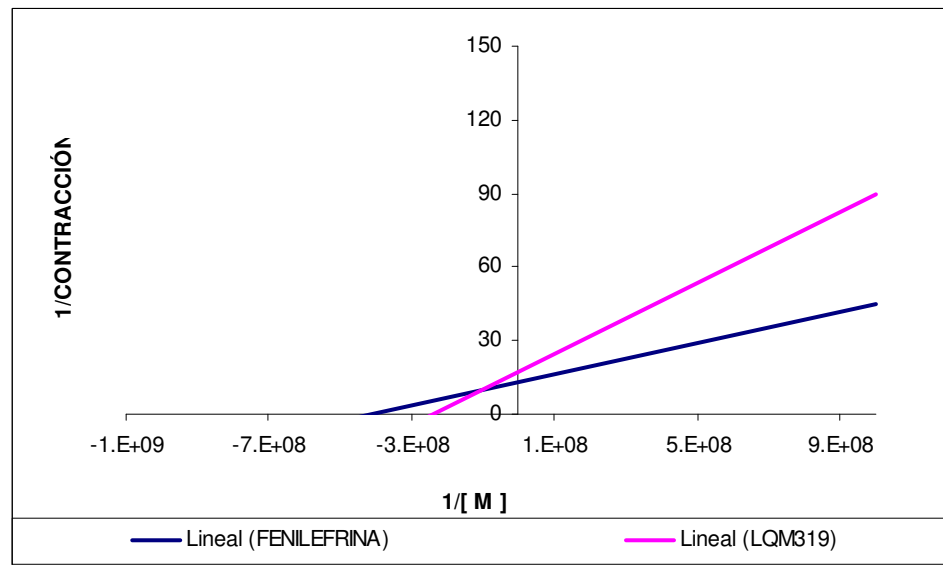
B



**Figura 19. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y presencia del LQM301 (línea rosa) en el modelo in vitro de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM301. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$ .

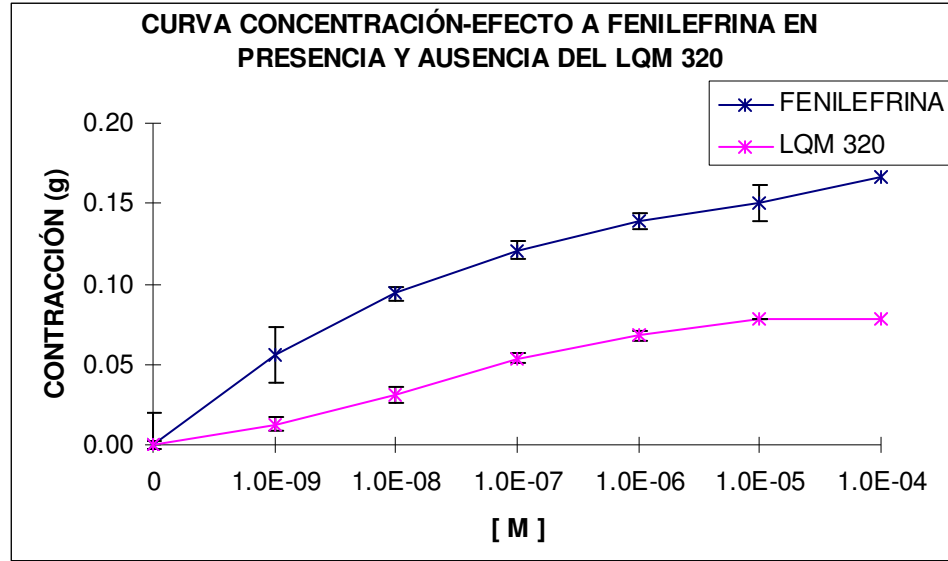
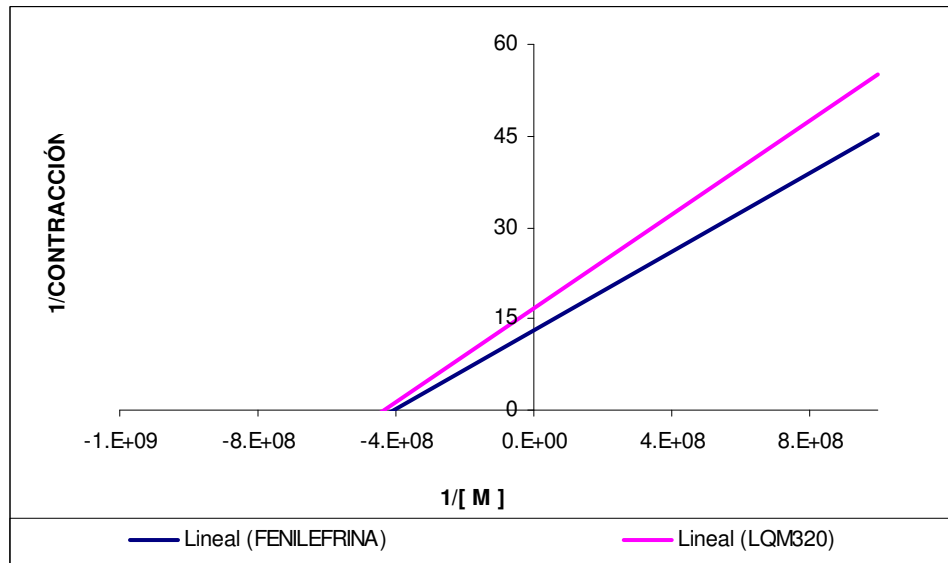
**A****B**

**Figura 20. A.** Curvas Concentración-Efecto a fenilefrina en ausencia (línea azul) y presencia del LQM318 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa. Los resultados no fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM318. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Ambas pruebas estadísticas confirman que este compuesto no presentó efecto sobre la actividad contráctil a Fenilefrina. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$ .

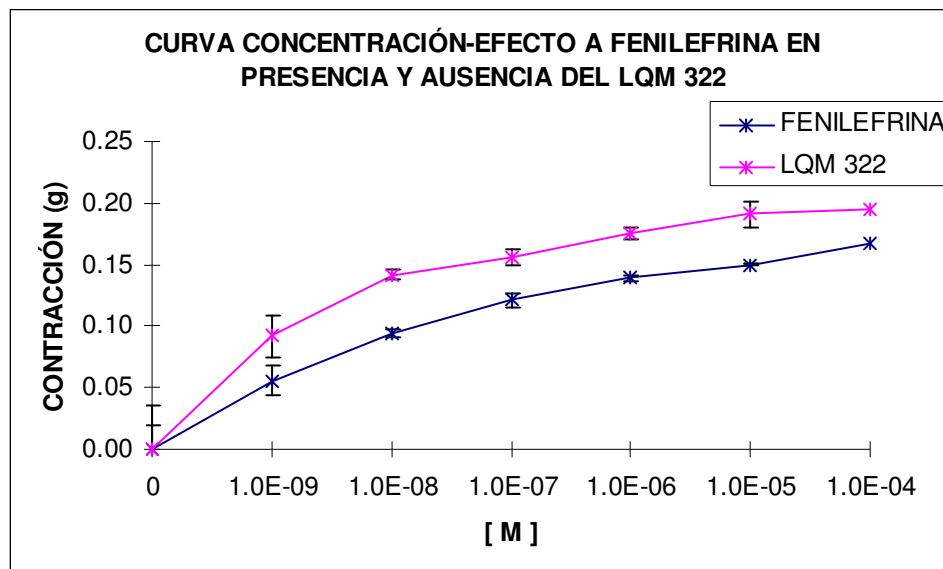
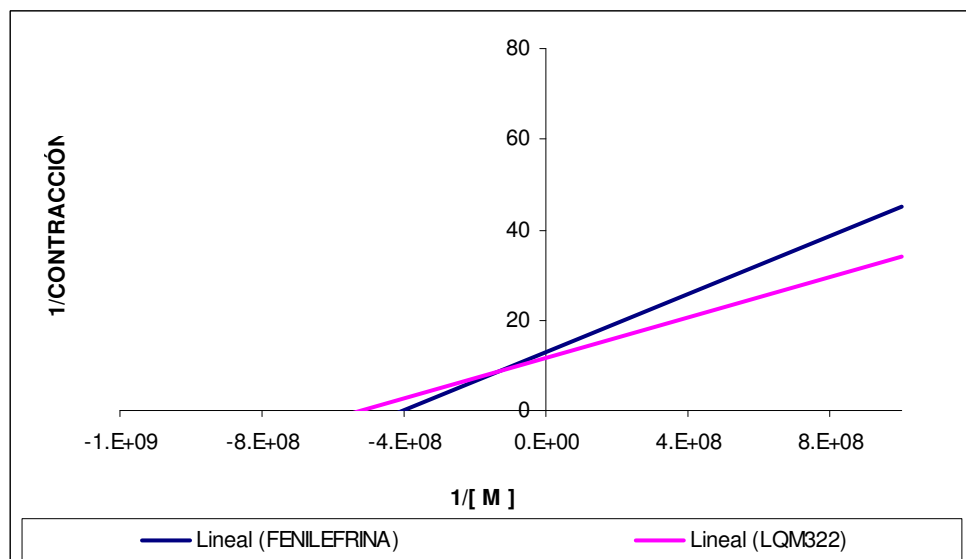
**A****B**

**Figura 21. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y presencia del LQM319 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillo de aorta torácica de rata Wistar normotensa. Los resultados no fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM319. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$ .



**A****B**

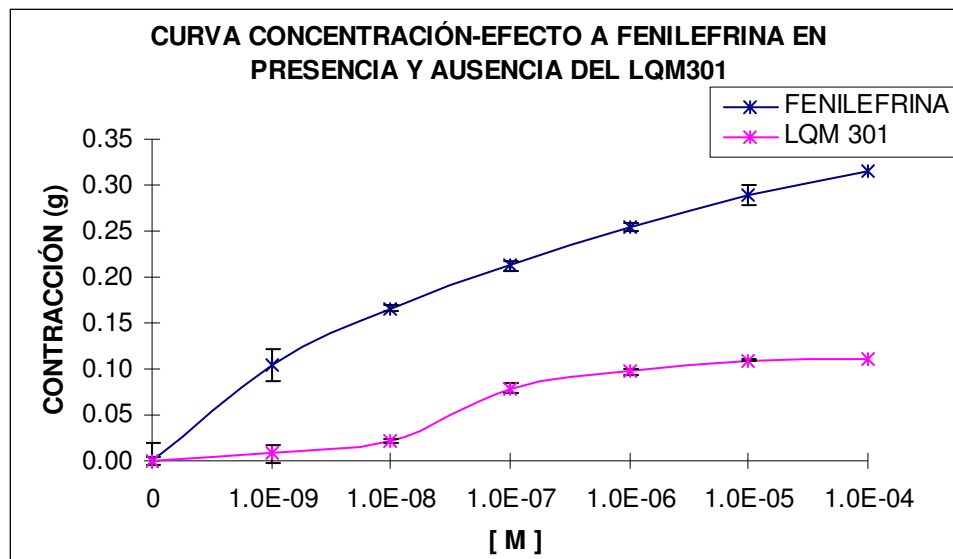
**Figura 22. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM320 (línea rosa) en el modelo in vitro de anillo de torácica de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM320. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$ .

