



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**“EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE NUEVOS
COMPUESTOS CON ESTRUCTURA DE 4-ARIL
SUSTITUÍDO-2-CIANOIMINO-3,4-DIHIDRO-1H-
PIRIMIDINAS EN EL CORAZÓN DE RATA”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:

JOSÉ LUIS SALGADO CALDERÓN

ASESOR: DR. HULME RÍOS GUERRA.

COASESOR: DR. GUSTAVO GUEVARA BALCÁZAR

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



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

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE



ATN:L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa 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:

Evaluación farmacológica de nuevos compuestos con estructura de
4-arilsustituido-2-cianoimino-3,4-dihidro-1H-pirimidina en el
corazón de rata

Que presenta el pasante José Luis Salgado Calderón
 Con número de cuenta: 401100875 para obtener el título de:
Químico Farmacéutico Biólogo

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"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 18 de mayo de 2011

PRESIDENTE IQM. Rafael Sampere Morales
 VOCAL Dr. J. Guillermo Penieres Carrillo
 SECRETARIO Dr. Hulme Ríos Guerra
 1er SUPLENTE Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez
 2º SUPLENTE MC. Lidia Rangel Trujano

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por permitirme tener una vida llena de tantas bendiciones, por tener muchas consideraciones y guiarme por el camino correcto para llegar a este momento tan importante en vida. Pero sobre todo por rodearme de tantas personas que me han acompañado en este largo camino y por enseñarme que él sabe porque hace las cosas y que después de toda tormenta siempre hay quien te apoye.

A la **UNAM** mi segundo hogar, gracias por permitirme desarrollarme como persona y como profesional de verdad te llevo en mi corazón y nunca terminare de pagar todo lo que me has dado, espero poner en alto tu nombre desempeñándome como un buen profesionista: **“Por mi raza hablará el espíritu”**

Una casa se construye con troncos, piedras, losas, pilares y entrepaños; un hogar se construye con actos de amor que siempre perduran, a pesar de los años (Anónimo). A **mi esposa Xochitl Sánchez Acosta** que ha brindado todo su amor y ha estado conmigo durante todo este tiempo impulsándome para continuar adelante, a **mi hijo Héctor Salgado Sánchez** que ha sido la bendición más grande y el principal motor para continuar mi camino.

A mis padres **Enrique Salgado Zambrano y Patricia Calderón Nava** que me han dado todo el apoyo, cariño, ejemplos y la mejor enseñanza que hay: su ejemplo.

A mis hermanos **Enrique S., Jorge Alberto S. y David S.** por estar conmigo en las buenas y las mejores jaja.

A mis amigos **Miguel, Omar Asaf, Omar Tapia, Alejandro F., Raúl**, a mis amigas **Vianey, Fabiola, Alicia, Nancy, Guadalupe Saucedo y Lupe** que estuvieron conmigo en las buenas, las malas y las mejores....**gracias.**

Uno recuerda con cariño a los maestros brillantes, pero con gratitud a aquellos que tocaron nuestros sentimientos humanos. El currículo es un material necesario, pero la calidez es el elemento vital para la planta que crece y el alma del niño (Carl Jung). A **todos mis profesores de los distintos niveles** porque todos han participado en mi formación no solo profesional sino también como ser humano y eso es muy importante. En especial al **Dr. Hulme Ríos Guerra** y al **Dr. Gustavo Guevara Balcázar** por ser mis asesores, y depositar su confianza, conocimientos y tiempo necesario para el desarrollo de este proyecto; así como por su apoyo humano y por permitirme iniciar mi vida profesional en un ambiente tan grato y ameno. **Gracias** por ser mis asesores, colegas y buenos amigos.

Índice

| | |
|--|----------|
| 1. Resumen | 1 |
| 2. Introducción | 2 |
| 3. Antecedentes | 5 |
| 3.1. Sistema Cardiovascular | 6 |
| 3.1.1. Estructura Cardíaca | 8 |
| 3.1.2. Válvulas cardíacas | 10 |
| 3.1.3. Sistema especializado de conducción | 10 |
| 3.1.4. Canales iónicos | 11 |
| 3.1.4.1. Canales de potasio | 12 |
| 3.1.4.1.1. Estructura y Función de los Canales de K ⁺ Dependientes de Voltaje | 13 |
| 3.1.4.1.2. Canales voltaje dependiente | 16 |
| 3.1.4.1.3. Canales rectificadores de entrada | 16 |
| 3.1.4.1.4. Canales de potasio activados por Ca ²⁺ | 16 |
| 3.1.4.1.5. Canales de potasio sensibles a ATP (K _{ATP}) | 16 |
| 3.1.4.2. Canales de calcio | 17 |
| 3.1.4.2.1. Relación estructura-actividad de los canales de Ca ²⁺ | 17 |
| 3.1.5. Metabolismo miocardio y consumo de oxígeno | 19 |
| 3.2. Fisiopatología del sistema cardiovascular | 19 |
| 3.2.1. Hipertensión arterial (HTA) | 20 |
| 3.2.2. Tratamiento de la HTA | 23 |
| 3.2.2.1. Diuréticos | 23 |
| 3.2.2.2. Simpaticolíticos | 24 |
| 3.2.2.3. Antagonistas adrenérgicos β (β-bloqueadores) | 24 |
| 3.2.2.4. Antagonistas adrenérgicos α (α ₁ -bloqueadores) | 24 |
| 3.2.2.5. Antagonistas adrenérgicos mixtos (α y β adrenérgicos) | 25 |
| 3.2.2.6. Fármacos de acción central | 25 |
| 3.2.2.7. Bloqueadores de neuronas adrenérgicas | 26 |
| 3.2.2.8. Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA) | 26 |
| 3.2.2.9. Antagonistas del receptor de Angiotensina II AT ₁ (ARA-II) | 27 |
| 3.2.2.10. Bloqueadores del canal de Ca ²⁺ | 27 |
| 3.2.2.11. Vasodilatadores directos de la fibra muscular lisa arterial | 28 |
| 3.3. Química medicinal | 29 |
| 3.3.1. Bioisosterismo | 31 |
| 3.3.2. Sustituciones Bioisostéricas Potenciales en Estructuras de Dihidropirimidina con Actividad Bloqueadora de Canales de Ca ²⁺ . | 32 |
| 3.3.2.1. Explorando el Grupo N-cianoguanidina como Bioisostéres de Urea y Tiourea en Moléculas con Estructura de Dihidropirimidina | 33 |
| 3.3.3. Método multíforo | 36 |
| 3.3.3.1. Reacción de Hantzsch | 41 |
| 3.3.3.2. Reacción de Biginelli | 42 |
| 3.3.4. 4-arilsustituído-2-cianoimino-3,4-dihidro-1H-pirimidinas (ACIDHPMs) | 44 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Objetivos | 45 |
| 4.1. Objetivo general | 46 |
| 4.2. Objetivos particulares | 46 |
| 5. Materiales y métodos | 47 |
| 5.1. Síntesis de los Compuestos 4-Aril sustituido 2-Cianoimino-3,4-Dihidro-1H-Pirimidinas (ACIDHPMs) | 48 |
| 5.1.1. Materiales | 48 |
| 5.1.2. Procedimiento General para la Síntesis de 2-cianoimino-dihidro-1H-pirimidina y derivados. | 48 |
| 5.1.3. Procedimiento para la Síntesis de 2-Cianoimino-dihidro-1H-pirimidinas (1 y2) | 49 |
| 5.1.4. Procedimiento para la preparación de 2-(N-carbamoilamino)-4-(2-trifluorometilfenil)-1,4-dihidropirimidina (3). | 49 |
| 5.2. Evaluación Farmacológica de los Compuestos Obtenidos | 49 |
| 6. Resultados y discusión | 53 |
| 7. Conclusiones | 61 |
| 8. Recomendaciones | 63 |
| 9. Referencias | 65 |

**EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE NUEVOS COMPUESTOS CON
ESTRUCTURA DE 4-ARIL SUSTITUÍDO-2-CIANOIMINO-3,4-DIHIDRO-1H-
PIRIMIDINAS EN EL CORAZON DE RATA**

José Luis Salgado Calderón

*Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1 Av. 1º de mayo, s/n. Cuautitlán
Izcalli, Edo de México.*

1. RESUMEN

La química medicinal busca diseñar, sintetizar y evaluar el estudio de nuevos fármacos vasorrelajantes con propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas mejoradas, como la creación de un compuesto híbrido de nifedipina y pinacidilo, el resultado son compuestos de la clase de 4-arilsustituído-2-cianoimino-3,4-dihidro-1H-pirimidinas (ACIDPMs), como nuevos agentes vasorelajantes con actividad ionofórica sobre canales de Calcio (Ca^{+2}) y/o Potasio (K^{+}), respectivamente. Particularmente se buscó discernir si los ACIDPMs, considerando la naturaleza química de los fragmentos farmacofóricos incorporados en su estructura molecular, modulan canales de Ca^{+2} tipo L o si presentan alguna especificidad sobre algún tipo de canal de K^{+1} , e.g. K_{ATP} , K_{Ca} , K_{IR} , K_{V} . Para cumplir con los objetivos planteados, de manera preliminar, se llevó a cabo la síntesis de los compuestos antes mencionados así como su identificación con métodos espectroscópicos (EM, IR, RMN). Una vez obtenidos y caracterizados se llevó a cabo la evaluación farmacológica, y así saber su posible actividad vasorrelajante (Particularizar) mediante el modelo experimental de órgano aislado, el sistema de Langendorff, midiendo la presión de perfusión coronaria y la fuerza de contracción, saber cuál tenía mayor potencia para posteriormente discernir el probable mecanismo de mediación celular usando como herramientas farmacológicas el bloqueo o activación selectivo con diversos fármacos con mecanismos de modulación conocidas, e.g. Atropina, bromferinamina, Propanolol, 4-Aminopiridina, BaCl_2 , Glibenclamida, Tetraetilamonio (TEA), etc con el propósito de encontrar una nueva alternativa estructural en la investigación de nuevos compuestos con actividad selectiva sobre los canales de K^{+}_{V} de utilidad terapéutica, o bien, como herramienta farmacológica; su importancia se puede atribuir a que actualmente se conocen muy pocos agentes químicos que presentan este perfil farmacológico.

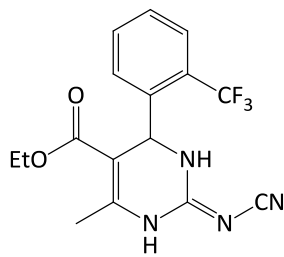
2. INTRODUCCIÓN

Actualmente en México las enfermedades cardiovasculares, constituyen, una de las principales causas de mortalidad, cuya aparición puede ser favorecida por diversos factores, tales como una alimentación rica en lípidos y colesterol, tabaquismo, diabetes, además del estrés con que se vive en las grandes ciudades, entre otros.

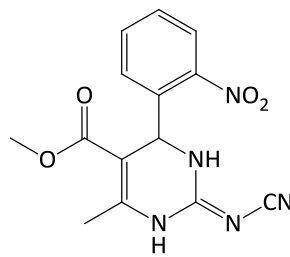
Dentro de las enfermedades cardiovasculares, se encuentra la hipertensión arterial (HTA), ésta es uno de los principales problemas de salud en la población mexicana. Al respecto, la más reciente Encuesta Nacional de Salud señala que aproximadamente 30% de los adultos mayores de 20 años padecen de algún grado de hipertensión arterial; aproximadamente del 90 al 95% de las personas con esta enfermedad padecen HTA primaria (idiopática), mientras que entre el 5 y el 10% del total de los hipertensos padecen HTA de tipo secundaria [1,2], provocando complicaciones cardiacas, ya que genera aumento del trabajo contráctil del corazón, produciendo una elevación en la presión arterial, que puede ser dañino para los vasos sanguíneos por la presión excesiva, así como también, hipertrofia (aumento de tamaño de las fibras musculares) del ventrículo izquierdo [3]. El control de dichas enfermedades puede ser con fármacos estructuralmente diversos tales como bloqueadores de canales de Ca^{+2} y K^{+} , representados por la nifedipina y el pinacidilo respectivamente, que se utilizan como vasodilatadores arteriolares.

Por ello, en este proyecto se decidió trabajar con nuevos compuestos químicamente estables con estructura de 4-arilsustituído-2-sustituidoimino-3,4-dihidro-1H-pirimidinas (ACIDPMs), que combinan los fragmentos farmacofóricos de dos de los fármacos vasorrelajantes más ampliamente usados en la clínica como son la Nifedipina (un modulador de canales de Ca^{+2} tipo L) y el Pinacidilo (un activador de canales de $\text{K}_{\text{ATP}}^{+1}$); se estima que estos nuevos compuestos podrán presentar una mayor potencia o eficacia como nuevos agentes relajantes, moduladores de los canales de K^{+1} y Ca^{+2} ; o mejor aún, actuarán de manera sinérgica, para disponer de mejores agentes con propiedades vasorrelajantes.