**A****B**

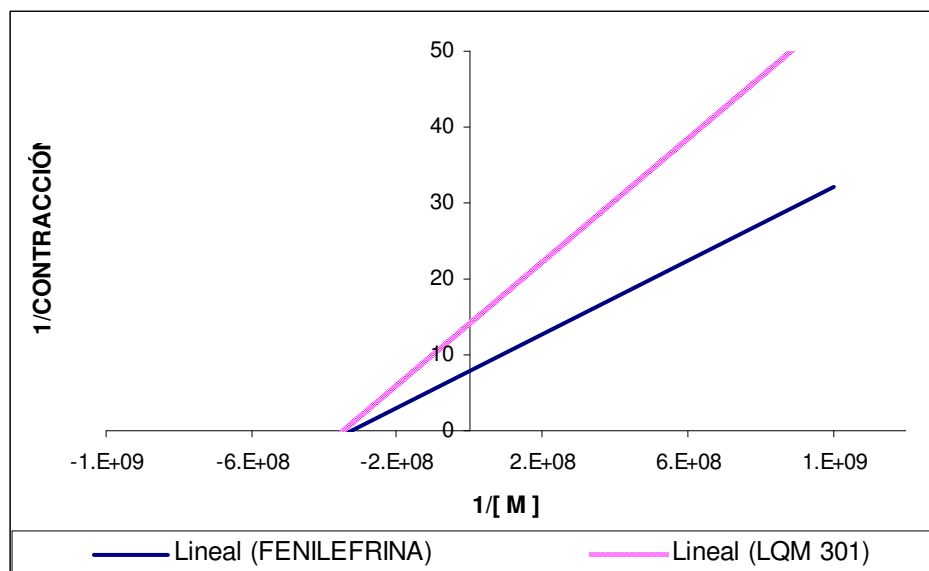
**Figura 23. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM322 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillo de torácica de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron no significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM322. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos una tendencia de aumentar la contracción por parte del LQM322. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$

6.2. Determinación del Efecto de los Compuestos Tiorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta a fenilefrina en aorta abdominal de rata Wistar normotensa

A

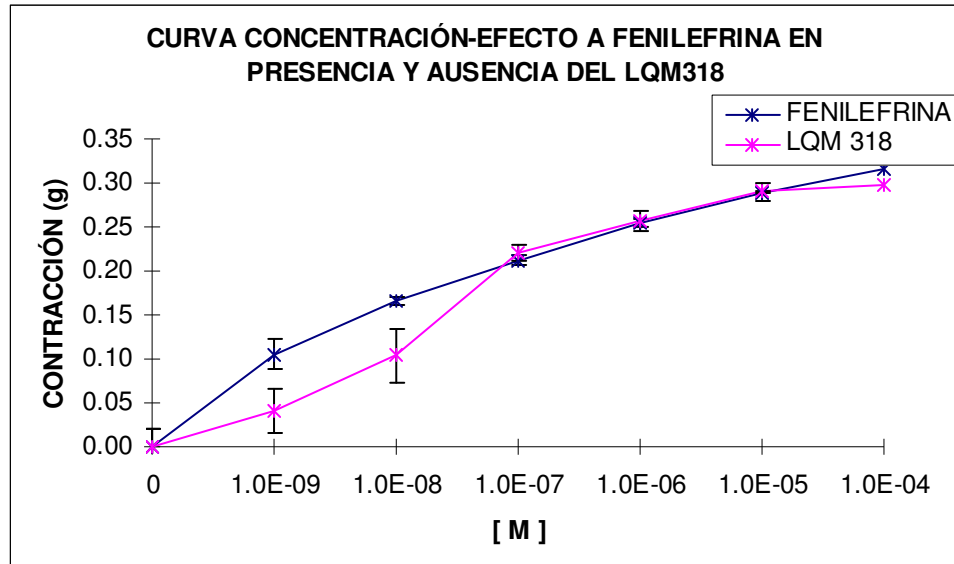


B

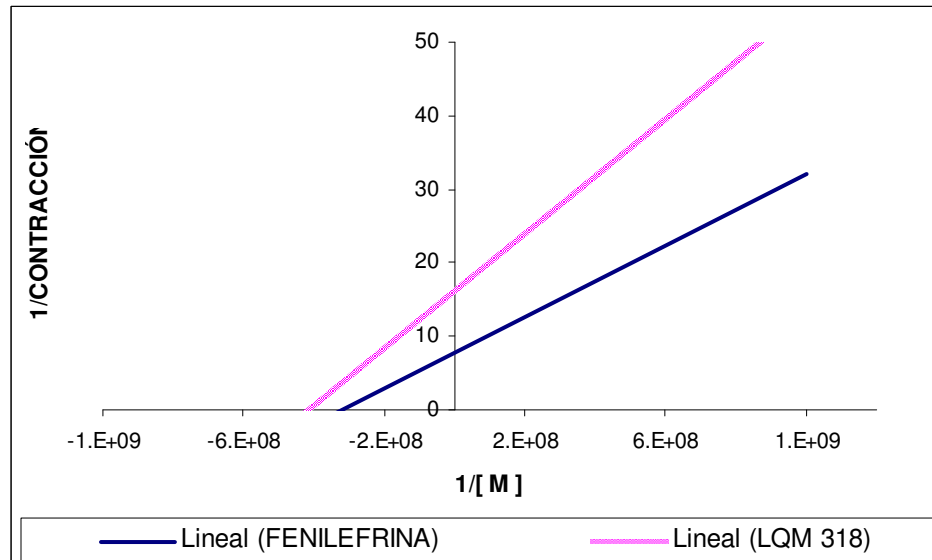


**Figura 24. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM301 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM301. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$

A

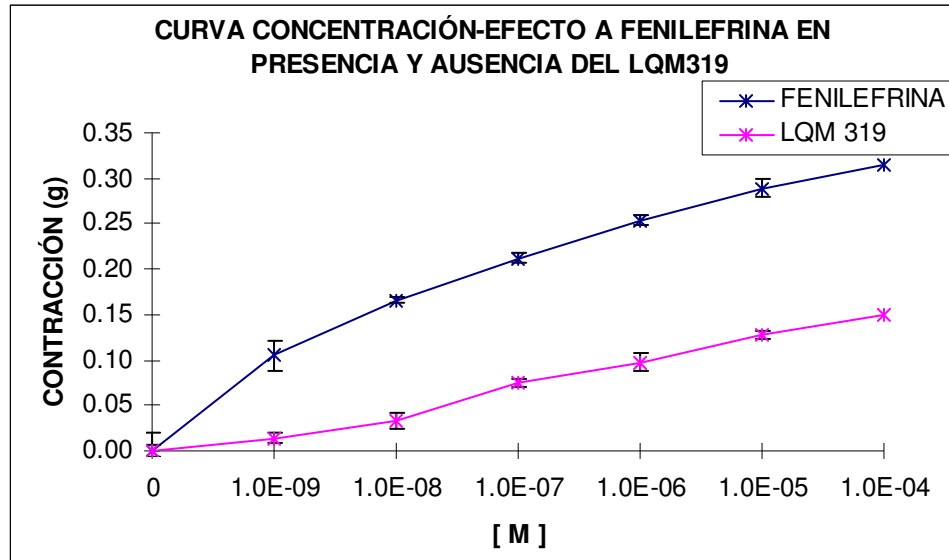


B

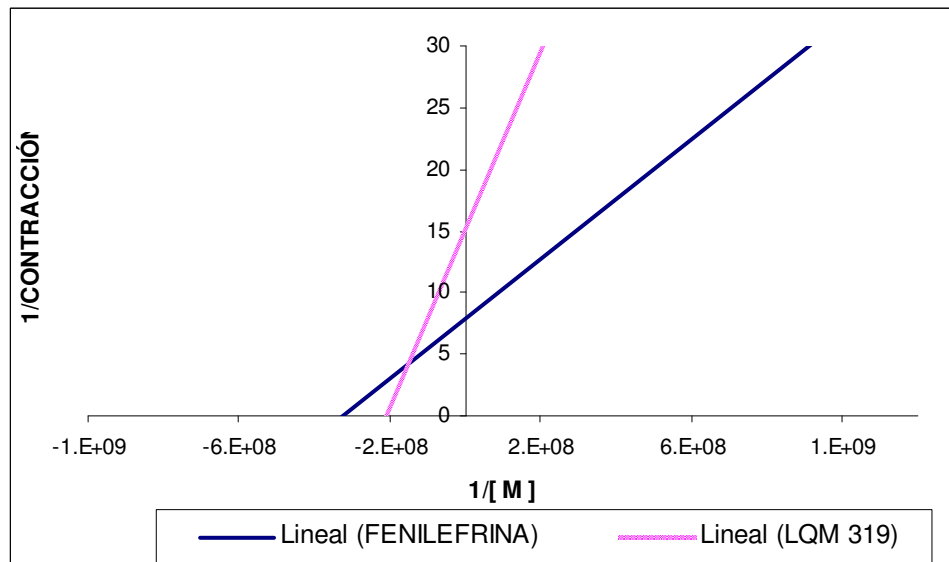


**Figura 25. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM318 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron no significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM318. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos que este compuesto no provocó un antagonismo. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$

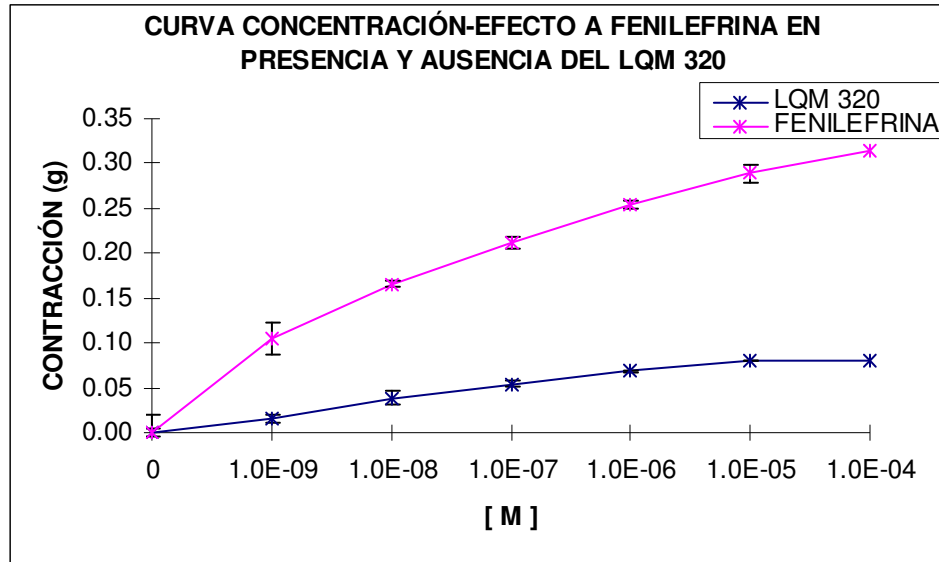
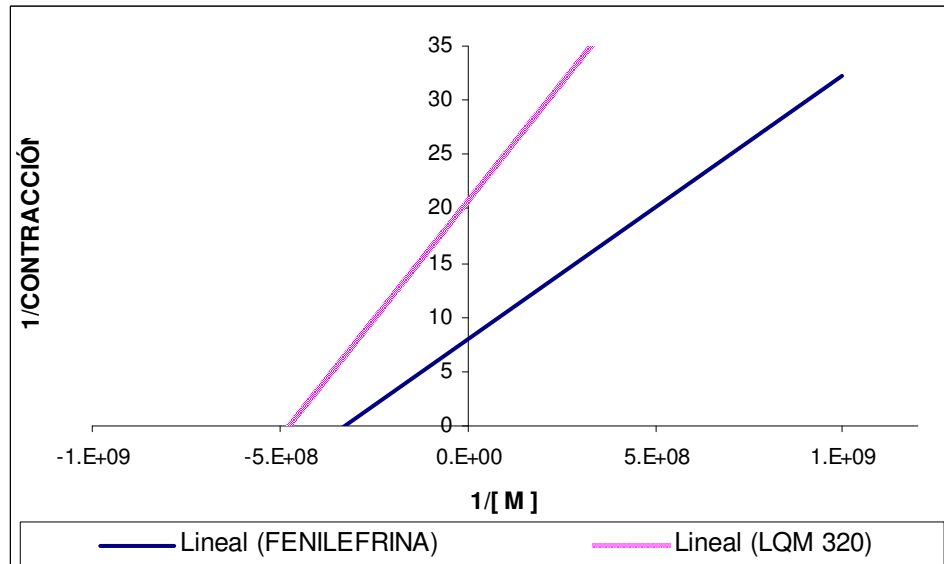
A



B

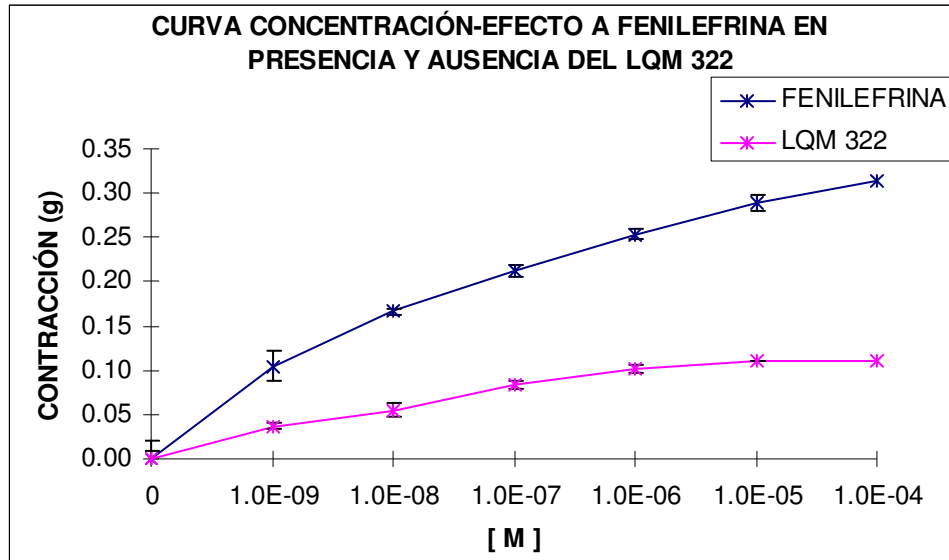


**Figura 26. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM319 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM319. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$

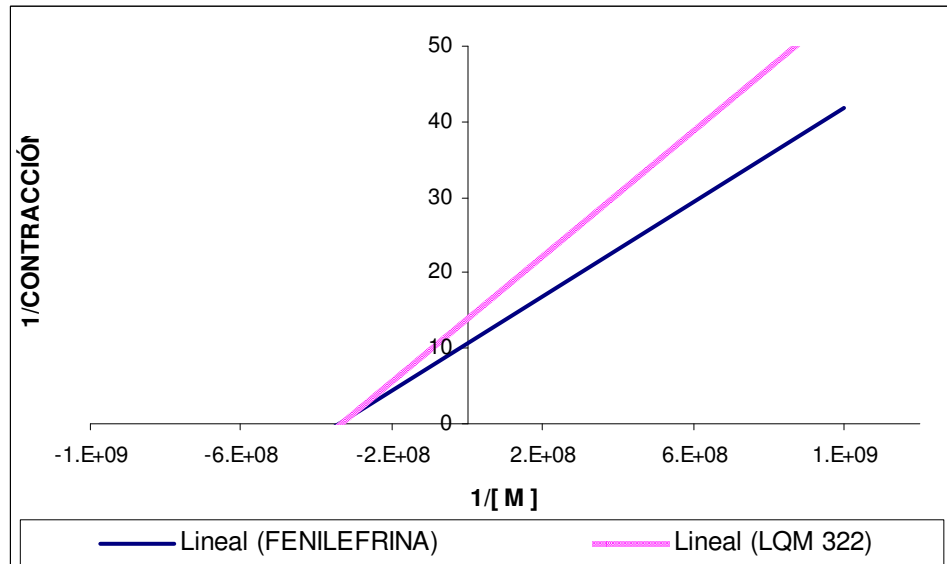
**A****B**

**Figura 27. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y en presencia del LQM320 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillo de aorta abdominal de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de la Curva-Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM320. En este caso la constante de afinidad no varío significativamente. Por lo que observamos un antagonismo de tipo no competitivo. La significancia de la  $K_D$  se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$

A



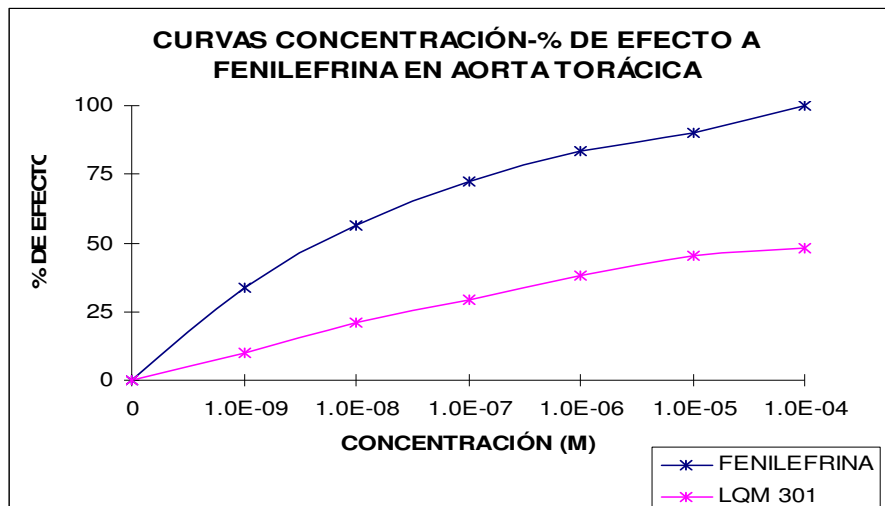
B



**Figura 28. A.** Curvas Concentración-Efecto a Fenilefrina en ausencia (línea azul) y presencia del compuesto LQM322 (línea rosa) en el modelo *in vitro* de anillos de aorta abdominal de rata Wistar normotensa. Los resultados fueron significativos y corresponden al valor promedio  $\pm$ error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*. **B.** Gráfica de doble recíproca de las Curvas-Concentración-Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM322. En este caso la constante de afinidad no varió significativamente, pero se observa una tendencia del LQM322 a provocar un antagonismo de tipo competitivo. La significancia se determinó mediante la prueba de la *t* de Student para datos no pareados con una significancia de  $*p<0.05$ .

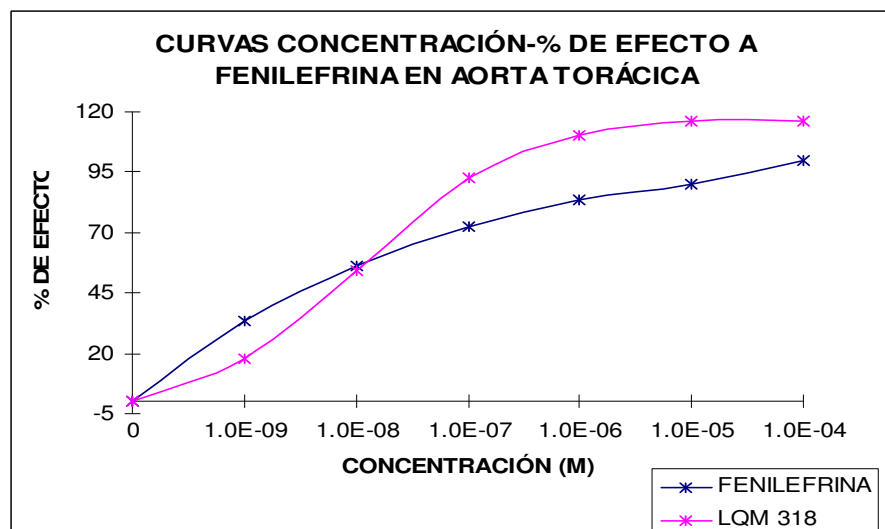
6.3. Determinación del % de Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta a fenilefrina en aorta torácica de rata Wistar normotensa

LQM 301



**Figura 29.** Curvas Concentración-% de Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM301 en aorta torácica de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM301. Obsérvese que el LQM301 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

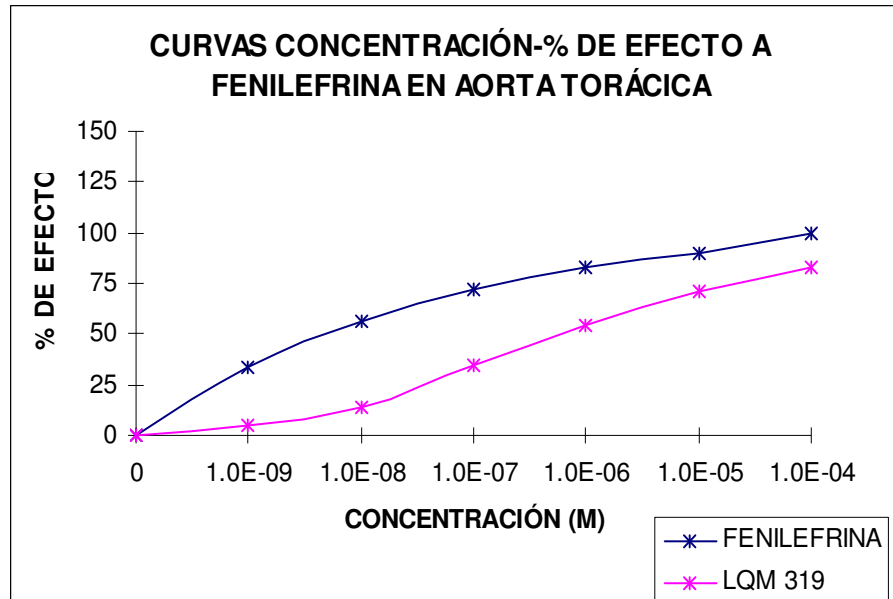
LQM 318



**Figura 30.** Curvas Concentración-% de Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM318 en aorta torácica de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM318. Obsérvese que el LQM318 incrementa la contracción del músculo liso vascular de la aorta, pero no significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