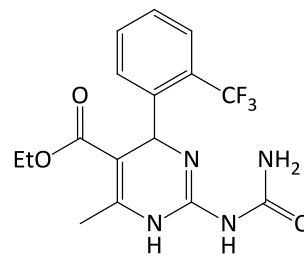
Los compuestos sintetizados y evaluados farmacológicamente son:



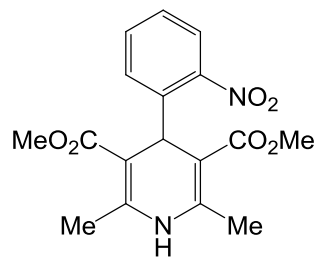
ACIDPM 1



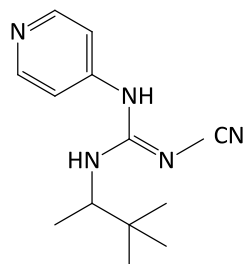
ACIDPM 2



ACIDPM 3



Nifedipina



Pinacidilo

3. ANTECEDENTES

3.1 SISTEMA CARDIOVASCULAR

El sistema cardiovascular, es uno de los principales sistemas coordinados e integrados del cuerpo humano. El sistema circulatorio sirve para transportar y distribuir sustancias esenciales a los tejidos y remover los productos del metabolismo, también lleva a cabo mecanismos homeostáticos tales como la regulación de la temperatura corporal, comunicación humoral a través del cuerpo y se ajusta a las necesidades de oxígeno y nutrientes en diferentes estados fisiológicos (Figura 1).

El corazón se compone de cuatro cavidades: dos superiores (aurículas) y dos inferiores (ventrículos), las aurículas que actúan como bombas llenando los ventrículos, y éstos expulsan la sangre del corazón, hacia los pulmones, del lado derecho (circulación menor) y hacia el organismo, del lado izquierdo (circulación mayor) [4,5] Figura 2.

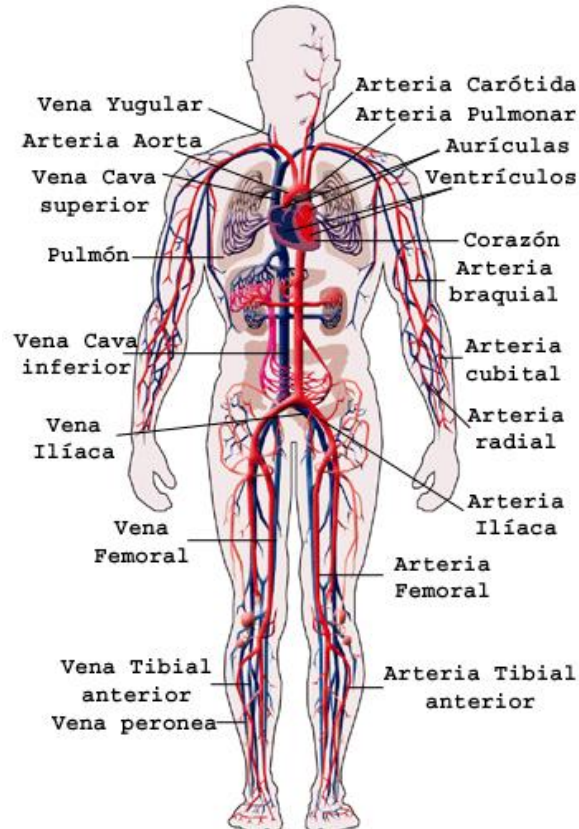


Figura 1.- Sistema Cardiovascular [9].

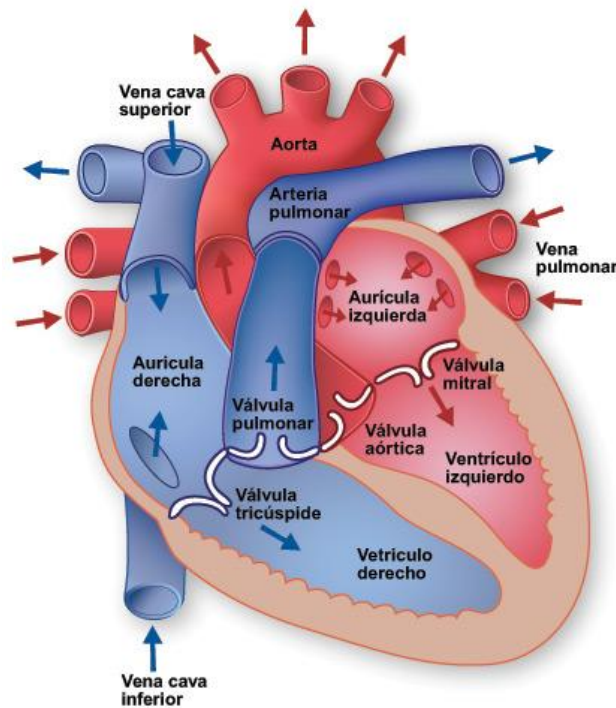


Figura 2.- Estructura del corazón y curso del flujo sanguíneo a través de las cámaras cardíacas [9].

La principal acción que ejecuta el corazón es la contracción, esto es llevado a cabo por la proliferación de impulsos eléctricos rítmicos, que ocasionan el latido cardiaco, este sistema está formado por: el nódulo sinoauricular, el nódulo atrioventricular, el haz de His y las fibras de Purkinje [6]. La conducción de los impulsos eléctricos en el corazón, se inician en el nodo sinoatrial (contracción de las aurículas), y se propaga a través del haz de His por las fibras de Purkinje, hasta los músculos papilares y los ventrículos, produciendo una contracción ventricular. La actividad del corazón consiste en la alternancia sucesiva de un movimiento de contracción, llamado sístole, y de uno de relajación, denominado diástole.

El ciclo completo, tiene una duración aproximada 0.8 segundos, éste se divide en tres periodos, el primero donde se contraen las aurículas, el segundo, donde se produce la contracción de los ventrículos y el tercero donde tanto las aurículas y los ventrículos se relajan [7].

3.1.1 Estructura Cardíaca

Existen dos estructuras principales que se distinguen en el corazón, el pericardio que es una estructura que envuelve al corazón, y la segunda, que está formada en tres capas: epicardio, miocardio y endocardio, es una capa celular, que recubre internamente toda la superficie cardíaca (figura 3).

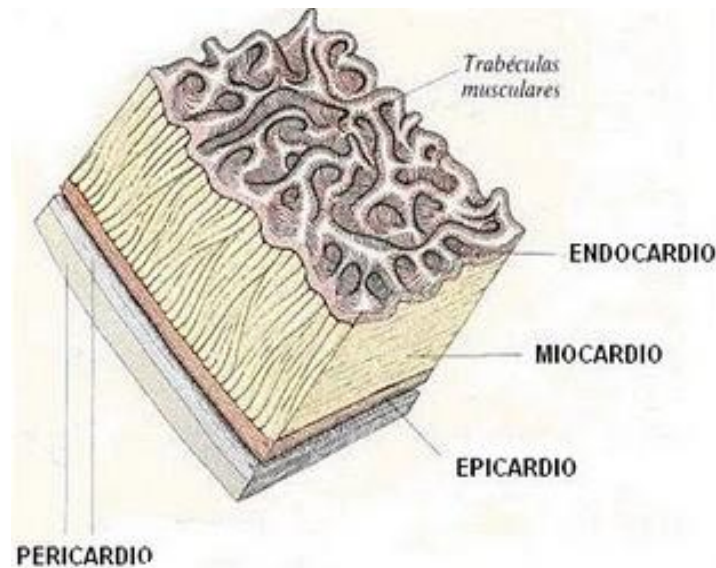


Figura 3.- Capas del corazón [10].

El pericardio, está formado por tejido conectivo fibroso y tejido conectivo seroso permite el mantenimiento de una porción fija cardíaca. El epicardio es una capa de tejido seroso y entre éste y el pericardio circula el líquido pericárdico, formando la cavidad pericárdica, que sirve para amortiguar los movimientos del corazón, la siguiente capa es el miocardio, es la capa más gruesa del corazón, El miocardio está compuesto de células o fibras musculares estriadas que se separan entre si por medio de una modificación de sarcolema o membrana celular. La íntima interconexión de unas células con otras, así como la buena conductibilidad eléctrica y transmisión de fuerzas a través de los puntos de contacto, hace que pueda considerarse al miocardio como un sincitio funcional (Figura 4).

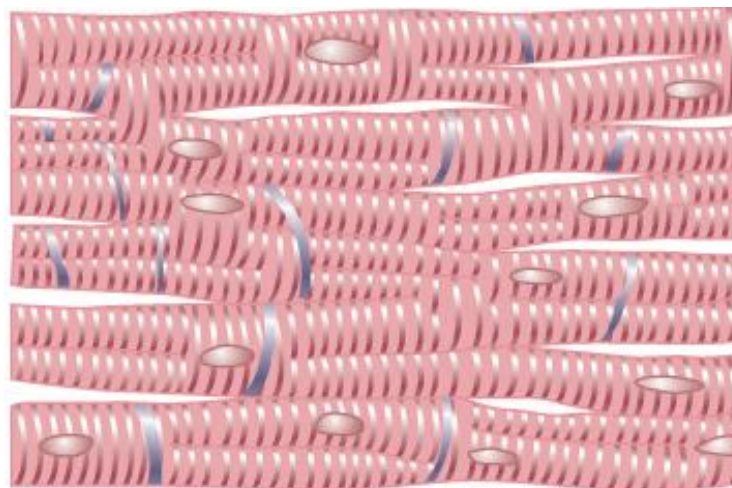


Figura 4.- Células de musculo cardiaco [10].

La fibra muscular contiene una serie de miofibrillas dispuestas paralelamente, cada una de las cuales ocupa toda la longitud celular y están formadas por unidades estructurales o sarcómeros que se repiten en serie, dando a la célula una apariencia estriada. El resto del protoplasma que se encuentra entre las miofibrillas contiene un núcleo, numerosas mitocondrias y un sistema tubular o retículo sarcoplásmico.

El sarcómero o unidad contráctil, está compuesto por dos clases de filamentos proteicos, unos delgados formados por agregados de actina y otros más gruesos de miosina. Los filamentos actínicos quedan fijados a unas bandas oscuras (bandas Z) que delimitan el sarcómero. La troponina es una tercera proteína que está unida al filamento de la actina y que inhibe el que la miosina conecte con la actina durante la fase de relajación miocárdica.

El retículo sarcoplásmico es un sistema túbulo membranoso con dos componentes, uno longitudinal aplicado a la superficie del sarcómero y otro transversal formado por invaginación del sarcolema o membrana celular y que rodea las miofibrillas a nivel de las bandas Z. Ambos componentes no se comunican, pero se contactan en ciertos puntos (cisternas) [8-11].

3.1.2 Válvulas cardiacas

Existen 2 válvulas que permiten el paso de la sangre de las aurículas, hacia los ventrículos, del lado derecho se localiza la válvula tricúspide y del lado izquierdo la bicúspide o mitral, que se abren y se cierran dependiendo del ciclo cardiaco, Diástole es la fase de llenado de las cavidades en las cuales las válvulas permanecen abiertas, y en Sístole las válvulas permanecen cerradas [9,10]. (Figura 5).

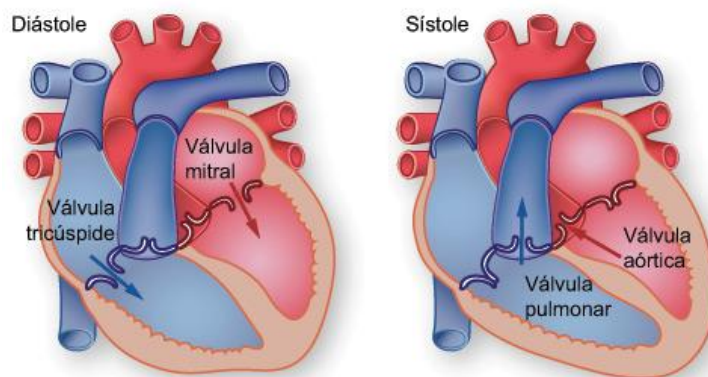


Figura 5.- Válvulas cardiacas [9].

3.1.3 Sistema especializado de conducción

Los músculos cardiacos especializados ubicados en las paredes del corazón envían señales al músculo cardiaco hacen que se contraiga. Los componentes principales del sistema de conducción cardiaca son el nodo SA, el nodo AV, el haz de His, la ramificación de fascículos y las fibras de Purkinje (Figura 6). El nodo SA (marcapasos anatómico) inicia la secuencia causando que los músculos auriculares se contraigan. De ahí, la señal pasa al nodo AV, a través del haz de His, hacia abajo por la ramificación de fascículos y a través de las fibras Purkinje, lo que causa que los ventrículos se contraigan. La señal crea una corriente eléctrica que puede ser observada en un gráfico llamado electrocardiograma (EKG o ECG). Los médicos pueden usar un ECG para monitorear la actividad eléctrica del sistema de conducción cardiaca [13]. (Figura 6).

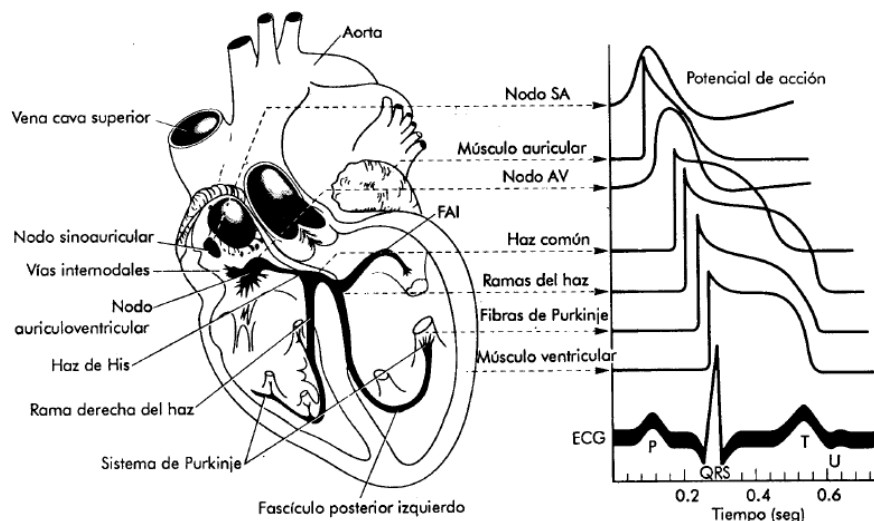


Figura 6.- Sistema Conductor del Corazón y Correlación con el ECG [10].

Las células cardiacas deben su excitabilidad eléctrica a canales de la membrana plasmática sensibles al voltaje y selectivos para diversos iones, como Na^+ , K^+ y Ca^{2+} [12].

3.1.4 Canales iónicos

Los canales iónicos pertenecen a una familia de proteínas que forman túneles macromoleculares a través de la membrana plasmática y que se encargan de controlar el flujo de partículas cargadas eléctricamente (iones) hacia el interior o el exterior de las células. Estas proteínas tan especializadas conducen los iones de una manera predecible y extremadamente eficiente (hasta 10^6 iones por segundo). El flujo iónico que se genera por la actividad de los canales crea corrientes eléctricas minúsculas (en el orden de 10^{-12} a 10^{-10} amperios por canal) suficientes como para producir cambios rápidos en el voltaje transmembranal, es decir el potencial eléctrico entre el interior y el exterior celular. En virtud de que los iones de Na^+ y Ca^{2+} se encuentran a concentraciones mayores en el espacio extracelular que en el interior de las células, la apertura de los canales iónicos selectivos a Na^+ o Ca^{2+} causa que estos cationes entren a la célula y despolaricen la membrana plasmática. En contraste, cuando los iones de K^+ salen o los iones Cl^- entran a la célula a través de canales abiertos, el interior celular se vuelve negativo o hiperpolarizado.

Los canales iónicos pueden estar abiertos o cerrados. El proceso de transición del estado abierto al estado cerrado (y *viceversa*) se conoce como *gating*. Algunos canales se abren o cierran aleatoriamente sin importar el valor del potencial membranaral y se dice que su *gating* es independiente de voltaje. En contraste, otros canales están normalmente cerrados, pero su probabilidad de apertura puede incrementarse de manera sustancial por cambios ocurridos en el potencial de membrana (canales iónicos sensibles a voltaje); por interacciones específicas con ligandos extracelulares o intracelulares (canales activados por ligandos), o por estímulos físicos (mecanorreceptores y canales sensibles al calor). Cuando un canal iónico se abre, los iones permeantes son capaces de moverse a través de él y la dirección en que se mueven, tal y como se mencionó anteriormente, está determinada por el gradiente electroquímico que representa la suma del gradiente químico a través de la membrana plasmática y el campo eléctrico que experimenta el ion. A continuación nos enfocaremos principalmente en los canales selectivos para cationes K^+ y Ca^{2+} [21,22].

Los canales de Ca^{+2} y K^+ , son una familia de proteína de membrana de amplia distribución y son receptores terapéuticos prometedores. Su anomalía provoca cambios importantes en los procesos fisiológicos incluyendo la señalización neuronal, contractilidad del músculo vascular, proliferación celular, liberación de neurotransmisores y secreción de insulina. De aquí que los agentes sintéticos que restablezcan las condiciones fisiológicas normales de la célula vía modulación selectiva de estos canales ofrecerán una potencial realista de terapias clara para estas condiciones patofisiológicas. La promesa de nuevos métodos terapéuticos mejorados acelera el proceso de identificación de nuevas moléculas o farmacóforos con potencial farmacológico único [10,12].

3.1.4.1 Canales de Potasio

Los canales de potasio conforman una familia muy amplia tanto en su diversidad como en sus funciones. Para su estudio se disponen de diversas técnicas modernas como, Electrofisiología, Biología Molecular, además de agentes antagonistas o agonistas farmacológicos de naturaleza peptídica y no peptídica que bloquen potente y selectivamente tipos particulares de canales de K^+ , permitiéndonos conocer más acerca de sus funciones fisiológicas. Es notable la relevancia terapéutica y farmacológica de estos canales.

Fármacos tales como las sulfonilureas (antidiabéticas) y algunos antiarrítmicos los bloquean, además se ha encontrado una nueva clase de agentes, los activadores de canales de K^+ con aplicaciones terapéuticas importantes dentro del área cardiovascular, neuronal y endócrino [10,12].

3.1.4.1.1 Estructura y Función de los Canales de K^+ Dependientes de Voltaje

Los experimentos de clonación molecular, así como las pruebas mutagénicas aportan evidencias que conducen a postular que todos los canales de potasio poseen básicamente la misma constitución del poro. Sin excepción, todos presentan una secuencia de aminoácido crítico, la secuencia de pliegues del canal de K^+ . La mutación de estos aminoácidos altera la habilidad de estos canales para diferenciar entre los iones de K^+ y Na^+ .

El canal de K^+ es un tetrámero con un eje de simetría C_4 alrededor de un poro central (Figura 7, A y B). Como otras muchas proteínas de membrana, el canal presenta dos capas de aminoácidos aromáticos posicionados de manera que se extiende dentro de la bicapa lipídica, presumiblemente cerca de los interfaces agua-membrana (Figura 7 C). Cada subunidad posee dos α -hélices transmembranales unido por la región del poro de aproximadamente 30 aminoácidos, que forma la torrecilla, la hélice del poro y el filtro de selectividad (Figura 7, A y B). La subunidad se encuentra insertada dentro del tetrámero de tal forma que la hélice transmembranal (hélice interna) encara el poro central mientras que el otro (hélice externa) encara la membrana lipídica [10,12].

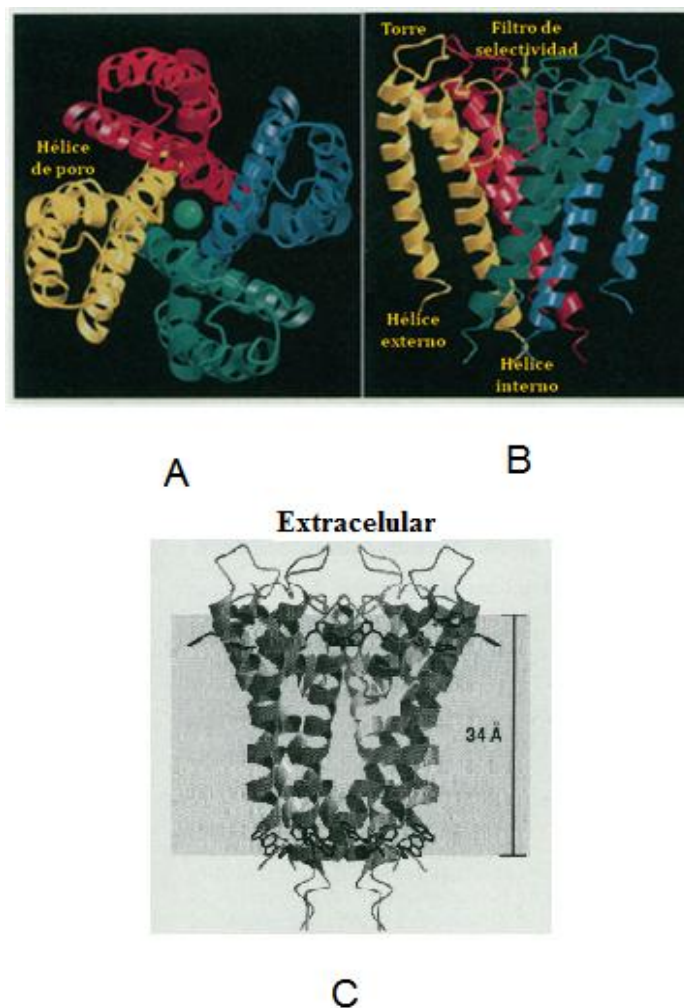


Figura 7. Vista del tetrámero. (A) Representación espacial que muestra el plegamiento tridimensional del tetrámero visto desde la perspectiva extracelular; (B) Otra perspectiva del tetrámero, perpendicular a (A); (C) Representación en listón del tetrámero como una proteína integral de membrana. Los aminoácidos aromáticos sobre la superficie interna de la membrana se muestran en negro [10].

Todos los canales de potasio son miembros relacionados de una sola familia de proteínas. Sus secuencias de aminoácidos son muy fáciles de reconocer porque contienen un segmento altamente conservado llamado la secuencia de la firma del canal de potasio.

Esta secuencia forma un elemento estructural conocido como el filtro de selectividad, que previene el paso de los iones de sodio pero permite que los iones de potasio pasen a través de la membrana en circunstancias que se acerquen al límite de difusión.

La diversidad entre los diversos miembros de la familia del canal de potasio se relaciona principalmente con las diversas maneras en las cuales los canales de potasio están abiertos o bloqueados. La forma en la que los canales de potasio se abren para permitir que los iones potasio atraviesen la membrana celular, es un proceso que es crucial en muchos procesos biológicos.

Por su alta selectividad, se pensaría que el potasio quedaría firmemente unido dentro del canal y no difundiera rápidamente por el poro, pero esto no suele ocurrir por dos razones:

a. El filtro de selectividad contiene más de un ión de modo que la repulsión entre los iones que están cerca ayudan a superar la afinidad intrínseca que cada ión tiene para su sitio obligatorio.

b. La estructura del filtro de selectividad depende de la presencia de los iones de potasio. La entrada del segundo ión hace un cambio conformacional del filtro, lo cual hace que los demás iones se aten menos firme y difundan más fácilmente. El papel catalítico fundamental de todos los canales de potasio es conducir los iones de potasio a través de la membrana de la célula.

Una vez que se abre el canal, debe existir un mecanismo para cerrarlo, el mecanismo más aceptado es el de la cadena y la bola. Según este modelo una compuerta del lado extracitoplasmático se cierra en ausencia de iones de potasio provenientes del exterior, Esta compuerta suele ser los primeros residuos de aminoácidos de una subunidad alfa o beta (o ambas). Un canal iónico se puede volver a abrir, por lo que el canal, al cerrarse, no forma ningún enlace covalente nuevo. El sistema de cerrar las compuertas está relacionado con el desfavorecer el flujo del ión en cierta dirección. Cuando la concentración del ión cambia, también ocurre un cambio en el potencial de Nernst para este ión, esto causa el cambio conformacional. Sin embargo, al menos en los canales de potasio operados por voltaje, este no es el único mecanismo para cerrar el canal. El otro mecanismo parece no ser tan usado por la célula. Este se basa en un ión de magnesio que tapa el canal. El magnesio se encuentra en el citoplasma, y en ciertas condiciones se ve atraído al canal. Sin embargo, si esto pasa se tiene como resultado, cerrar la compuerta [10,12].

3.1.4.1.2 Canales voltaje dependiente

Estos canales median la conductancia de iones en respuesta a un cambio en el potencial de membrana. Son muy selectivos para cada ión, ofreciendo una elevada conductancia (10^7 iones por segundo). Su actividad es controlada a escala de milisegundos por la activación e inactivación de los cambios en el potencial de membrana. También puede ser regulado en una escala de tiempo mayor por la activación de receptores asociados a proteína G que tienen como elemento efector al propio canal iónico (ocurre en membrana y es independiente de segundo mensajero). En este tipo de canales la despolarización de la membrana causa un cambio conformacional que lleva a la apertura del canal lo que permite la entrada de iones [10,12].