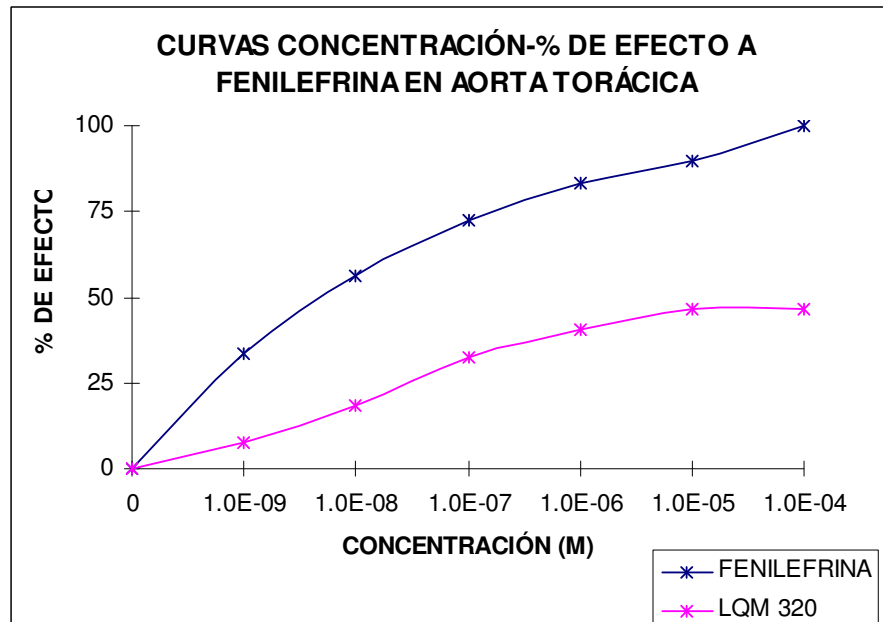


## LQM 319



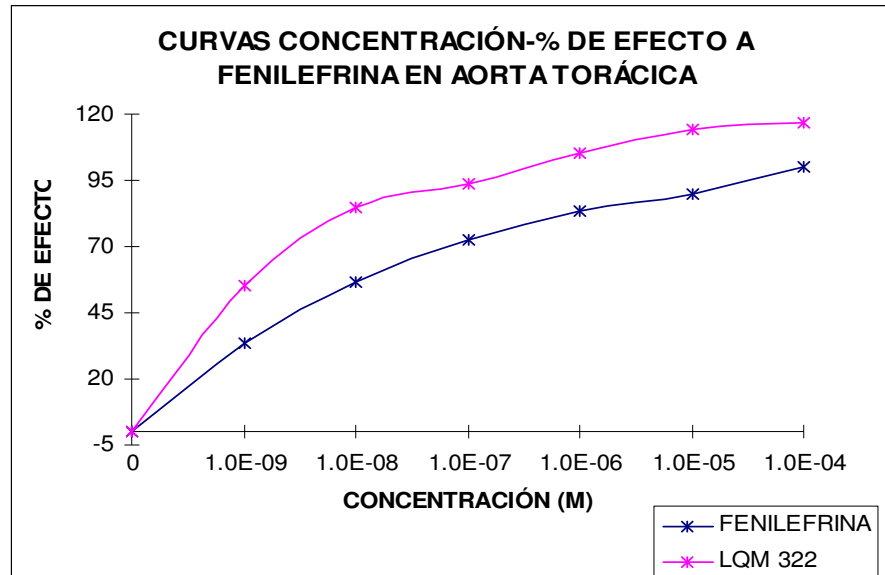
**Figura 31.** Curvas Concentración-% de Efecto a Fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM319 en aorta torácica de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM319. Obsérvese que el LQM319 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta pero no significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

## LQM 320



**Figura 32.** Curvas Concentración-% de Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM320 en aorta torácica de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM320. Obsérvese que el LQM320 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

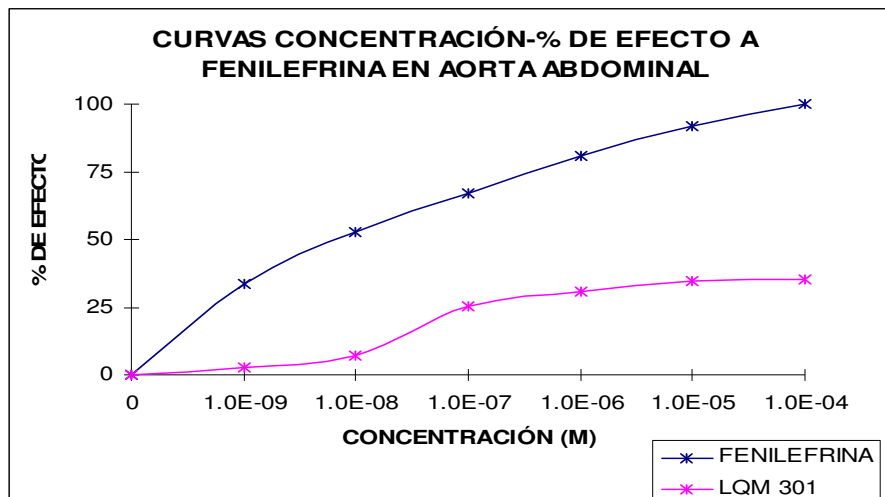
## LQM 322



**Figura 33.** Curvas Concentración-% de Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM322 en aorta torácica de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el % de contracción a Fenilefrina en ausencia del compuesto LQM322 y la línea rosa muestra el % de contracción a Fenilefrina en presencia de éste último. Obsérvese que el LQM322 incrementa la contracción del músculo liso vascular de la aorta, pero no significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

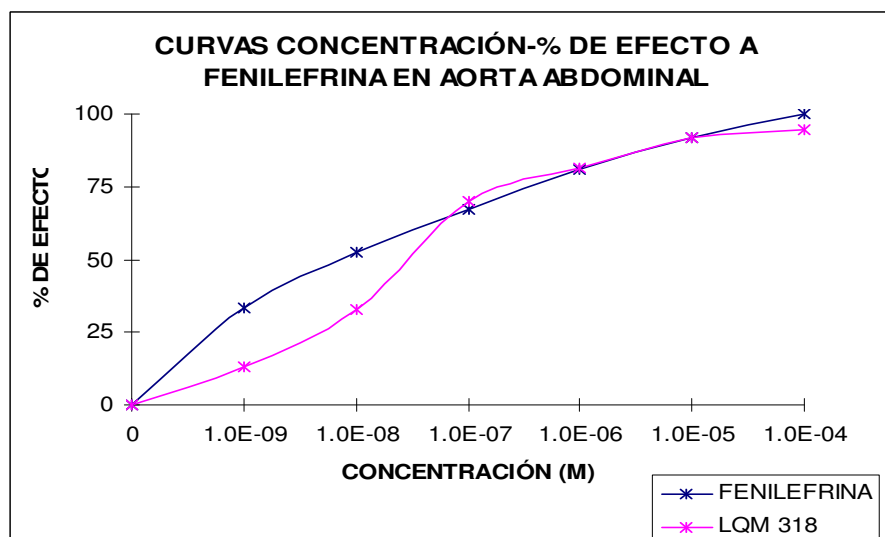
6.4. Determinación del % de Efecto de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 sobre la respuesta a fenilefrina en aorta abdominal de rata Wistar normotensa

LQM 301



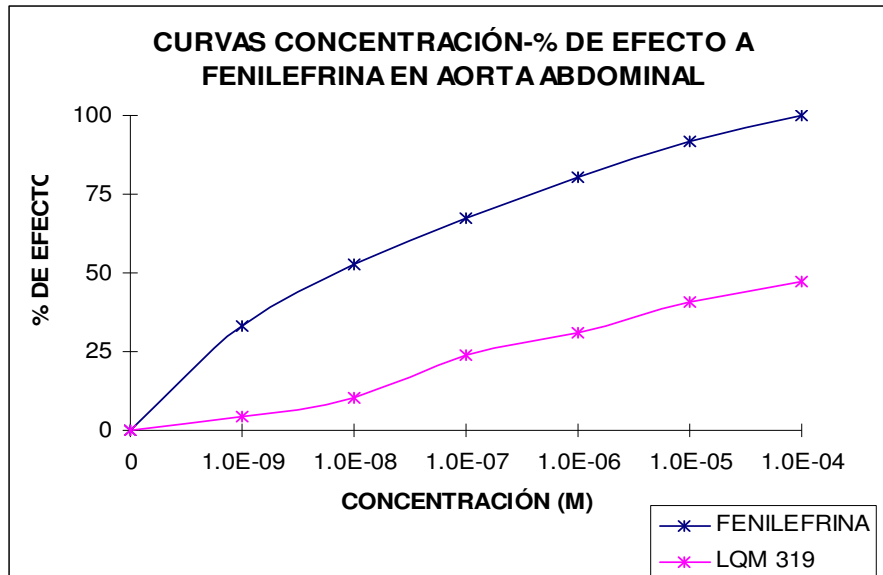
**Figura 34.** Curvas Concentración-% de Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM301 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM301. Obsérvese que el LQM301 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

LQM 318



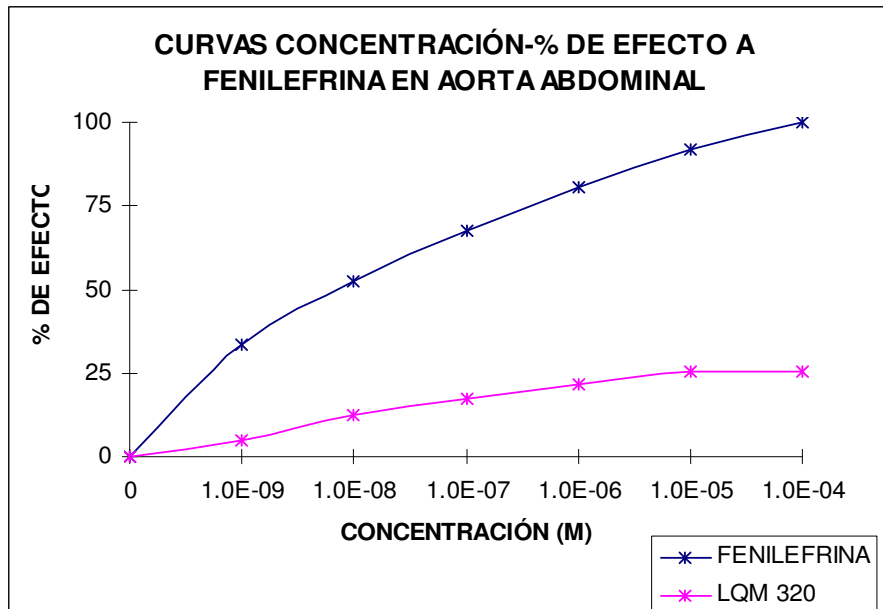
**Figura 35.** Curvas Concentración-% de Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM318 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM318. Obsérvese que el LQM318 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta pero no significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

### LQM 319



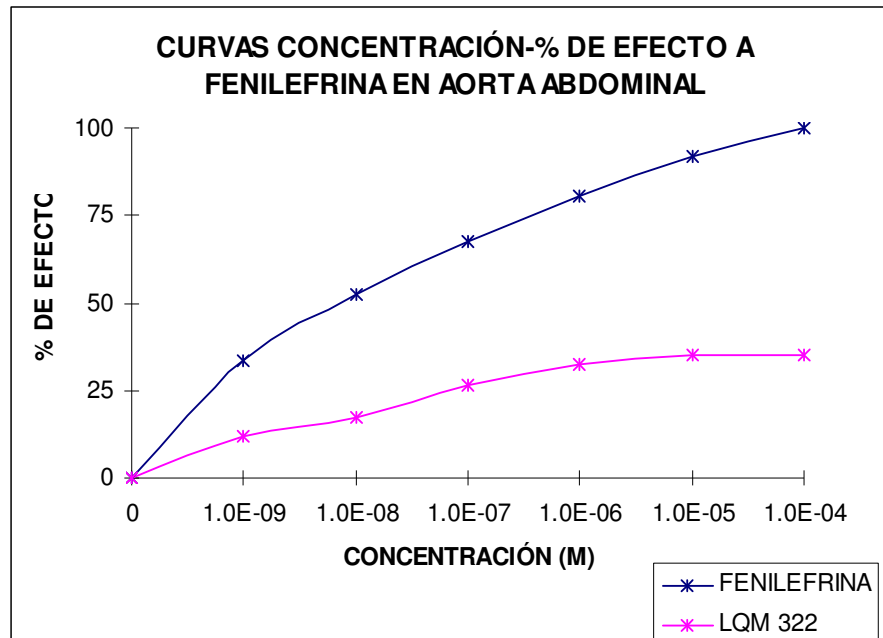
**Figura 36.** Curvas Concentración-% de Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM319 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM319. Obsérvese que el LQM319 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

### LQM 320



**Figura 37.** Curvas Concentración-% de Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM320 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM320. Obsérvese que el LQM320 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

## LQM 322



**Figura 38.** Curvas Concentración-% de Efecto a fenilefrina en ausencia y presencia del compuesto LQM322 en aorta abdominal de rata Wistar normotensa. La línea azul muestra el efecto a la fenilefrina y la línea rosa el efecto de la fenilefrina + LQM322. Obsérvese que el LQM322 disminuye la contracción del músculo liso vascular de la aorta significativamente. Los resultados corresponden al valor promedio  $\pm$  error estándar con una  $n=6$ , comparando ambas curvas mediante ANOVA de un factor con una  $p=0.05$ , *F-Fisher*.

**6.5. Determinación de la Constante de Afinidad ( $K_D$ ) de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 por el Método Doble Recíproca en aorta torácica de rata Wistar normotensa**

**Tabla 6.** Afinidad para aorta torácica en ratas normotensas

| COMPUESTO   | Aorta torácica       |
|-------------|----------------------|
|             | $K_D$ ( $10^{-9}$ M) |
| Fenilefrina | $2.1 \pm 0.55$       |
| LQM 301     | $2.9 \pm 0.80$       |
| LQM 318     | $1.8 \pm 0.69$       |
| LQM319      | $2.3 \pm 0.76$       |
| LQM 320     | $2.7 \pm 0.96$       |
| LQM 322     | $1.4 \pm 0.27$       |

**6.6. Determinación de la Constante de Afinidad ( $K_D$ ) de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 por el Método Doble Recíproca en aorta abdominal de rata Wistar normotensa**

**Tabla 7.** Afinidad para aorta abdominal en ratas normotensas

| COMPUESTO   | Aorta abdominal      |
|-------------|----------------------|
|             | $K_D$ ( $10^{-9}$ M) |
| Fenilefrina | $2.0 \pm 0.89$       |
| LQM 301     | $1.8 \pm 0.73$       |
| LQM 318     | $2.5 \pm 1.15$       |
| LQM319      | $3.5 \pm 1.20$       |
| LQM 320     | $1.9 \pm 1.05$       |
| LQM 322     | $1.3 \pm 0.41$       |

**6.7. Determinación del Efecto Máximo ( $E_{m\acute{a}x}$ ) y la Concentración Efectiva 50 ( $CE_{50}$ ) para aorta torácica y abdominal**

**Tabla 8.** % de Efecto para aorta torácica de ratas normotensas, tomando a la Fenilefrina como referencia.  $P < 0.05^*$

| COMPUESTO   | Aorta torácica |
|-------------|----------------|
|             | % Efecto       |
| Fenilefrina | 100.0          |
| LQM 301     | 47.9*          |
| LQM 318     | 116.0          |
| LQM319      | 83.2           |
| LQM 320     | 46.7*          |
| LQM 322     | 116.7          |

**Tabla 9.** % de Efecto para aorta abdominal de ratas normotensas, tomando a la Fenilefrina como referencia.  $P < 0.05^*$

| COMPUESTO   | Aorta abdominal |
|-------------|-----------------|
|             | % Efecto        |
| Fenilefrina | 100.0           |
| LQM 301     | 34.9*           |
| LQM 318     | 94.2            |
| LQM319      | 47.3*           |
| LQM 320     | 25.4*           |
| LQM 322     | 35.2*           |

**Tabla 10.** Concentración Efectiva 50 ( $CE_{50}$ ) para aorta torácica de ratas normotensas.

| COMPUESTO   | Aorta torácica |
|-------------|----------------|
|             | $CE_{50}$      |
| Fenilefrina | $2.1 \pm 0.55$ |
| LQM 301     | $3.0 \pm 0.80$ |
| LQM 318     | $1.8 \pm 0.69$ |
| LQM319      | $2.3 \pm 0.76$ |
| LQM 320     | $2.7 \pm 0.96$ |
| LQM 322     | $1.4 \pm 0.27$ |

**Tabla 11.** Concentración Efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) para aorta abdominal de ratas normotensas.

| COMPUESTO   | Aorta abdominal  |
|-------------|------------------|
|             | CE <sub>50</sub> |
| Fenilefrina | 2.0 ± 0.89       |
| LQM 301     | 1.8 ± 0.73       |
| LQM 318     | 2.6 ± 1.15       |
| LQM319      | 3.5 ± 1.20       |
| LQM 320     | 1.9 ± 1.05       |
| LQM 322     | 1.3 ± 0.41       |



## 7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Conocer el mecanismo de acción de los fármacos, más que el simple enunciado de sus efectos en el organismo entero, permite su uso terapéutico racional, su empleo en el tratamiento de nuevas entidades patológicas, y el diseño de nuevos fármacos con ventajas sobre los ya conocidos. Un aspecto importante ha sido el establecer una relación entre la estructura química y la actividad biológica y es así que aunque se han registrado grandes avances en el campo de la química medicinal, aún existen muchas afecciones humanas como el cáncer, las infecciones virales, los trastornos mentales y las enfermedades cardiovasculares que demandan nuevos fármacos y requieren nuevos enfoques para tratarlas y prevenirlas.<sup>4, 22</sup>

Los métodos encaminados a estudiar la interacción fármaco-receptor a través de la respuesta biológica se realizan *in vivo* en un organismo completo o *in vitro* sobre órganos aislados. El uso de animales en la experimentación científica es de gran utilidad para el estudio de múltiples problemas médico-biológicos. La metodología farmacológica está basada precisamente en la observación de hechos experimentales sobre organismos vivos, para lo cual el experimentador se vale de técnicas fisiológicas y bioquímicas, que aportan datos cualitativos o cuantitativos sobre la acción de los medicamentos.<sup>29, 36</sup>

En la actualidad, el gran avance alcanzado en los métodos de registro y valoración por una parte, y lo sofisticado de los aparatos de investigación por otra, han permitido el estudio de los mecanismos de acción de los fármacos a nivel molecular.<sup>36</sup>

Por lo anterior y debido a que las enfermedades cardiovasculares corresponden al 26% de la mortalidad en México y que las personas con hipertensión arterial representan el 30% de la población, surgió el interés en un equipo multidisciplinario de la Facultad de Estudios Superiores "Cuautitlán", a partir de estudios realizados en los años 70's de la molécula Changrolina en China de seguir con la línea de investigación y así se logró sintetizar y posteriormente caracterizar a los compuestos de la serie LQM300's.

Al sustentar el criterio de que la actividad farmacológica se realiza a nivel molecular, debemos considerar que los efectos de los fármacos son consecuencia de su interacción con componentes macromoleculares del organismo (receptores); dichas interacciones los modifican y propagan la señal resultante a la célula. Esta propagación se logra, ya sea por un efecto intracelular directo o promoviendo la síntesis o liberación de otra molécula reguladora o segundo mensajero.<sup>22, 23, 25</sup>

La activación de receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  a través de proteínas G, produce una activación de la fosfolipasa C, una enzima ligada a la membrana que incrementa la tasa de degradación del fosfatidilinositol (4,5) bifosfato, que se convierte en diacilglicerol (DAG) e inositol (1,4,5) trifosfato

(IP<sub>3</sub>). El DAG y el IP<sub>3</sub> actúan como segundos mensajeros. El IP<sub>3</sub> se fija a la membrana del retículo endoplásmico, abriendo los canales de Ca<sup>2+</sup> e incrementando su concentración intracelular. Este aumento provoca contracción del músculo liso vascular. Mientras que el DAG, que permanece asociado a la membrana, provoca el desplazamiento de la PKC, la cual también participa en la contracción del músculo liso.<sup>27</sup>

Se utilizó aorta para el experimento en baño de órgano aislado, porque además de ser la arteria más importante del cuerpo, tiene respuesta específica a la Fenilefrina, debido a que es un tejido rico en receptores  $\alpha_1$ .

Para caracterizar el efecto de los compuestos LQM300's y realizar las Curvas Concentración-Efecto utilizamos a la Fenilefrina, ya que actúa como un agonista adrenérgico  $\alpha_1$ , el cual reconoce y reacciona con el receptor provocando una serie de cambios intracelulares que dan como resultado la vasoconstricción.

La Fenilefrina es un derivado de la  $\beta$ -feniletilamina, cuenta en su estructura química con un grupo amino pero la fijación de radicales alquilados sobre el nitrógeno altera la actividad y la afinidad, el núcleo bencénico se une a una superficie hidrófoba y los grupos OH en posición 3 y 4, aumentan la afinidad pero no son necesarios para la actividad intrínseca, y finalmente el OH en la cadena lateral es retenido a nivel del receptor lo que aumenta la afinidad y adaptación al receptor. Por estas características la Fenilefrina se une al receptor adrenérgico  $\alpha_1$  e imita los efectos de los compuestos reguladores endógenos como la noradrenalina y la adrenalina.<sup>29</sup>

Aunque la unión puede medirse directamente, lo que suele interesar es una respuesta biológica, como un aumento en la contracción o relajación de una tira de músculo liso (en éste caso aorta torácica y abdominal) en un baño para órganos; ésta forma de pensar se apoya en el carácter cuantitativo del efecto de los fármacos: la intensidad de la actividad farmacológica es gradual; se puede medir y apreciar mediante una escala y se encuentra una relación entre la dosis administrada y el efecto obtenido, esto suele representarse gráficamente en forma de una Curva Concentración-Efecto o Dosis-Respuesta.<sup>9, 23</sup>

Estas curvas nos permiten calcular la respuesta máxima que puede producir el fármaco ( $E_{m\acute{a}x}$  o  $R_{m\acute{a}x}$ ) y la concentración o dosis necesaria para originar la mitad de la respuesta máxima ( $CE_{50}$  o  $DE_{50}$ ), parámetros muy útiles para comparar la potencia de diferentes fármacos con efectos cualitativos similares ( **Véase Tablas 9 y 10**).<sup>9</sup>

El objetivo de éste trabajo fue evaluar si los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301, tienen actividad vasodilatadora, y si ésta se debe a que se unen a los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , produciendo un antagonismo a la Fenilefrina. Es decir, que se unan a los receptores y ejerzan su efecto al inhibir la acción de la Fenilefrina,

entonces diremos que se trata de antagonistas, en caso contrario, se dirá que el compuesto potencia el efecto vasoconstrictor de la Fenilefrina.

En las **Figs 19A** y **22A**, podemos observar que los compuestos LQM301 y LQM320 provocaron una disminución en la contracción en anillo de aorta torácica, y que este efecto es significativo mientras que el LQM319 también produjo una disminución en la contracción de aorta torácica pero no de manera significativa (**Fig 21A**). El LQM318 no redujo significativamente el efecto a Fenilefrina y el LQM322 tiende a provocar un aumento en la contracción y esto lo podemos ver en las **Figs 20A** y **23A**.

Por otra parte, el efecto que producen los compuestos LQM301, LQM319, LQM320 y LQM322, en anillo de aorta abdominal es que reducen significativamente la contracción del músculo liso vascular. Estos resultados apuntan a que los compuestos de la serie LQM300's son capaces de evitar la contracción dada por la Fenilefrina. Mientras que el LQM318 no presentó efecto sobre la vasoconstricción producida por Fenilefrina. (**Véase Figs 24A-28A**).