3.1.4.1.3 Canales rectificadores de entrada

Son canales que generan corrientes rectificadoras de entrada. Determinan potenciales de transmembrana en reposo de la mayoría de las células porque se encuentran abiertos en una situación de equilibrio. Al igual que los canales dependientes de voltaje, están formados por subunidades sencillas [10,12].

3.1.4.1.4 Canales de potasio activados por Ca^{2+} (ligando)

Aunque tienen una estructura secundaria muy similar a los canales voltaje dependientes, se comportan como si fueran rectificadores de entrada, pues conducen corrientes mucho más eficientemente hacia el interior de la célula que hacia el exterior. Los canales de potasio activados por Ca^{2+} , se abren ante un cambio en la concentración intracelular de calcio [10,12].

3.1.4.1.5 Canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP})

Los canales K_{ATP} en su conjunto son activados por el ATP extracelular y son inhibidos por el fármaco sulfonilurea que facilita la liberación de insulina en las células β del páncreas precisamente como consecuencia del cierre del canal.

Normalmente estos canales están abiertos a las concentraciones usuales de ATP y contribuyen de forma sustancial a mantener el potencial de membrana en reposo de las células β . [10,12].

3.1.4.2 Canales de Calcio

3.1.4.2.1 Relación Estructura-Actividad de los Canales de Ca^{+2}

Los canales de Ca^{+2} son dianas farmacológicas importantes para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Se han identificado varios residuos importantes para la unión de los antagonistas de canales de Ca^{+2} , igualmente se han realizado avances importantes en la caracterización de la estructura del poro del canal de Ca^{+2} .

Estructuralmente, estos canales están constituidos por cuatro dominios homólogos o subunidades (I, II, III, IV) de seis segmentos transmembranales S1-S6, dispuestos simétricamente alrededor de un poro central (Figura 8). El filtro de selectividad está formado por las partes de los segmentos extracelulares S4-S5 (haza P), que poseen un patrón altamente conservado de cuatro glutamatos (El locus EEEE). El poro exterior está cubierto por las hazas P y el poro interior está cubierto por los cuatro segmentos S6 y posiblemente por los cuatro segmentos S5. Diferentes métodos experimentales sugieren que los dos segmentos transmembranales S6 del dominio III y IV interactúan con el antagonista, aunque también existen reportes donde se afirma que la parte intermedia del dominio III S5 también participa en la unión del antagonista.

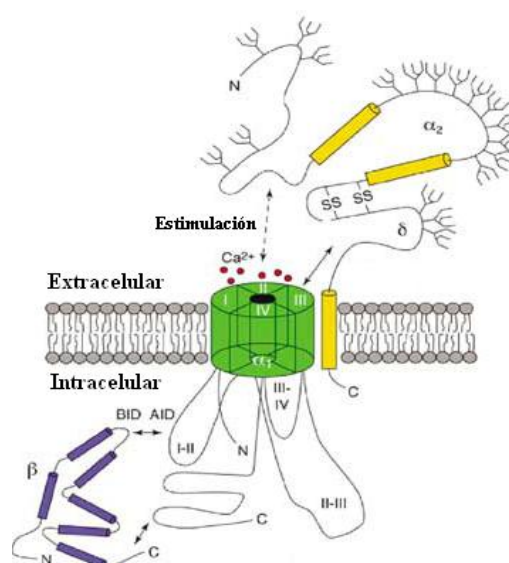


Figura 8. Representación de la estructura de los canales de Ca^{+2} [17].

La característica más notoria de todos los antagonistas del calcio es su capacidad de inhibir en forma selectiva el flujo hacia el interior de la célula de los iones de calcio, cuando el canal de calcio se torna permeable o se “abre”. Antes se utilizaba el término *canal lento*, pero en la actualidad se sabe que el flujo de calcio discurre mucho más rápido de lo que se creía y que hay por lo menos dos tipos de canales de calcio: el L y el T. El canal de calcio convencional, ahora bien establecido, es el denominado *canal L*, que bloquean los antagonistas del calcio, y cuya función aumenta como reacción a la actividad de las catecolaminas. La función del canal L es permitir la entrada de cantidades significativas de iones calcio, que son necesarias para el inicio de la contracción mediante la liberación de calcio inducida por el mismo ion proveniente del retículo sarcoplasmático. El canal de tipo T se abre cuando el potencial de acción negativo es más negativo que el de tipo L y quizá tenga un papel primordial en el inicio de la despolarización, y el tejido del nodo AV. También tiene una sobre-regulación relativa en el miocardio insuficiente [10,11].

Las diferentes enfermedades asociadas a canales iónicos son variadas tanto en su fisiopatología como en las causas que los provocan, generalmente se asocian a una regulación anómala de los canales iónicos. Por ello, los fármacos utilizados para el tratamiento de dichas enfermedades buscan restablecer o regular la conductancia iónica como estrategia terapéutica. Sin embargo, estos agentes químicos en el mayor de los casos no presentan una estructura-actividad definida, encontrándose moléculas con una estructura química heterogénea.

Al respecto, se sabe que la clase estructural de la 1,4-dihidropiridina (1,4-DHP) estimula canales de K^+ y Ca^{+2} , que sugiere una característica farmacofórica común (v.g. grupos hidrofóbicos, anillos aromáticos electro atractores y sitios de formación de enlaces de hidrógeno), responsable de la modulación de estos canales iónicos. A pesar de que los agentes bloqueadores de Ca^{+2} tipo L son los más ampliamente estudiados, se han dado a conocer un número de moléculas activadores de canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}^+) con estructura de 1,4-DHP.

3.1.5 Metabolismo miocárdico y consumo de oxígeno

El músculo cardíaco, igual que el músculo esquelético, utiliza energía química para lograr la contracción. Esta energía deriva fundamentalmente del metabolismo oxidativo de los ácidos grasos y, en menor medida, de otros nutrientes, sobre todo lactato y glucosa. Por consiguiente, el ritmo de consumo de oxígeno por el corazón es una medida de excelente de la energía química que se libera mientras éste realiza su trabajo.

Normalmente, la glucosa es fuente de energía miocárdica más importante durante el periodo postprandial, mientras que los ácidos grasos lo son en estados de ayuno. El lactato, piruvato, acetato, cuerpos cetónicos y aminoácidos intervienen en proporción muy escasa. Por lo tanto, la energía proviene fundamentalmente de la glicólisis, de la oxidación de ácidos grasos, y sobre todo del ciclo de Krebs. Estos tres tipos de reacciones desprenden simultáneamente átomos de hidrógeno y electrones; y luego ambos elementos pasan por una cadena enzimática de transporte y liberan su alto contenido de energía y se combinan con el oxígeno. De ahí que en todo momento la magnitud del trabajo cardíaco, equivale aproximadamente al consumo de oxígeno miocárdico [10,11].

Pero el corazón no actúa en forma independiente. El cerebro detecta las condiciones a nuestro alrededor (el clima, los factores estresantes y el nivel de actividad física) y regula el aparato cardiovascular para poder satisfacer las necesidades del organismo en esas condiciones.

3.2 Fisiopatología del Sistema Cardiovascular

El corazón humano es un músculo que puede mantenerse fuerte y funcionar bien durante cien años o más. Si reducimos los factores de riesgo cardiovascular, se puede mantener sano el corazón durante más tiempo.

Sin embargo, el estrés, la obesidad, la diabetes entre otras enfermedades de tipo crónico degenerativas, llegan a producir enfermedades cardiovasculares, que por lo general el tratamiento consiste en medidas no farmacológicas tales como el aumento de ejercicio, disminución en la ingesta de sal y de las grasas saturadas e incremento de frutas y fibra en la dieta y reducción del consumo del alcohol, posteriormente se introduce, de manera escalonada, los fármacos, comenzando por

los de eficacia demostrada y con menores efectos secundarios [12]. Dentro de las enfermedades cardiovasculares destaca la hipertensión arterial (HTA) que es una de los principales problemas de salud prevalentes en la población mexicana [2].

3.2.1 Hipertensión Arterial (HTA)

La más reciente Encuesta Nacional de Salud señala que aproximadamente 30% de los adultos mayores de 20 años padecen de algún grado de hipertensión arterial; aproximadamente del 90 al 95% de las personas con esta enfermedad padecen la HTA primaria (idiopática), mientras que entre el 5 y el 10% del total de los hipertensos padecen HTA de tipo secundaria [2], provocando graves complicaciones como son las enfermedades del corazón, La HTA puede ser dañina por efectos primarios, ya que genera aumento del trabajo del corazón y lesión de las propias arterias por la presión excesiva, ya que la tensión arterial persistentemente elevada produce hipertrofia del ventrículo izquierdo y de las arterias de resistencia, con estrechamiento de la luz. El riesgo coronario es paralelo al aumento de la hipertrofia del tejido muscular; igualmente se desarrolla isquemia del ventrículo izquierdo, a medida que aumenta la HTA, ésta puede ser suficientemente peligrosa para que la persona sufra angina de pecho. Por desgracia la HTA es prácticamente asintomática, de ahí que algunos la denominen “el enemigo silencioso” dado que en muchas ocasiones solo puede identificarse en el curso del examen físico del paciente.

La presión muy elevada en las arterias coronarias desarrolla arteriosclerosis coronaria de manera que los pacientes pueden morir por oclusión coronaria; asimismo, la presión arterial (PA) elevada puede ocasionar daños a nivel de la pared arterial, induciendo diversas consecuencias dependiendo del territorio arterial lesionado: si es cerebral, generará un accidente vascular cerebral; si es coronario, provocará infarto de miocardio o fallo del corazón; si es a nivel de riñón, conducirá a insuficiencia renal.

La HTA se define como un aumento sostenido de la PA $\geq 140/90$ mmHg, es decir, 140 mmHg (presión sistólica o por contracción del corazón) sobre 90 mmHg (presión diastólica o por reimpulso de las arterias). Sin embargo el riesgo de una enfermedad cardiovascular, letal o no, es más bajo con presiones arteriales sistólicas menores de 120 mmHg y presión arterial diastólica inferior a 80 mmHg; estos riesgos aumentan de manera progresiva con presiones sistólicas y diastólicas más altas. [15].

La terapia farmacológica casi nunca puede atender a la etiología y se limita a reducir la presión arterial con un triple objetivo: mejorar los síntomas, prevenir las complicaciones y mejorar la esperanza de vida de los pacientes. Esto lo hace actuando sobre los factores que determinan la presión arterial: volemia, gasto cardiaco y resistencias vasculares periféricas.

Cuando los pacientes con la presión arterial elevada se mantienen asintomáticos, la decisión terapéutica es difícil de emprender y el cumplimiento por parte del paciente no suele ser el adecuado. La terapéutica antihipertensiva trata de conseguir un tratamiento sencillo y bien tolerado, seleccionado de acuerdo con las características del paciente y proporcionado a la gravedad de la enfermedad. Para el tratamiento de la HTA se involucra fármacos, estructuralmente diversos, que disminuyen la presión arterial, el GC al inhibir la contractilidad miocárdica o disminución de la presión del llenado ventricular, (Figura 9) y otros fármacos que actúan en el músculo liso a fin de relajar los vasos de resistencia o al interferir con la actividad de los sistemas que causan constricción de los mismos.