Es trascendental el estudio en aorta porque además de ser la arteria de mayor calibre tiene como principal función transportar la sangre a los órganos. La aorta torácica es la que recibe mayor presión desde el corazón al ubicarse antes que la abdominal. Y la aorta abdominal, es importante porque es la que irriga los órganos. De tal manera que por sus propiedades elásticas tanto la aorta torácica como la abdominal son reactivas a la contracción y dilatación.

Las Curvas Concentración-Efecto no pueden utilizarse para medir la afinidad de los fármacos agonistas por sus receptores, ya que la respuesta fisiológica producida no es, en general, directamente proporcional al grado de ocupación. Es este el motivo por el cual los datos son tratados por el Método de Doble Recíproca, para linealizar la curva y poder calcular las constantes de afinidad ( $K_D$ ) y así dilucidar el tipo de antagonismo que ejercen los compuestos a evaluar.

Como sabemos el antagonismo competitivo se caracteriza por un aumento en la  $K_D$  (disminuye la afinidad del fármaco por el receptor) pero no se modifica la  $R_{máx}$ . Por el contrario, en el antagonismo no competitivo disminuye la  $R_{máx}$  y no se modifica la  $K_D$  (no se modifica la afinidad del fármaco por el receptor). En las **Figs 19B**, **21B**, **22B** y **23B**, notamos claramente que los compuestos LQM301, LQM319, LQM320 y LQM322 respectivamente, presentan un antagonismo de tipo no competitivo al receptor adrenérgico  $\alpha_1$  en anillo de aorta torácica, ya que su constante de afinidad ( $K_D$ ) no presentó una variación significativa (**Tabla 5**).

En tanto que para anillo de aorta abdominal los compuestos LQM301, LQM319 y LQM320 la constante de afinidad ( $K_D$ ) no varió significativamente (**Tabla 6**). Sin embargo, para LQM318 al no variar significativamente la respuesta ni la constante de afinidad, decimos que este

compuesto no presentó efecto sobre la actividad contráctil a Fenilefrina. Mientras que para el LQM322 la  $K_D$  no varía de manera significativa, pero se observa una tendencia a provocar un antagonismo de tipo competitivo (**Véase Figs 24B-28B**).

Al analizar las gráficas (**Véase Figs 24B-28B**), podemos observar que los compuestos LQM301, LQM319, LQM320 y LQM322 (con excepción de la aorta torácica), presentan antagonismo no competitivo, lo cual quiere decir que los compuestos pueden reaccionar con el receptor y esto impide al agonista reaccionar al máximo. En cambio en el antagonismo competitivo al cual tiende el LQM322 porción abdominal, el compuesto puede reaccionar con el receptor en forma tal que no impide la combinación Fenilefrina-receptor adrenérgico  $\alpha_1$ .

Si comparamos las **Figs 19A-24A** y las **Figs 29-38** en las primeras se muestran los resultados de las Curvas a Fenilefrina en ausencia y presencia de los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301, expresados en Concentración vs Efecto de contracción (g), y las últimas expresadas en Concentración (M) vs % de Efecto, podemos ver las mismas tendencias en ambas Curvas. En donde para aorta torácica el efecto se ve reducido significativamente por los compuestos LQM301 y LQM322 (**Tabla 7**). En tanto que para la aorta abdominal la reducción del efecto máximo es significativa para los compuestos LQM301, LQM319, LQM320 y LQM322 (**Tablas 8**).

Como ya señalamos la actividad biológica de una molécula depende de más de un único grupo funcional. En consecuencia se necesita agregar más de un grupo funcional para desplegar una actividad potente y es lógico suponer que la conformación tridimensional de la molécula es determinante en su acción, y por ende, que cuando menos parte del compuesto debe acomodarse en una estructura con la que se complementa.<sup>4</sup>

El compuesto LQM301, disminuyó el efecto al agonista en ambas porciones de la aorta de manera significativa, así podemos suponer que el compuesto se acopló al receptor debido a que en su estructura química cuenta con un grupo amino, el cual sepudo unir al sitio aniónico presentado por el receptor  $\alpha_1$  y el grupo funcional OH, aumenta su afinidad.<sup>25, 29</sup>

Posiblemente los anillos de tiomorfolina le permitieron la unión a los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , y los grupos OH que como ya se dijo le confieren afinidad a la molécula del compuesto LQM320, para el que la disminución en la respuesta fue significativa tanto en aorta torácica como en abdominal.<sup>25, 29</sup>

En tanto que el compuesto LQM319 que al igual que el compuesto LQM320 posee 2 anillos de tiomorfolina le permitieron la unión a los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ , sugiriendo que la diferencia en el número de grupos OH, puede ser la causa de la discrepancia en la respuesta de ambos compuestos al agonista Fenilefrina.<sup>25, 29</sup>

Por otro lado tenemos que el compuesto LQM322 está formado por 2 anillos de tiomorfolina y 3 sustituyentes OH en el anillo bencénico, estos últimos pudiendo serlos causantes de un aumento en la afinidad, siendo de esta manera que se une al receptor y de cómo resultado la disminución en la contracción de aorta abdominal. Mientras que en la porción torácica se une y aumenta aunque no significativamente la respuesta contráctil.<sup>25, 29</sup>

Y por último el LQM318, con el cual no se tuvo ninguna respuesta significativa a la contracción en aorta torácica ni abdominal, por lo que creemos que este compuesto al estar dotado por solo 1 sustituyente OH y poseer un grupo tiomorfolínico, posee afinidad, es decir puede unirse al receptor pero no disminuir el efecto. Lo que sugiere que a ésta molécula podrían adicionarse otros sustituyentes, por ejemplo, grupos OH en cadenas laterales o en el anillo bencénico.

A pesar del gran número de fármacos modernos que modifican las reacciones simpáticas y su aplicación en muchos campos de la terapéutica, persiste un interés considerable por desarrollar nuevos compuestos para aplicaciones tanto experimentales como en la clínica. Sin embargo, sigue siendo un gran desafío evaluar la importancia clínica potencial de los compuestos recién sintetizados. La incesante identificación y expansión de las familias moleculares de receptores junto con la caracterización cada vez más expedita de sus mecanismos de acción, han generado nuevas oportunidades terapéuticas, dado que los conocimientos más refinadas de las vías de transducción de señales celulares sugieren nuevos objetivos para la modificación específica e intensificación de la función celular. Estos posibles blancos múltiples para los fármacos, junto con la enorme posibilidad de generar nuevas moléculas con química de combinación o estrategias de DNA recombinante, permiten prever el inicio de una época en que la intervención terapéutica se caracterizará por una gran diversidad y especificidad.<sup>25</sup>

La Universidad Nacional Autónoma de México, es un pilar importante de la cultura, la ciencia, la economía y de la sociedad en general, prueba de esto es que la investigación científica en la Facultad de Estudios Superiores "Cuautitlán" ha sido reconocida. Por lo que este tipo de proyectos a largo plazo constituyen un logro para los que trabajan en él, resultado de esfuerzo, trabajo y dedicación, dando pauta a que las nuevas generaciones se interesen en la síntesis y caracterización de nuevos compuestos diseñados para la población mexicana, lo cual implica un importante avance en la ciencia de nuestro país y aparta un lugar en la historia.

## 8. CONCLUSIONES

Adquirí experiencia en el manejo de animales y material de laboratorio, así como en el desarrollo del método científico.

Se utilizó el modelo de órgano aislado de aorta torácica y abdominal de rata Wistar normotensa para determinar si los Compuestos Tiomorfolínicos LQM318, LQM319, LQM320, LQM322 y Morfolínico LQM301 modifican la respuesta de dicho tejido a la Fenilefrina (agonista adrenérgico  $\alpha_1$ ).

Por lo que con base a los resultados obtenidos experimentalmente y en las gráficas realizadas concluimos que:

- Los Compuestos LQM301 y LQM320 disminuyeron la actividad contráctil de la aorta torácica a Fenilefrina.
- Los Compuestos LQM301, LQM319, LQM320 y LQM322, produjeron una disminución en la contracción de la aorta abdominal.
- Los Compuestos LQM301 y LQM320, presentan un antagonismo de tipo no competitivo al receptor adrenérgico  $\alpha_1$  en anillo de aorta torácica y abdominal.
- El Compuesto LQM318 no presentó efecto sobre la actividad contráctil a Fenilefrina. Lo que sugiere que se realice el experimento a concentraciones mayores del compuesto.
- Mientras que con el Compuesto LQM322 en la porción torácica la tendencia es a provocar un aumento en la contracción.
- El LQM319 presenta antagonismo de tipo no competitivo para aorta abdominal y la tendencia es la misma en aorta torácica, lo que en éste último caso, da la pauta para aumentar las concentraciones del compuesto y así determinar el efecto antagónico.

## **9. PERSPECTIVAS**

- Continuar con la evaluación de estos compuestos en otros tejidos del sistema cardiovascular
- Evaluar si los compuestos pueden afectar otros órganos
- Realizar el mismo experimento, pero en ratas hipertensas
- Realizar estudios toxicológicos

La **META** es:

**LOGRAR SINTETIZAR Y PRODUCIR EL PRIMER FÁRMACO  
ANTIHIPERTENSIVO ENFOCADO A LA POBLACIÓN MEXICANA**

## 10. REFERENCIAS

1. MEANEY, Eduardo. 1999. **“El papel del endotelio en las enfermedades cardiovasculares.”** Grupo Mind México. México. Pp 1,2,3
2. Consenso Latinoamericano sobre Hipertensión Arterial. Journal of Hypertension 2001, Vol. 6, No. 2
3. [www.insp.mx/Portal/Centros/cenids/pdf/boletinFFMM-1.pdf](http://www.insp.mx/Portal/Centros/cenids/pdf/boletinFFMM-1.pdf)
4. GENNARO, Alfonso R. 1999. **“Remington Farmacia.”** 19ª edición. Editorial Médica Panamericana. Pp 9, 83, 84, 87, 90, 93
5. AVENDAÑO L., Carmen. 2001. **“Introducción a la Química Farmacéutica.”** 2ª edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. Pp 25, 26, 27, 39
6. GALBIS P., Juan A. 2004. **“Panorama actual de la Química Farmacéutica.”** 2ª edición. Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Sevilla, España. Pp 15, 16, 25, 27, 32, 33, 34, 35, 125, 169, 214
7. ROMAN, Fernando D. 1990. **“Innovación y desarrollo farmacéutico.”** Asociación Farmacéutica Mexicana. D. F., México. Pp 41, 42, 45, 46, 47
8. DE AHUMADA V., Ignacio. 2002. **“Farmacología práctica para las diplomaduras en ciencias de la salud (Enfermería, Fisiología, Podología).”** Ediciones Díaz Santos. España. 2002. Pp 4
9. TAPIA, E. 2005. **“Determinación del efecto hipotensor de la serie de compuestos diseñados por computadora dimorfolínicos y tiomorfolínicos.”** UNAM. Pp 32, 33.
10. HERRERA S., Alma. 2005. **“Evaluación de actividad hipotensora de 8 compuestos dimorfolínicos.”** UNAM. Pp 43
11. [http://www.healthsystem.virginia.edu/UVAHealth/adult\\_cardiac\\_sp/overvasc.cfm](http://www.healthsystem.virginia.edu/UVAHealth/adult_cardiac_sp/overvasc.cfm)
12. RANG, H. P. Dale, M. M. 2004. **“Farmacología.”** 5ª edición. Editorial Elsevier. Madrid, España. Pp 9, 23, 285
13. TORTORA, Gerard J. Reynolds G., Sandra. 2000. **“Principios de Anatomía y Fisiología.”** 9ª edición. Oxford University Press. Pp 698, 699, 702, 703, 707
14. [http://www.kidshealth.org/teen/en\\_espanol/cuerpo/heart\\_esp.html](http://www.kidshealth.org/teen/en_espanol/cuerpo/heart_esp.html)
15. <http://www.aula2005.com/html/cn3eso/09circulatorio/09circulatories.htm>
16. [http://www.cabildodelanzarote.com/areas/sanidad/geriatria/problemas\\_cardio.htm](http://www.cabildodelanzarote.com/areas/sanidad/geriatria/problemas_cardio.htm)
17. RAMZI S., Cotran. Tucker, Collins. 2000. **“Patología estructural y funcional.”** 6ª edición. McGraw-Hill Interamericana. D.F., México. Pp 98, 99, 100, 101, 520, 521.
18. <http://ecociencia.fateback.com/articulos/circulacion.htm>