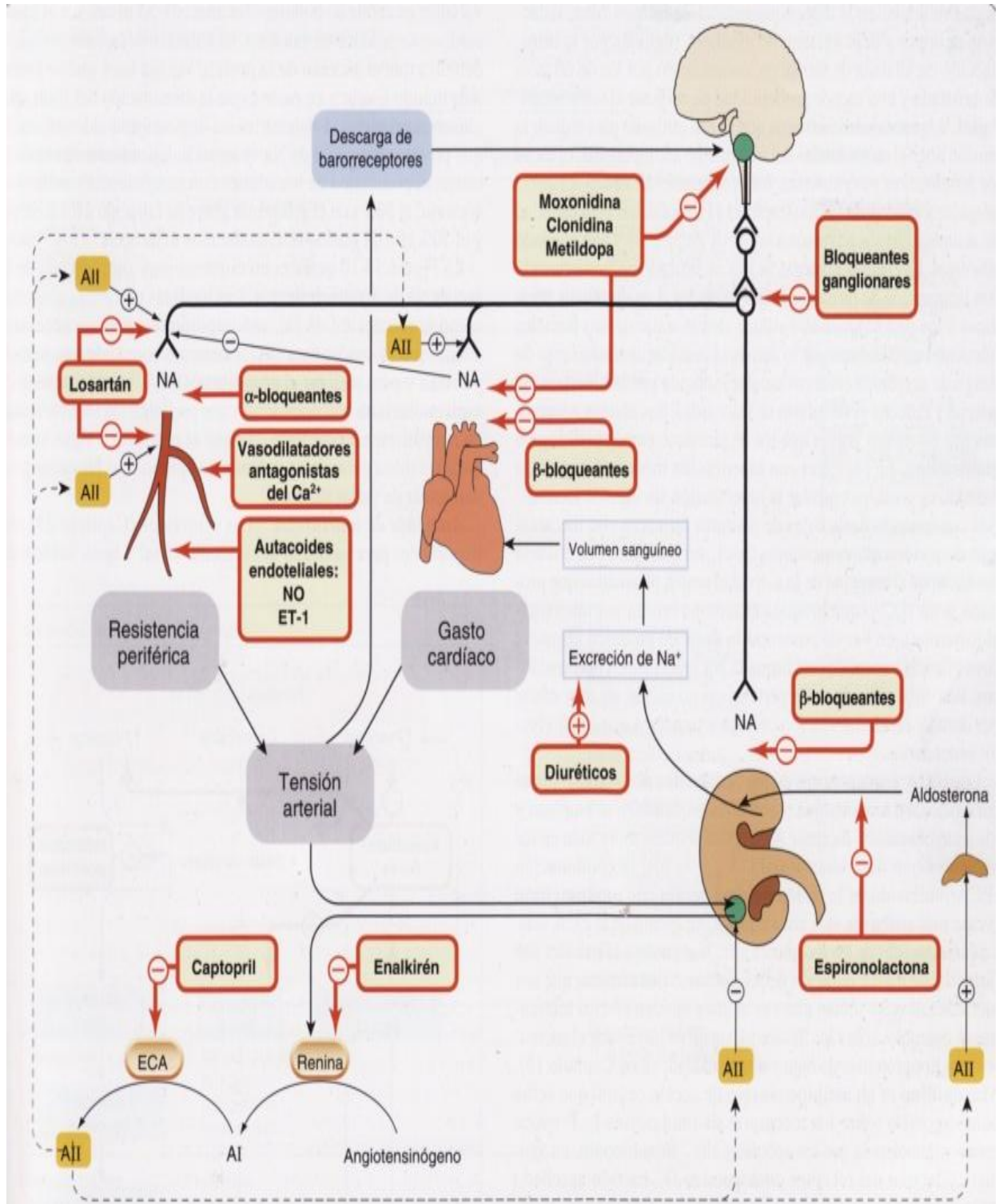


Figura 9.- Esquema de los principales mecanismos que intervienen en la regulación de la tensión arterial y lugares de acción de los antihipertensivos. (Angiotensina I, AI; angiotensina II, AII; enzima convertidora de la angiotensina, ECA; endotelina-1, ET-1; noradrenalina, NA; óxido nítrico, NO) [12].

3.2.2 Tratamiento de la HTA

En la clínica se emplean alguno o algunos de los siguientes tipos de fármacos.

3.2.2.1 Diuréticos

Se encuentran entre los medicamentos más utilizados en la clínica cotidiana. Actúan forzando la eliminación de agua, Na^+ y K^+ a través del riñón, consecuentemente disminuye el volumen plasmático siguiendo un descenso de la PA (figura 10).

Tiazídicos y fármacos relacionados: Hidroclorotiazida (**1**), Clortalidona (**2**).

Diuréticos de asa: Furosemida (**3**).

Diuréticos ahorradores de K^+ : Espironolactona (**4**).

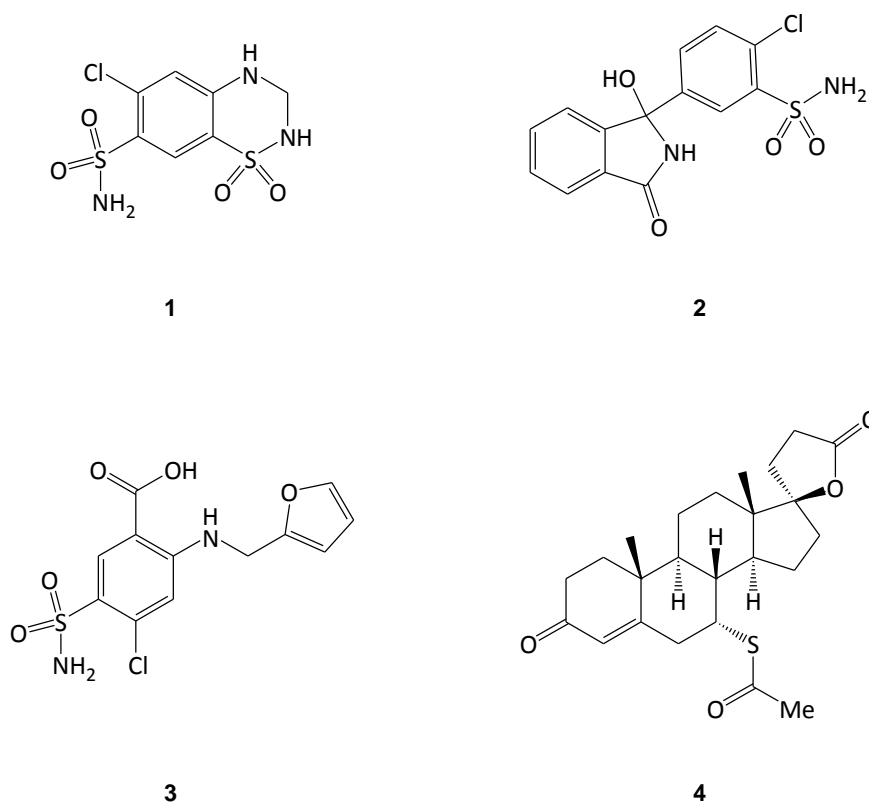
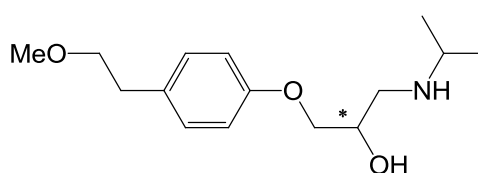


Figura 10.- Diuréticos empleados en terapia de HTA, poseen efectos antihipertensores al ser administrados solos y aumentan la eficacia de casi todos los otros antihipertensivos en la terapia combinada [15].

3.2.2.2 Simpaticolíticos.

3.2.2.3 Antagonistas adrenérgicos β (β -bloqueadores).

Actúan inhibiendo la respuesta al estímulo adrenérgico, al bloquear los receptores beta del sistema nervioso simpático (SNS), localizados en el miocardio y a nivel vascular, producen disminución de la PA, de la frecuencia del pulso y de la fuerza de contracción del miocardio por ejemplo el Metoprolol (**5**), figura 11.

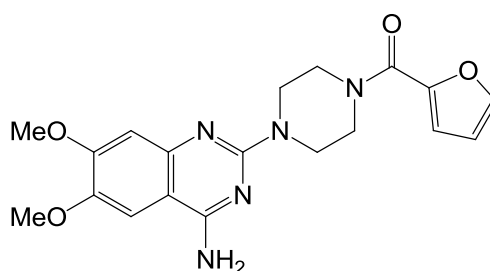


5

Figura 11.- Antagonista adrenérgico β [15].

3.2.2.4 Antagonistas adrenérgicos α (α_1 -bloqueadores).

Este grupo farmacológico está compuesto por derivados de quinazolina y actúan mediante el bloqueo de los receptores α_1 -adrenérgicos. Producen vasodilatación arterial, con lo que reducen la resistencia vascular periférica por ejemplo la Prazosina (**6**) figura 12.

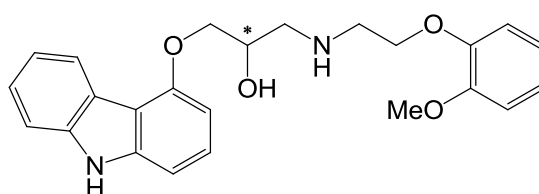


6

Figura 12.- Antagonista adrenérgico α [15].

3.2.2.5 Antagonistas adrenérgicos mixtos (α y β adrenérgicos).

Son fármacos que producen un efecto antagonista selectivo sobre los receptores α_1 -adrenérgicos y no selectivo sobre receptores β , por ejemplo Carvedilol (7) figura 13.

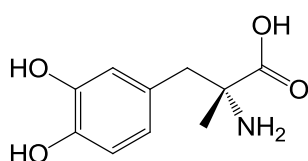


7

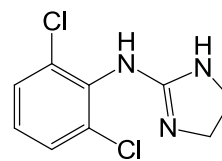
Figura 13.- Antagonistas adrenérgicos mixtos [15].

3.2.2.6 Fármacos de acción central.

Es un grupo de fármacos antihipertensivos potentes, que actúan mediante la estimulación de receptores α_2 -adrenérgicos actuando a nivel del sistema nervioso central (SNC), esto produce reducción de la actividad simpática periférica y disminuye la resistencia vascular sistémica. Por este mismo mecanismo inducen reducción leve de la frecuencia y gasto cardiaco. Este grupo comprende al Metildopa (8) y Clonidina (9) figura 14.



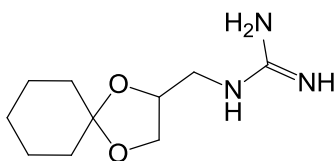
8



9

Figura 14.- Fármacos de acción central [15].

3.2.2.7 Bloqueadores de neuronas adrenérgicas: Guanadrel (10) figura 15.



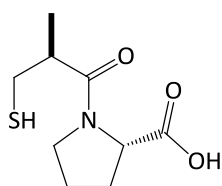
10

Figura 15.- Guanadrel [15].

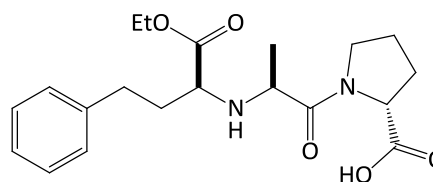
3.2.2.8 Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA).

La angiotensina II es un potente vasoconstrictor que se produce por la acción de la IECA en un sustrato, la angiotensina I.

Los inhibidores de la ECA (figura 12) bloquean esta enzima con lo que la producción de angiotensina II se reduce, y así disminuye su efecto vasopresor. El sistema renina-angiotensina constituye parte de los mecanismos homeostáticos que controlan la presión sanguínea y la composición electrolítica de los líquidos orgánicos, su estimulación genera un incremento en el volumen plasmático; asimismo, la inhibición de este sistema genera vasodilatación arteriolar, con el consiguiente descenso de la PA por ejemplo de estos fármacos son Captoprilo (11), y Enalaprilo (12) figura 16.



11



12

Figura 16.- Fármacos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina muy útiles en la terapia de la HTA debido a su eficacia y espectro muy favorable de efectos secundarios [15].

3.2.2.9 Antagonistas del receptor de Angiotensina II AT₁ (ARA-II).

Este grupo de medicamentos poseen efecto, utilidad y tolerancia similares a los del grupo anterior. Pero a diferencia de éstos, su acción involucra la inhibición competitiva del receptor AT₁ de la angiotensina II, localizada en el corazón, vasos sanguíneos, riñón y la corteza suprarrenal. Los medicamentos incluidos en este grupo son. Losartán (**13**), Irbesartán (**14**) figura 17.

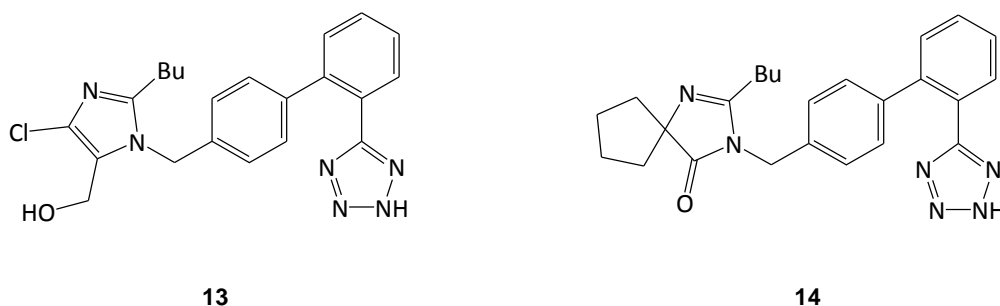


Figura 17.- Antagonistas de los receptores de Angiotensina II del subtipo AT₁, estos medicamentos relajan el músculo liso y consecuencia promueven vasodilatación [15].

3.2.2.10 Bloqueadores del canal de Ca²⁺.

Los fármacos comprendidos en esta categoría producen relajación de la musculatura lisa arterial debido a su interferencia en el metabolismo del Ca²⁺ celular: Nifedipina (**15**), Verapamilo (**16**), Diltiazem (**17**). Estos fármacos bloquean la entrada de Ca²⁺ al impedir la apertura de los canales de Ca²⁺ regulados por el voltaje tipo L (figura 18).