19. AARONSON, Philip I. Ward, Jeremy P. 2001. **“El sistema cardiovascular en esquemas.”** Ars Médica. Barcelona, España. Pp 10, 11, 59
20. <http://es.wikipedia.org/wiki/Aorta>
21. [http://www2.bvs.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-55042003000100005&lng=pt&nrm=iso&tlng=es](http://www2.bvs.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-55042003000100005&lng=pt&nrm=iso&tlng=es)
22. ROJAS R., José A. Vidrio, Horacio. 1987. **“Principios de farmacología general.”** Consejo Nacional de Fomento Educativo, SEP. México. 1987. Pp 65, 72, 73, 75, 76
23. HIDALGO Y MONDRAGÓN, María del C. 1980. **“Aspectos bioquímicos de interés farmacológico.”** 2ª edición. Compañía Editorial Continental, S. A., México. México. Pp 79, 84, 96, 97
24. MYCEK, Mary J., Harvey, Richard A. 2004. **“Farmacología.”** 2ª edición. McGraw-Hill Interamericana. D.F., México. Pp 23, 24, 25, 65, 68, 69, 72, 77
25. GOODMAN & GILMAN, Alfred. Hardman, Joel G. 1996. **“Las bases farmacológicas de la terapéutica.”** 9ª edición. McGraw-Hill Interamericana. México. Vol. 1. Pp 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39
26. URIARTE B., Victor. 2005. **“Psicofarmacología.”** 5ª edición. Editorial Trillas. México. Pp 67, 69
27. DAWSON, James S. 2003. **“Lo esencial de la Farmacología.”** 2ª edición. Elsevier. Madrid, España. Pp 4, 5, 9
28. ZIEHER, Luis M. 2004. **“Farmacología general y de la Neurotransmisión.”** 3ª edición. Grafica Siltor.. Pp 51, 52
29. WEPIERRE, Jacques. 1988. **“Farmacología General y Molecular.”** Masson Doyma México. México. Pp 89, 90, 94, 109
30. KALANT, Harold. 2002. **“Principios de Farmacología Médica.”** 6ª edición. Oxford University Press. México. Pp 84, 85, 91, 98, 168-170
31. FLÓREZ, Jesús. 1998. **“Farmacología Humana.”** 3ª edición. Masson S.A. Barcelona, España. Pp 7, 8, 18, 31, 240-246
32. CORREA, Sofía. Puebla, Pilar. **“Metilquercetina, otro agente vasodilatador aislado de Croton\_Schiedeanus”.** Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 2 Laboratorio de Farmacognosia y Farmacología. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Salamanca, España. Pp 9
33. CAMARASA, Jordi. Escobedo, Elena. 1997. **“La interacción fármaco-receptor.”** Ediciones de la Universitat de Barcelona. Pp 8, 15, 16, 18, 19

34. KATZUNG, Bertram G. 2000. ***“Farmacología: Autoevaluación y repaso.”*** Editorial El Manual Moderno. México. Pp 19
35. GOTH, Andres. 1984. ***“Farmacología Médica. Principios y Conceptos.”*** 11<sup>a</sup>. Edición. Ediciones DOYMA. España. Pág. 8,9.
36. BARASTEGUI A., C. 1976. ***“Esquemas y Prácticas de Farmacología.”*** Editorial ESPAX. Barcelona, España. Pp 19, 20, 21
37. DELGADO, Antonio. 2004. ***“Introducción a la Química Terapéutica.”*** 2<sup>a</sup> Edición. Ediciones Díaz Santos. Madrid, España. Pp 37, 98

## ANEXO I

### GRÁFICA DOBLE RECÍPROCA

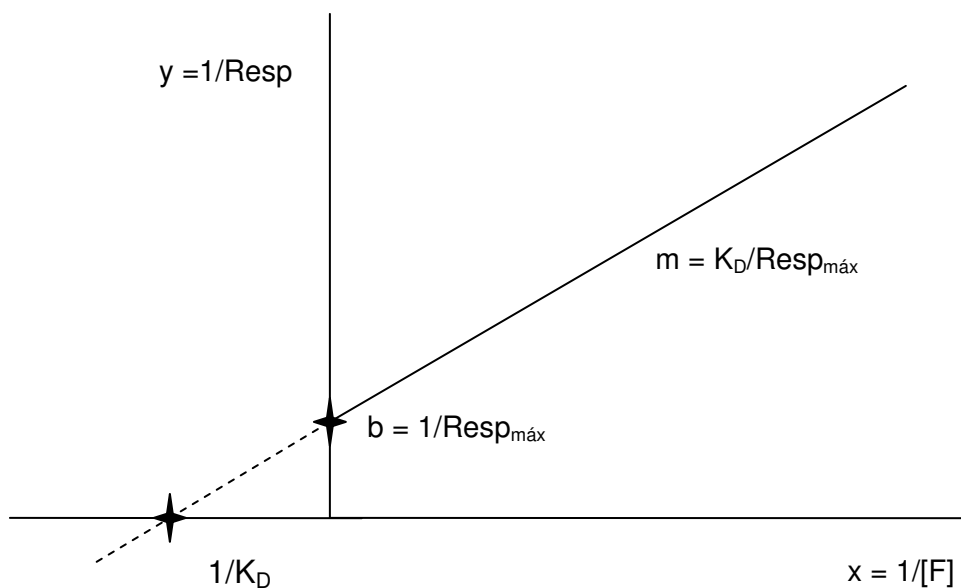
Sabemos que la ecuación lineal es:

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

Que corresponde a la ecuación general de la línea recta:

$$y = mx + b \quad (2)$$

Y la representación gráfica es:



**Figura 39.** Gráfica doble recíproca. Relación entre la concentración y el efecto cuando se grafican las recíprocas de la concentración y del efecto

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

Por lo tanto podemos obtener los siguientes datos, de 2 maneras posibles: una por extrapolación en la gráfica y con el mismo programa Excel para realizar las curvas, determinar el valor de la constante de afinidad ( $K_D$ ), y la segunda por regresión lineal con ayuda de la calculadora y las ecuaciones (1) y (2).

**Tabla 7.** Valores de  $K_D$  para fenilefrina sola y fenilefrina previa incubación con LQM 301 en aorta torácica, obtenidos por regresión lineal y por extrapolación.

| COMPUESTO   | Aorta torácica                           |                                       |
|-------------|--|---------------------------------------|
|             | $K_D$ ( $10^{-9}$ ) por regresión lineal | $K_D$ ( $10^{-9}$ ) por extrapolación |
| Fenilefrina | 2.1                                      | 2.1                                   |
| LQM 301     | 2.9                                      | 2.9                                   |

Por regresión lineal para **fenilefrina** en aorta torácica:

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

$\downarrow$                        $\downarrow$                        $\swarrow$                        $\downarrow$   
 $y$                       =                       $mx$                       +                       $b$                       , por lo tanto

$$b = \frac{1}{\text{Resp}_{\text{máx}}} \quad y \quad m = \frac{K}{\text{Resp}_{\text{máx}}}$$

$$b = 12.95$$

$$m = 3.2 \times 10^{-8}$$

$$\text{Resp}_{\text{máx}} = \frac{1}{b}$$

$$\text{Resp}_{\text{máx}} = \frac{1}{12.95}$$

$$\text{Resp}_{\text{máx}} = 0.0772$$

$$K = \text{Resp}_{\text{máx}} \times m$$

$$K = (0.0772)(3.2 \times 10^{-8})$$

$$K = 2.1 \times 10^{-9}$$

Por extrapolación para **fenilefrina** en aorta torácica:

$$x = -402871959.6$$

$$K_D = -\frac{1}{K}$$

$$K_D = \frac{-1}{-402871959.6}$$

$$K_D = 2.1 \times 10^{-9}$$

Por regresión lineal para **LQM 301** en aorta torácica:

$$b = 19.67$$

$$m = 5 \times 10^{-8}$$

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

$$\text{Re } sp_{\text{máx}} = \frac{1}{19.67}$$

$$\text{Re } sp_{\text{máx}} = 0.0508$$

$$K = \text{Re } sp_{\text{máx}} \times m$$

$$K = (0.0508)(5 \times 10^{-8})$$

$$K = 2.9 \times 10^{-9}$$

Por extrapolación para **LQM 301** en aorta torácica:

$$x = -389581541.3$$

$$K_D = -\frac{1}{K}$$

$$K_D = \frac{-1}{-389581541.3}$$

$$K_D = 2.9 \times 10^{-9}$$

De ésta manera obtuvimos las constantes de afinidad  $K_D$  para cada compuesto en aorta torácica y abdominal de ratas normotensas.

## ANEXO II

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CADA COMPUESTO DE LA SERIE LQM 300's

Cuando se plantea cualquier tipo de estudio farmacológico, los métodos estadísticos nos permiten interpretar los datos obtenidos experimentalmente. Aquí se muestran los análisis estadísticos de varianza (ANOVA) de los datos tratados por el método doble recíproco para cada compuesto de la serie LQM 300's, lo cual nos indica si la diferencia es o no significativa entre el agonista y el compuesto evaluado, y de ésta forma asegurar que el efecto obtenido por los compuestos LQM 301, LQM 318, LQM 319, LQM 320, Y LQM 322, se debe a éstos últimos y no al azar.