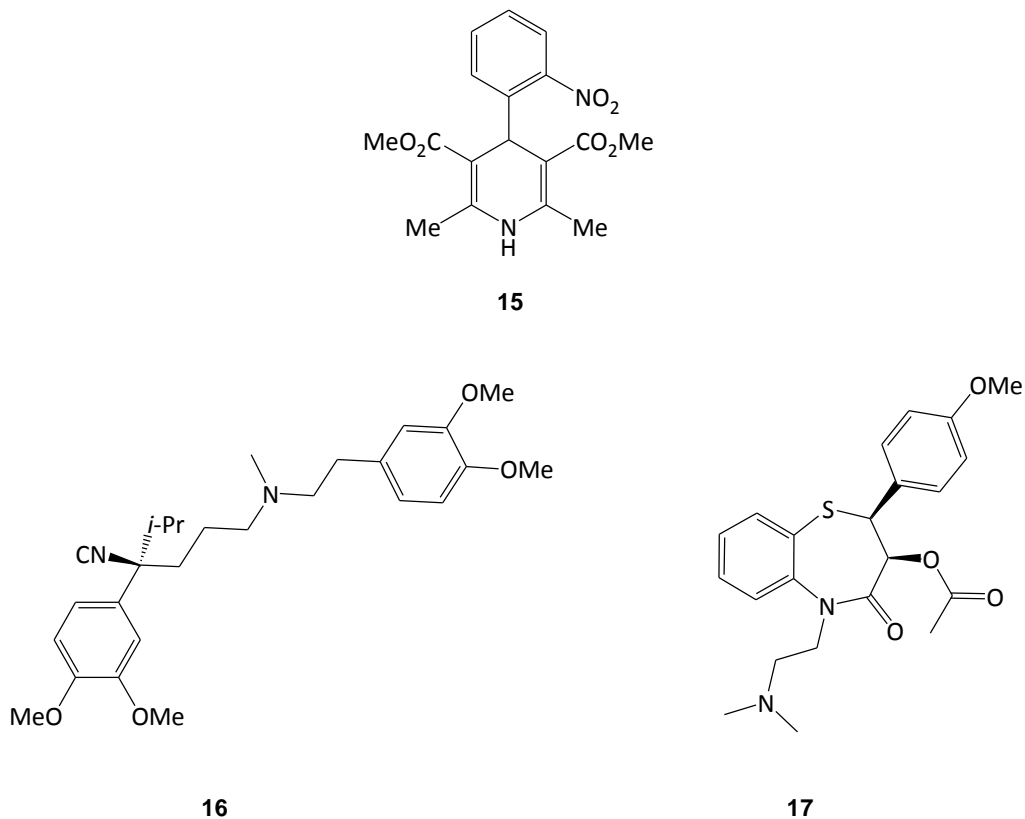
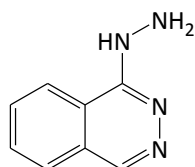


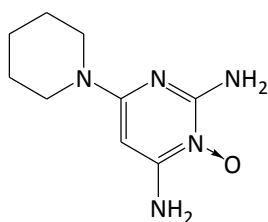
Figura 18.- Antagonistas de los canales de Ca²⁺, sus diversas estructuras originan variaciones en los sitios y formas de acción de la entrada de Ca²⁺ a las células musculares [15].

3.2.2.11 Vasodilatadores directos de la fibra muscular lisa arterial.

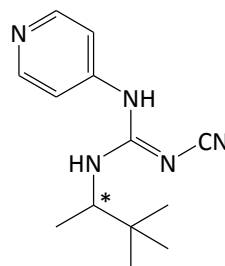
En este grupo podemos encontrar a la Hidralazina (**18**) y los activadores del canal de K⁺ Minoxidilo (**19**) y Pinacidilo (**20**). Los activadores del canal de K⁺ aumentan la permeabilidad de la membrana para el K⁺, lo que hace que se hiperpolaricen las células y se desactiven los canales de Ca²⁺ dependientes del voltaje (Figura 19).



18



19



20

Figura 19.- Fármacos vasodilatadores de acción directa en músculo liso aplicados en clínica. La Hidralazina provoca vasodilatación mediante un mecanismo desconocido, mientras que el Pinacidilo y Minoxidilo induce una hiperpolarización de la membrana celular a través de la modulación de canales de K^+ [15].

3.3 Química medicinal

En casos de pacientes con HTA grave se emplean tratamientos que incluyen diversos tipos de fármacos; en este sentido, la química medicinal desempeña un papel trascendental en el diseño y la síntesis de nuevos fármacos más potentes a fin de reducir los efectos adversos generados durante su administración.

La Química Medicinal es la ciencia que estudia el diseño y descubrimiento de nuevas entidades químicas, así como de su optimización y desarrollo como potenciales fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades [14]. El principal objetivo de la química medicinal es explicar la relación que existe entre la estructura química de un fármaco y las propiedades físicas de éste, con respecto a la actividad biológica obtenida, que resulten más potentes, más selectivos y menos tóxicos en su acción terapéutica, lo que involucra también verificar la estabilidad del compuesto y la interacción del mismo con las estructuras biológicas en el organismo. Por tal motivo es necesario para un químico medicinal entender, no sólo el mecanismo por el cual un fármaco ejerce su efecto, sino también las propiedades fisicoquímicas de la molécula, estas propiedades se refieren a la influencia de los grupos funcionales que contiene la

molécula: sus propiedades ácidas o básicas, solubilidad en agua, coeficiente de partición, estructura cristalina, estereoquímica, etc. Todas estas propiedades influyen, en la acción terapéutica, además de determinar sus propiedades farmacocinéticas [17,18].

Los compuestos químicos, especialmente los fármacos, generalmente se derivan de las plantas y de otras fuentes naturales, y han sido utilizados con diversos fines terapéuticos, entre ellos encontramos como ejemplo a la aspirina; pero no fue sino hasta el siglo XIX que estos “remedios” que fueron en su momento preparaciones primitivas de materiales de plantas cuya composición se desconocía, sufrieron una revolución gracias a la síntesis orgánica, la cual enfocó sus esfuerzos en la identificación de las estructuras y de principios activos para elaborar agentes más eficaces. Una vez que se determina la estructura molecular de un principio activo existe un mejor entendimiento del funcionamiento de éste [18]. Teniendo las estructuras bien identificadas de los principios activos se puede ahora establecer una relación de dichas estructuras con los efectos que van a tener sobre el organismo. La química medicinal se ha basado en el paradigma de la relación cuantitativa estructura –actividad, QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship por sus siglas en inglés) [17].

Este fundamento plantea a la actividad como una función de la estructura, es decir, es un proceso en el cual la actividad de un fármaco depende principalmente de la estructura que éste tenga, no obstante los avances en la tecnología y en el área computacional permiten delinear y refinar las variables que definen este paradigma. El objetivo principal del QSAR se concentra en la habilidad de predecir, desde la interacción y receptividad, hasta los mecanismos de acción del fármaco.

Actualmente se puede apreciar de manera muy clara la aplicación de las técnicas QSAR en la química medicinal, tanto en el diseño de un nuevo fármaco o bien rediseñando uno ya existente, con estas técnicas se intenta modificar la potencia de dichos fármacos, por medio de la transformación de la estructura química de éstos [19].

3.3.1 Bioisosterismo

Es una estrategia de química medicinal que se encarga del diseño racional de nuevos fármacos, el isosterismo es un concepto químico que se ha aplicado al desarrollo de nuevas moléculas con actividad farmacológica. En la definición original de Langmuir utilizaba este término para describir la semejanza en propiedades físicas y químicas que presentan una serie de iones y moléculas que contienen el mismo número de átomos y electrones de valencia, Grimm extendió el concepto a los sistemas biológicos, como isósteros a aquellos átomos, iones o moléculas que tienen idénticas capas electrónicas externas, esta definición ha sido ampliada en los últimos tiempos para incluir grupos funcionales que suelen producir actividades biológicas similares, y fue descrito por Friedman como bioisosterismo; por lo tanto, pueden definirse como bioisósteros a las moléculas o grupos que debido a poseer propiedades físicas o químicas análogas, producen una respuesta farmacológica semejante u opuesta (Figura 20) [19].

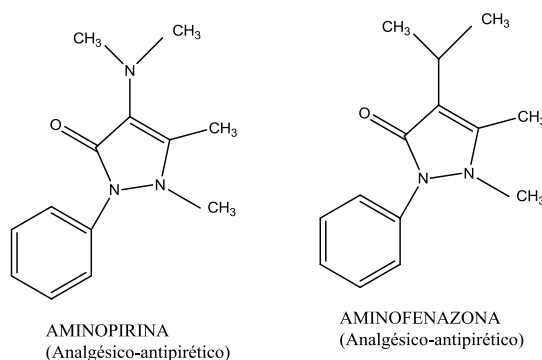


Figura 20.- Bioisosterismo clásico [19].

Como hemos visto, las estrategias de modificación molecular son necesarias para hallar moléculas con probable acción farmacológica; por tanto, su manipulación constituye el establecimiento de relaciones estructura-actividad, que es uno de los objetivos más importantes de la química farmacéutica.

El bioisosterismo representa un método empleado por el Químico Medicinal para llevar a cabo la modificación racional de los compuestos cabeza serie en agentes clínicamente más efectivos y seguros [19].

3.3.2 Sustituciones Bioisostéricas Potenciales en Estructuras de Dihidropirimidina con Actividad Bloqueadora de Canales de Ca^{+2} .

Las moléculas con estructura de dihidropirimidina (DHPM) son quimiotipos de los fármacos antihipertensivos pertenecientes a la clase de las dihidropiridinas (DHP) ampliamente prescritos en la clínica.

Recientemente, en la búsqueda de nuevos compuestos de utilidad terapéutica con propiedades farmacocinéticas y farmacodinamias mejoradas, la estructura de DHPM apropiadamente funcionalizada en C-2 ha sido objeto de amplias investigaciones con el propósito de mejorar la capacidad moduladora o bloqueadora de los canales de Ca^{+2} en las membranas de músculo liso vascular. Al respecto, la sustitución bioisostérica ha sido una herramienta apropiada que ha permitido a los químicos sintéticos y medicinales diseñar, sintetizar y evaluar un gran número de análogos isostéricos en C-2 con la estructura general que se muestra en el compuesto **21**. Los estudios farmacológicos demuestran que la naturaleza química del grupo funcional sobre el C-2 influye de manera importante sobre la actividad biológica de estos compuestos.

Los resultados reportados, mismos que se presentan en la Tabla 2, concluyen que cuando el fragmento X representa un átomo de oxígeno (=O, **21a**) o un grupo imino (=NH, **21b**) para formar fragmentos con estructuras de 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-ona y 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-imino, respectivamente, se obtienen compuestos análogos con potencias similares. Sin embargo, la sustitución de X por un átomo de azufre (=S, **21c**) para generar el fragmento de 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-tiona provoca una actividad biológica mejorada. Esta mayor potencia, así como la retención de la actividad farmacológica se ha explicado en función del tamaño, descrito aquí como el radio de Van der Waals, y la habilidad de los sustituyentes para formar enlaces de hidrógeno. Así los compuestos **21a** y **21b**, que poseen un grupo funcional de tamaño similar, resulta en una potencia parecida.

Sin embargo, el compuesto **21c** genera la formación de moléculas estructuralmente análogas con una orden de magnitud más potente [16, 23].

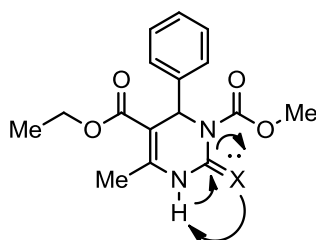


Figura 21.- Estructura molecular del compuesto 21.

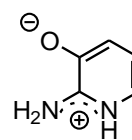
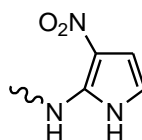
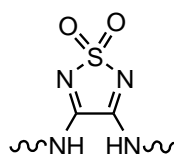
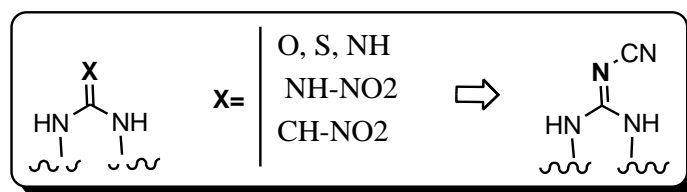
Tabla 1. Actividad bloqueadora de los canal de Ca^{+2} de 1,4-dihidropirimidinas.

| | X | Van der Waal (r, A°) | IC ₅₀ (nM) ^a |
|------------|----|----------------------|------------------------------------|
| 21a | O | 1.40 | 140 |
| 21b | NH | 1.50 | 160 |
| 21c | S | 1.85 | 170 |

^aConcentración que produce el 50% de inhibición, determinado por la actividad vasorelajante con aorta torácica de conejo despolarizada con potasio.

3.3.2.1 Explorando el Grupo N-cianoguanidina como Bioisósteres de Urea y Tiourea en Moléculas con Estructura de Dihidropirimidina.

El grupo *N*-cianoguanidina (Figura 22) ha sido reportado como bioisostéres no clásico de la tiourea, urea, guanidina y 2-nitroeteno-1,1-diamina en diversos proyectos de investigación en Química Medicinal.

Figura 22. Estructura química de la urea, tiourea, guanidina, 2-nitroeteno-1,1-diamina (izquierdo) y *N*-cianoguanidina (derecha) [16,17].

La guanidina y la tiourea o la urea difieren de manera importante en algunas de sus propiedades fisicoquímicas. Mientras que la tiourea y la urea son moléculas

esencialmente neutras, pKa 1.2 y 0.2, respectivamente, la guanidina es una de las bases más fuertes que se conocen, pKa 13.6, por lo que el grupo guanidino puede existir casi completamente como una especie monocatónica cargada bajo condiciones fisiológicas, la que resulta importante para las interacciones ligando-receptor específicas. Sin embargo, esta propiedad química se puede modificar apropiadamente mediante la incorporación de funcionalidades electró atractores apropiadas, como el grupo nitro (-NO₂) o nitrilo (-CN) sobre uno de los átomos de nitrógeno, para obtener valores de pKa de -0.9 a -0.4, y otros parámetros fisicoquímicos comparables a la tiourea y urea (Tabla 2) [16].

A la luz de estos resultados experimentales, resulta evidente que estas propiedades fisicoquímicas asociadas de manera importante a la actividad biológica pueden ser aplicadas en el proceso farmacomodulación que conduzcan a establecer interacciones adicionales ligando-receptor específica, así como para alterar la lipofilidad de los compuestos [16,17].

Tabla 2. Comparación de las propiedades fisicoquímicas de la cianoguanidina y la tiourea.

| | | Tiourea | Cianoguanidina |
|--------------|-----------------------|---------|----------------|
| | | G=S | G=N-CN |
| Geometría | | | |
| | Longitud de Enlace CN | 1.34 Å | 1.34 Å |
| | Ángulo de Enlace NCN | 119.0 ° | 120.0 ° |
| Química | PKa | -1.2 | -0.4 |
| Hidrofilidad | log P, 37 °C | 0.09 | 0.07 |

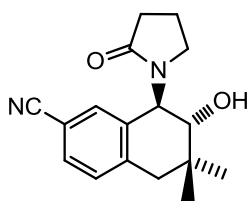
Resulta claro que a pesar de que la cianoguanidina, la tiourea y la urea son similares en muchas de sus propiedades fisicoquímicas, difieren bastante en naturaleza química y farmacológica, e.g. velocidad de disolución, biodisponibilidad oral, en comportamiento hidrolítico y oxidativo, por lo que se esperan diferencias en la velocidad y productos de biotransformación de las moléculas que poseen estos grupos.

Como resultado de estas y otras investigaciones se sabe que las cianoguanidinas cíclicas y acíclicas poseen un intervalo amplio de atribuciones biológicas interesantes e importantes. Por tal motivo, las cianoguanidinas han llamado la atención de los farmacólogos y químicos medicinales desde que se demostró que la funcionalidad cianoguanidina es un sustituyente bioisósterico apropiado de los grupos tiourea, imina o urea para obtener compuestos cabeza de serie o fármacos con la misma equivalencia farmacológica, pero con mayor potencia o menor toxicidad, propiedades farmacocinéticas modificadas y selectividades hacia la interacción de ligando-receptor específico, para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares o para obtener mejores moléculas como antagonistas de receptores [16,17].

Con respecto a la actividad antihipertensiva, las moléculas de cianoguanidina acíclica han resultado activas como activadores de canales de potasio K^+_{ATP} mientras que las moléculas con estructura de 3,4-dihidropirimidin-2-onas/tionas y 1,4-dihidropirimidinas son fármacos bloqueadores de canales Ca^{+2}_v bien conocidos.

Recientemente, se han dado a conocer un número de moduladores de canales de potasio con estructuras de DHP, aunque muchos de ellos son sistemas híbridos formados de fragmentos de cianoguanidina acíclica y DHP.

Recientemente las dihidropirimidinas tricíclicas son objetos de amplias investigaciones como nuevos agentes con actividad agonista sobre los canales de K^+_{ATP} , la actividad funcional de muchos de estos compuestos, por ejemplo el compuesto **61a-d**, con grupos químicos de naturaleza electroattractor, excede a algunos fármacos ampliamente conocidos como el Cromakalim (Figura 23).



$EC_{50} = 425nM$

(-)-Cromakalim

Figura 23.- Cromakalin [16].

Finalmente, en un esfuerzo por identificar nuevas moléculas estructuralmente híbridas, en este trabajo de investigación se ha diseñado, sintetizado e investigado las propiedades farmacológicas de un quimiotipo de cianoguanidina cíclica, *i.e.* el 4-arilsustituido-2-cianoimino-3,4-dihidro-1*H*-pirimidina, una molécula sintéticamente atractiva como modulador de canales iónicos de K^+ , los resultados obtenidos son por demás muy prometedores debido a la bioactividad encontrada en estas moléculas como los primeros en su tipo para modular canales iónicos del tipo K^+ . [16,17].

3.3.3 Método multíforo

Lo que puede ser un reemplazamiento bioisostérico exitoso (que modifique los principales parámetros fisicoquímicos, *e.g.* tamaño, forma, distribución electrónica, pKa, Log P, reactividad química, enlaces de hidrogeno, etc; que finalmente afectan la estructura, farmacocinética, interacciones del receptor y metabolismos de las moléculas) para una molécula dada que interacciona con un receptor particular en ejemplos muy frecuentes, no presentan actividad o elimina la actividad biológica en otros sistemas.

Por ello, se ha planteado que el uso de la sustitución bioisostérica en el diseño de fármacos depende principalmente sobre el sistema biológico que está siendo investigada. No existen reglas infalibles para determinar qué sustitución biosostérica va resultar funcional para una molécula dada, aunque como se mencionó anteriormente, son posibles algunas generalizaciones. Sin embargo, el químico medicinal aún se guía por la experiencia e intuición para decidir el mejor método a ser empleado cuando se aplica esta estrategia.

Los resultados derivados de estos trabajos (Tabla 1) [16,17], han sido de interés en nuestro programa de diseño de fármacos antihipertensivos en la etapa de optimización de la estructura de DHPM como compuesto cabeza de serie para mejorar algunas propiedades físicas y químicas, *e.g.* que mejore la estabilidad química y metabólica, mientras conserve la actividad moduladora de canales de Ca^{+2} en el músculo liso vascular.

El objetivo de una sustitución bioisostérica se basa en la preparación de nuevas moléculas con propiedades biológicas similares que buscan, en algunos casos, atenuar la toxicidad, modificar la actividad y/o alterar la farmacocinética de los compuestos cabezas de serie.

El Método del Multiforo es una valiosa herramienta en el diseño de nuevos fármacos y que se puede emplear en cualquiera de las estrategias previamente mencionadas, debido a que este método permite la comprensión de las moléculas de fármacos desde el punto de vista que éstas están constituidas por subunidades bioactivas o bioforos, de modo que un fármaco invariablemente está constituido de diversos bioforos y por ende adquiere la denominación de multiforo. El bioforo más importante dentro de la estructura de un fármaco es el farmacóforo, el cual está constituido por un subconjunto de átomos de la molécula que permiten un enlace energéticamente favorable con algún sitio de un receptor, lo que conlleva a la manifestación de una respuesta biológica benéfica [16].

El método del multiforo se puede aplicar previa síntesis de nuevos candidatos bioactivos, así como a moléculas ya sintetizadas y con actividad biológica, debido a que mediante los estudios de relación estructura-actividad tienen como primer propósito establecer el descubrimiento del grupo farmacóforo, es decir, la estructura mínima responsable de la acción farmacológica a través de la interacción con receptores o enzimas; como segundo objetivo es el agregar sustituyentes al grupo farmacóforo de una forma estratégica, generando así compuestos con propiedades terapéuticas optimas.

Una relación estructura actividad se establece cuando un conjunto de propiedades de una serie de compuestos explica su actividad o respuesta biológica.

Para generar estas nuevas moléculas con posible actividad biológica, los investigadores recurren a diversas estrategias como la mejora de fármacos ya existentes, el cribado (*screening*) el diseño racional de nuevas moléculas para eventualmente sintetizar nuevos análogos y probarlos biológicamente con el fin de establecer una relación estructura-actividad (QSAR), con la finalidad de mejorar el perfil terapéutico (incrementando su potencia y afinidad) o disminuir la toxicidad, así como las propiedades fisicoquímicas del fármaco. El cribado comprende un conjunto de ensayos biológicos que permiten evaluar de modo preliminar el perfil farmacológico de una molécula o conjunto de moléculas; para ello se pueden emplear modelos en animales (*in vivo*), ensayos farmacológicos en órganos o tejidos aislados (*in vitro*), ensayos en los que se evalúa directamente la actividad en dianas como enzimas o receptores de membrana o por medio de la simulación de la interacción ligando-receptor asistido por computadora (Docking); a este tipo de ensayos se les denomina *in silico* [23].

El diseño racional implica el conocimiento de la enfermedad a nivel molecular, es decir, de los receptores o macromoléculas que intervienen en el padecimiento, tal comprensión facilita el diseño de nuevos fármacos que actúen en estas dianas. Una vez identificados los receptores involucrados, es necesario desarrollar un método de diseño de moléculas con probable actividad farmacológica, de manera que estas nuevas moléculas sean capaces de unirse a tales receptores y puedan inducir el efecto deseado [16].

El método del multíforo en el diseño de fármacos es un proceso largo ya que, por lo general, para llegar al desarrollo de un candidato final son necesarias varias evaluaciones, reevaluaciones y rediseños de la molécula investigada. Este proceso está constituido por cinco etapas:

1. Diseño o identificación de un compuesto cabeza de serie (prototipo)
2. Síntesis e investigación biológica inicial del compuesto cabeza de serie.
3. Optimización del compuesto cabeza de serie en la fase farmacodinámica.
4. Optimización del compuesto cabeza de serie en las fases farmacocinéticas y farmacéuticas.
5. Evaluaciones preclínica y clínica del análogo optimizado del compuesto cabeza de serie.

Una vez que se dispone de un compuesto cabeza de serie, se procede al diseño de compuestos análogos que permitirá una exploración sistemática del compuesto cabeza de serie, sentando de esta manera las bases de la modificación molecular, con el objetivo de mejorar las propiedades farmacológicas en los congéneres del cabeza de serie, con la posibilidad de obtener compuestos más simples que conserven o mejoren la actividad del compuesto cabeza de serie, mediante rutas sintéticas comunes o aproximaciones combinatorias de las mismas, con el propósito de ahorrar tiempo y dinero [23].

En este sentido, los químicos orgánicos idean diversas rutas probables de síntesis para la obtención de las moléculas blanco a partir de reactivos iniciales disponibles.

La ruta de síntesis planteada puede ser divergente o lineal y convergente, en la síntesis divergente o lineal el producto del último paso es el reactivo inicial del siguiente paso de síntesis, de manera que la ruta sintética se lleva a cabo de manera secuencial; por otra parte, la síntesis mediante reacciones convergentes aborda la generación de una molécula blanco a través de la formación de varias subunidades intermediarias y, en una última etapa, contempla el ensamblaje de las subunidades

previamente obtenidas (Figura 24) [24, 25]. Puesto que la eficiencia de total de una reacción está determinada por el número de etapas involucradas, las síntesis convergentes proporcionan mayores eficiencias y, por lo tanto, son preferidas en relación a las síntesis divergentes.

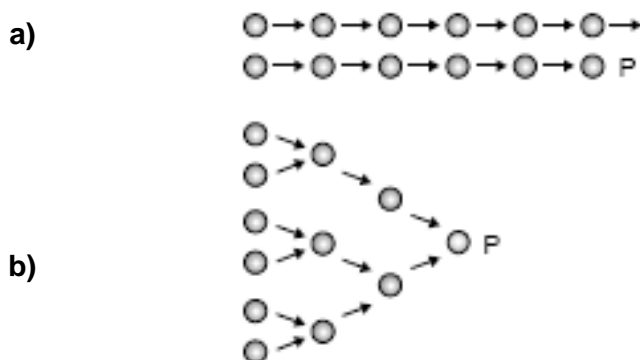


Figura 24.- Representación esquemática de una síntesis divergente (a) y una síntesis convergente (b) [24].