Para ello se plantean las siguientes hipótesis:

**H<sub>0</sub>**: El valor de las medias de la Curva Control son iguales a las medias de la Curva Concentración-Efecto

**H<sub>1</sub>**: Por lo menos una de las medias de la Curva Control es diferente a las medias de la Curva Concentración-Efecto

Los cuales se corroboraron con los valores de F para una n = 6 y una  $\alpha = 0.05$  de significancia para cada compuesto evaluado, considerando entonces que:

Si  $F_{exp} < F_{tablas}$  SE ACEPTA H<sub>0</sub>

Si  $F_{exp} > F_{tablas}$  SE RECHAZA H<sub>0</sub>

## ANOVA PARA LAS CURVAS CONCENTRACIÓN-EFECTO

### ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM301

#### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.056    | 0.094    | 0.121    | 0.139    | 0.150    | 0.167    |
| LQM301      | 0       | 0.080    | 0.076    | 0.063    | 0.049    | 0.035    | 0.017    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 0.717 | 0.10242857 | 0.00336695 |
| Columna 2 | 7      | 0.32  | 0.04571429 | 0.00090524 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.01125779        | 1                  | 0.01125779                | 5.27026394 | 0.04051122   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.02563314        | 12                 | 0.0021361                 |            |              |                      |

Total                    0.03689093                    13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM301

#### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.105    | 0.166    | 0.212    | 0.254    | 0.289    | 0.315    |
| LQM301      | 0       | 0.008    | 0.022    | 0.079    | 0.097    | 0.109    | 0.110    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 1.341 | 0.19157143 | 0.01231495 |
| Columna 2 | 7      | 0.425 | 0.06071429 | 0.0023959  |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.05993257        | 1                  | 0.05993257                | 8.14807334 | 0.0145016    | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.08826514        | 12                 | 0.00735543                |            |              |                      |

Total                    0.14819771                    13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM301

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM318

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.056    | 0.094    | 0.121    | 0.139    | 0.150    | 0.167    |
| LQM318      | 0       | 0.030    | 0.091    | 0.155    | 0.184    | 0.195    | 0.195    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 0.727 | 0.10385714 | 0.00346981 |
| Columna 2 | 7      | 0.85  | 0.12142857 | 0.00664962 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.00108064        | 1                  | 0.00108064                | 0.21357784 | 0.65224415   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.06071657        | 12                 | 0.00505971                |            |              |                      |
| Total                     | 0.06179721        | 13                 |                           |            |              |                      |

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM318

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.105    | 0.166    | 0.212    | 0.254    | 0.289    | 0.315    |
| LQM318      | 0       | 0.041    | 0.104    | 0.220    | 0.257    | 0.290    | 0.297    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza  |
|-----------|--------|--------|------------|-----------|
| Columna 1 | 7      | 1.2465 | 0.17807143 | 0.0163177 |
| Columna 2 | 7      | 1.209  | 0.17271429 | 0.0150739 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.00010045        | 1                  | 0.00010045                | 0.00639957 | 0.93755803   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.18834964        | 12                 | 0.0156958                 |            |              |                      |
| Total                     | 0.18845009        | 13                 |                           |            |              |                      |

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM318



## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM319

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.056    | 0.094    | 0.121    | 0.139    | 0.150    | 0.167    |
| LQM319      | 0       | 0.009    | 0.023    | 0.058    | 0.090    | 0.118    | 0.139    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 0.727 | 0.10385714 | 0.00346981 |
| Columna 2 | 7      | 0.437 | 0.06242857 | 0.00300629 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.00600714        | 1                  | 0.00600714                | 1.85517434 | 0.1982035    | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.03885657        | 12                 | 0.00323805                |            |              |                      |

Total                      0.04486371                      13

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM319

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.105    | 0.166    | 0.212    | 0.254    | 0.289    | 0.315    |
| LQM319      | 0       | 0.014    | 0.033    | 0.075    | 0.097    | 0.128    | 0.149    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 1.341 | 0.19157143 | 0.01231495 |
| Columna 2 | 7      | 0.496 | 0.07085714 | 0.00329314 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.05100179        | 1                  | 0.05100179                | 6.53529914 | 0.0251666    | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.09364857        | 12                 | 0.00780405                |            |              |                      |

Total                      0.14465036                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM319

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM320

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.056    | 0.094    | 0.121    | 0.139    | 0.150    | 0.167    |
| LQM320      | 0       | 0.013    | 0.031    | 0.054    | 0.068    | 0.078    | 0.078    |

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 0.727 | 0.10385714 | 0.00346981 |
| Columna 2 | 7      | 0.322 | 0.046      | 0.00100433 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.01171607        | 1                  | 0.01171607                | 5.23723618 | 0.04104266   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.02684486        | 12                 | 0.00223707                |            |              |                      |

Total                      0.03856093                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM320

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.105    | 0.166    | 0.212    | 0.254    | 0.289    | 0.315    |
| LQM320      | 0       | 0.016    | 0.039    | 0.054    | 0.068    | 0.080    | 0.080    |

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 1.341 | 0.19157143 | 0.01231495 |
| Columna 2 | 7      | 0.337 | 0.04814286 | 0.00098214 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.07200114        | 1                  | 0.07200114                | 10.8296047 | 0.00644931   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.07978257        | 12                 | 0.00664855                |            |              |                      |

Total                      0.15178371                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM320

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM322

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.056    | 0.094    | 0.121    | 0.139    | 0.150    | 0.167    |
| LQM322      | 0       | 0.092    | 0.142    | 0.156    | 0.176    | 0.191    | 0.195    |

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 0.727 | 0.10385714 | 0.00346981 |
| Columna 2 | 7      | 0.952 | 0.136      | 0.004829   |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.00361607        | 1                  | 0.00361607                | 0.87146751 | 0.36895341   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.04979286        | 12                 | 0.0041494                 |            |              |                      |

Total                      0.05340893                      13

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM322

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 0.105    | 0.166    | 0.212    | 0.254    | 0.289    | 0.315    |
| LQM320      | 0       | 0.037    | 0.055    | 0.083    | 0.102    | 0.111    | 0.111    |

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma  | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|-------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 1.341 | 0.19157143 | 0.01231495 |
| Columna 2 | 7      | 0.499 | 0.07128571 | 0.0017929  |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 0.05064029        | 1                  | 0.05064029                | 7.17901878 | 0.02006032   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 0.08464714        | 12                 | 0.00705393                |            |              |                      |

Total                      0.13528743                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM320

## ANOVA PARA LAS CURVAS CONCENTRACIÓN- % DE EFECTO

### ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM301

AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.53    | 56.28    | 72.45    | 83.23    | 89.82    | 100      |
| LQM301      | 0       | 10.17    | 20.95    | 29.34    | 37.92    | 45.5     | 47.9     |

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|--------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 435.31 | 62.1871429 | 1244.14699 |
| Columna 2 | 7      | 191.78 | 27.3971429 | 325.25489  |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 4236.20435        | 1                  | 4236.20435                | 5.39849531 | 0.03852431   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 9416.41129        | 12                 | 784.70094                 |            |              |                      |

|       |            |    |
|-------|------------|----|
| Total | 13652.6156 | 13 |
|-------|------------|----|

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM301

AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.33    | 52.69    | 67.3     | 80.63    | 91.74    | 100      |
| LQM301      | 0       | 2.53     | 6.98     | 25.07    | 30.79    | 34.6     | 34.92    |

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|--------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 426.69 | 60.9557143 | 1238.5043  |
| Columna 2 | 7      | 134.89 | 19.27      | 241.481067 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 6081.94571        | 1                  | 6081.94571                | 8.21892685 | 0.014172     | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 8879.91217        | 12                 | 739.992681                |            |              |                      |

|       |            |    |
|-------|------------|----|
| Total | 14961.8579 | 13 |
|-------|------------|----|

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM301

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM318

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.53    | 56.28    | 72.45    | 83.23    | 89.82    | 100      |
| LQM318      | 0       | 17.96    | 54.49    | 92.81    | 110      | 116      | 116      |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|--------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 435.31 | 62.1871429 | 1244.14699 |
| Columna 2 | 7      | 507.26 | 72.4657143 | 2359.74326 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 369.771607        | 1                  | 369.771607                | 0.20520692 | 0.65863204   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 21623.3415        | 12                 | 1801.94513                |            |              |                      |

Total                      21993.1131                      13

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM318

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.33    | 52.69    | 67.3     | 80.63    | 91.74    | 100      |
| LQM318      | 0       | 13.01    | 33.01    | 69.84    | 81.58    | 92.06    | 94.28    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza  |
|-----------|--------|--------|------------|-----------|
| Columna 1 | 7      | 426.69 | 60.9557143 | 1238.5043 |
| Columna 2 | 7      | 383.78 | 54.8257143 | 1519.0986 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 131.51915         | 1                  | 131.51915                 | 0.09538658 | 0.76273407   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 16545.6173        | 12                 | 1378.80145                |            |              |                      |

Total                      16677.1365                      13

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM318

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM319

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.53    | 56.28    | 72.45    | 83.23    | 89.82    | 100      |
| LQM319      | 0       | 5.38     | 13.77    | 34.73    | 53.89    | 70.65    | 83.23    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|--------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 435.31 | 62.1871429 | 1244.14699 |
| Columna 2 | 7      | 261.29 | 37.3271429 | 1078.23876 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 2163.0686         | 1                  | 2163.0686                 | 1.86279872 | 0.19734673   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 13934.3145        | 12                 | 1161.19287                |            |              |                      |

Total                      16097.3831                      13

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM319

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.33    | 52.69    | 67.3     | 80.63    | 91.74    | 100      |
| LQM319      | 0       | 4.44     | 10.47    | 23.8     | 30.79    | 40.63    | 47.3     |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza  |
|-----------|--------|--------|------------|-----------|
| Columna 1 | 7      | 426.69 | 60.9557143 | 1238.5043 |
| Columna 2 | 7      | 157.43 | 22.49      | 331.8808  |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 5178.63911        | 1                  | 5178.63911                | 6.59537477 | 0.02462948   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 9422.31057        | 12                 | 785.192548                |            |              |                      |

Total                      14600.9497                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM319

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM320

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.53    | 56.28    | 72.45    | 83.23    | 89.82    | 100      |
| LQM320      | 0       | 7.78     | 18.56    | 32.33    | 40.71    | 46.7     | 46.7     |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|--------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 435.31 | 62.1871429 | 1244.14699 |
| Columna 2 | 7      | 192.78 | 27.54      | 360.025633 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 4201.48578        | 1                  | 4201.48578                | 5.23819658 | 0.04102709   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 9625.03574        | 12                 | 802.086312                |            |              |                      |

Total                      13826.5215                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM320

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.33    | 52.69    | 67.3     | 80.63    | 91.74    | 100      |
| LQM320      | 0       | 5.07     | 12.38    | 17.14    | 21.58    | 25.39    | 25.39    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|--------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 426.69 | 60.9557143 | 1238.5043  |
| Columna 2 | 7      | 106.95 | 15.2785714 | 98.9510476 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 7302.40483        | 1                  | 7302.40483                | 10.9198485 | 0.00628789   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 8024.73206        | 12                 | 668.727671                |            |              |                      |

Total                      15327.1369                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM320

## ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL COMPUESTO LQM322

### AORTA TORÁCICA

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.53    | 56.28    | 72.45    | 83.23    | 89.82    | 100      |
| LQM322      | 0       | 55.08    | 85.052   | 93.41    | 105.38   | 114.37   | 116.76   |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza   |
|-----------|--------|--------|------------|------------|
| Columna 1 | 7      | 435.31 | 62.1871429 | 1244.14699 |
| Columna 2 | 7      | 570.02 | 81.4314286 | 1731.40515 |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F         | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-----------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 1296.19886        | 1                  | 1296.19886                | 0.8712325 | 0.36901578   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 17853.3128        | 12                 | 1487.77607                |           |              |                      |

Total                      19149.5117                      13

Se acepta  $H_0$ , para la contracción de la aorta torácica de rata normotensa con el compuesto LQM322

### AORTA ABDOMINAL

| [ M ]       | 0.0E+00 | 1.00E-09 | 1.00E-08 | 1.00E-07 | 1.00E-06 | 1.00E-05 | 1.00E-04 |
|-------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| FENILEFRINA | 0       | 33.33    | 52.69    | 67.3     | 80.63    | 91.74    | 100      |
| LQM320      | 0       | 11.74    | 17.46    | 26.34    | 32.38    | 35.23    | 35.23    |

#### Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

| Grupos    | Cuenta | Suma   | Promedio   | Varianza  |
|-----------|--------|--------|------------|-----------|
| Columna 1 | 7      | 426.69 | 60.9557143 | 1238.5043 |
| Columna 2 | 7      | 157.43 | 22.49      | 331.8808  |

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F          | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos              | 5178.63911        | 1                  | 5178.63911                | 6.59537477 | 0.02462948   | 4.74722534           |
| Dentro de los grupos      | 9422.31057        | 12                 | 785.192548                |            |              |                      |

Total                      14600.9497                      13

Se rechaza  $H_0$ , para la contracción de la aorta abdominal de rata normotensa con el compuesto LQM320