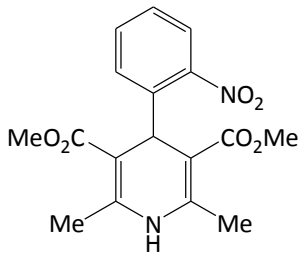
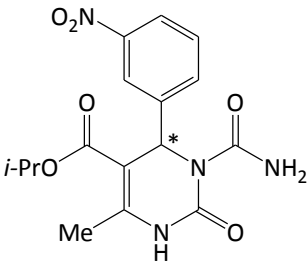
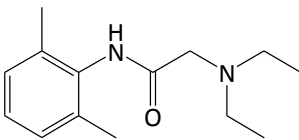
Dentro de las reacciones convergentes encontramos a las Reacciones Multicomponentes (RMCs), En el contexto de la química sostenible, por razones económicas y en busca de la preservación ecológica, las reacciones multicomponente constituyen un centro de investigación académico e industrial. A la diversidad de síntesis de heterociclos funcionalizados.

Aunque las RMCs basada de isocianuro predominan hoy en día, el uso de 1,3-dicarbonilos como sustratos, ya propuesto en 1882 por Hantzsch, ha demostrado ser muy eficiente, pero han sido relativamente inexplorado hasta hace poco. En los últimos años, éstas reciben una creciente atención como nuevas metodologías útiles y valiosas El acceso a la alta funcionalidad de pequeñas moléculas orgánicas sintéticas y valor biológico éstas se caracterizan por el hecho de emplearse al menos tres reactivos que se colocan de manera conjunta al inicio de la reacción para generar uno o más productos. Los reactivos pueden ser distintas moléculas individuales o, en algunos casos, pueden ser los diversos grupos funcionales de un mismo reactivo [26].

La investigación de nuevos compuestos bioactivos, presenta como uno de sus principales objetivos el desarrollo de nuevos procesos de síntesis de manera quimio-, regio- y estereoselectiva, inquiriendo, asimismo, que éstos ostenten características altamente deseables como tiempos de reacción cortos, reacciones eficientes y simples, de fácil aislamiento y purificación, la omisión de reactivos y disolventes

tóxicos, así como la disminución de los desechos resultantes de tales procesos, dándole un perfil ecológico [27]. Al respecto, las reacciones multicomponentes (RMCs) es una gran herramienta de la química combinatoria con procesos que cumplen, en buena medida, con estos preceptos, por lo que se han convertido en una herramienta muy importante en el área de la química medicinal para la construcción de moléculas de diverso grado de complejidad estructural con importantes propiedades farmacológicas (Tabla 3).

Tabla 3. Compuestos con actividad farmacológica sintetizados mediante RMCs.

| Reacción | Estructura | Bioactividad |
|-----------------|---|---------------------|
| Hantzsch |  <p style="text-align: center;">Nifedipina</p> | Antihipertensivo |
| Biginelli |  <p style="text-align: center;">SQ 32926</p> | Antihipertensivo |
| Ugi |  <p style="text-align: center;">Xilocaina</p> | Anestésico local |

El concepto de RMCs fue dado por primera vez por Strecker en 1850, ha sido poco estudiado, y convirtió a las isocianidas en uno de los reactivos más populares, especialmente como un componente clave en la conocida reacción de Passerini y Ugi [24, 28]. Sin embargo, uno de los primeros sustratos involucrados en una RMCs eran los β -cetoésteres, con dihidropiridinas de Hantzsch (DHP) y las dihidropirimidinas (DHPMs) de Biginelli, las síntesis aparecen ya en 1882 y 1893, respectivamente. (Figura 25). En 2004, se ha reportado una visión general del elevado potencial sintético de RMCs [29]. En los últimos años, estas transformaciones han recibido una creciente atención a nivel mundial por su capacidad para proporcionar de una forma selectiva un acceso directo a la gran funcionalización de pequeñas moléculas orgánicas de valor primario, sintético y biológico.

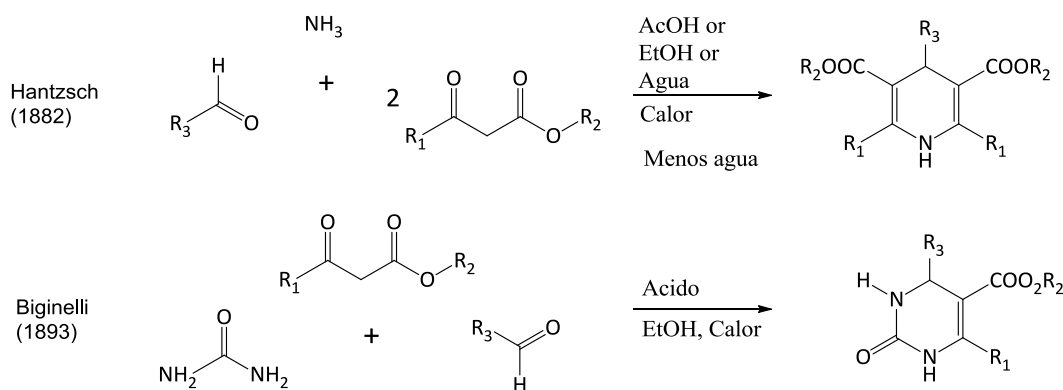


Figura 25.- Síntesis de dihidropiridinas de Hantzsch y dihidropirimidinas de Biginelli [30].

3.3.3.1 Reacción de Hantzsch.

Las 1,4-dihidropiridinas y sus derivados son importantes moléculas bioactivas en el campo farmacéutico [30]. Estas son sintetizadas por lo general con cuatro componentes, implica la ciclocondensación de un aldehído, dos equivalentes de un β -cetoéster y amoníaco, o un equivalente sintético (Figura 26).

La reacción a través de la condensación de alquilideno formados en malonato y derivados enaminoéster, seguido por una que ofrezca ciclodeshidratación de los heterociclos simétricos [31].

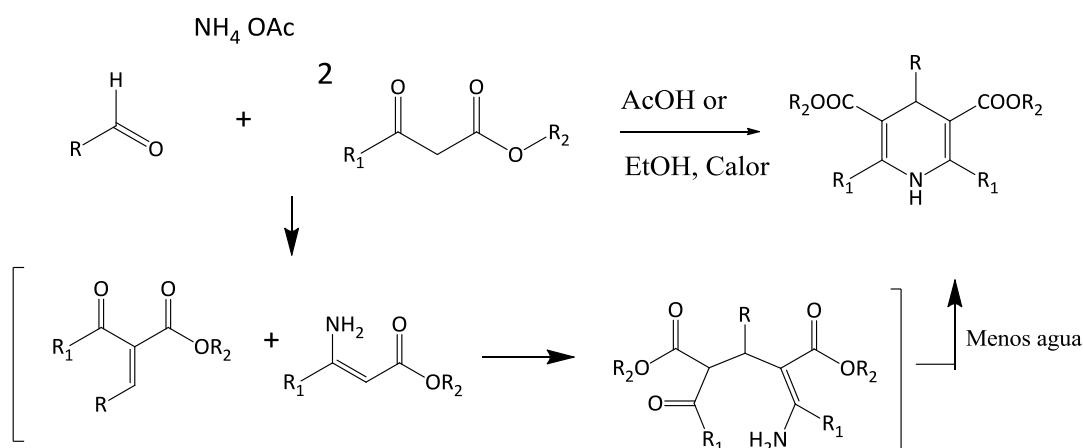


Figura 26.- Síntesis general de las 1,4-DHP de Hantzsch [30].

3.3.3.2 Reacción de Biginelli

Dentro de las RMCs empleadas para la obtención de fármacos podemos citar la síntesis de Biginelli, descubierto por Pietro Biginelli en 1893, que permite la síntesis de DHPMs, siendo esta última una de las RMCs más estudiadas en el área de la química medicinal, esto a pesar de que se han reportado otros métodos de síntesis. La síntesis de la molécula de dihidropirimidina mediante las condiciones de Biginelli se basa en una reacción de condensación entre la urea, un aril aldehído y un β-cetoéster (Figura 27).

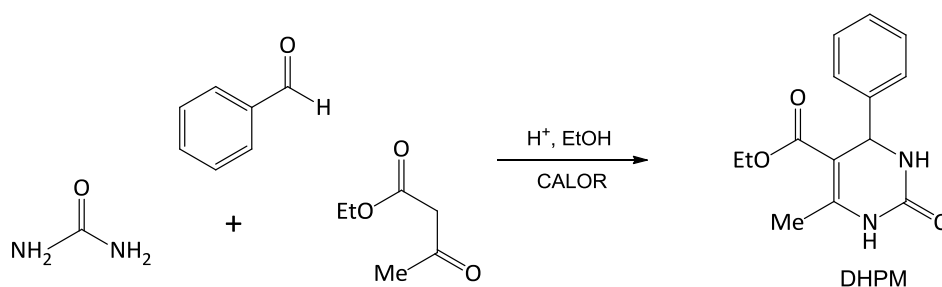


Figura 27.- Síntesis de Biginelli para generar DHPMs [32].

El interés farmacológico que se derivó a fines del siglo XX (1980s) en este tipo de estructura, se debe principalmente a que las DHPMs poseen el mismo fragmento farmacofórico que la Nifedipina, una dihidropiridina (DHP) moduladora de los canales de Ca²⁺ tipo L, con aplicación terapéutica en el área cardiovascular preparada mediante la síntesis de Hantzsch (1882) [32].

La nifedipina que pertenece a los fármacos denominados "antagonistas del calcio" reduce la entrada de calcio en las células de los vasos sanguíneos como consecuencia del bloqueo de los canales de calcio tipo L. Actúa predominantemente sobre la circulación periférica relajando la musculatura lisa vascular y produciendo vasodilatación [12, 15], y es empleada para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, tales como hipertensión, arritmias cardiacas o angina de pecho [32].

Desafortunadamente el uso de la Nifedipina en el tratamiento de la hipertensión presenta importantes desventajas como tiempos de vida media ($t_{1/2}$) en plasma relativamente cortos, debido a su rápida oxidación a la correspondiente piridina, inactiva farmacológicamente, además de ser un compuesto altamente fotosensible, característica que compromete su estabilidad durante la exposición a la luz, dando como resultado su transformación en compuestos que poseen mucho menor potencia como agentes antagonistas del Ca^{2+} [33].

La fracción guanidina (Figura 28) es un grupo funcional muy importante con interesantes propiedades biológicas, que se encuentran en varios productos naturales (saxitoxina, tetradotoxina) [34]. También se encuentra presente en algunos compuestos con actividad agonista del canal de K^+_{ATP} como el Pinacidilo [35].

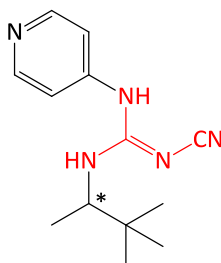


Figura 28.- Pinacidilo agonista del canal de K^+_{ATP} , (*N*-Cianoguanidil en rojo) [34].

En el mismo contexto, la utilización con éxito de cianamida ha permitido la incorporación de la fracción responsable de las posibles propiedades farmacológicas (Figura 29) [36]. En este caso, la hidrólisis de la cianamida en urea constituye la base de esta reacción de cuatro componentes como Biginelli.

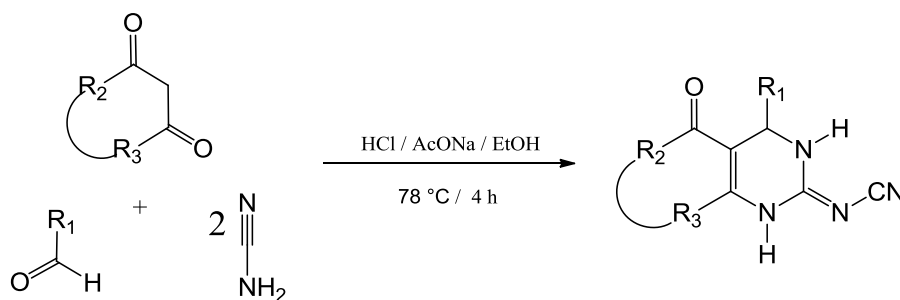


Figura 29.- Síntesis de derivados de 4-aryl-2-cianoimino-3,4-dihidro-1H-pirimidina [36].

3.3.4 4-arilsustituído-2-cianoimino-3,4-dihidro-1H-pirimidinas (ACIDHPMs)

Las ACIDHPMs son compuestos estructuralmente análogos a las DHPMs, con la variante estructural del grupo *N*-cianoguanidil en *C*-2, lo que los convierte en compuestos híbridos formados por los grupos farmacofóricos de las DHPs con actividad antagonista del canal de Ca^{2+} y el fragmento *N*-cianoguanidilo de las cianoguanidinas agonistas del canal de K^+_{ATP} (Figura 30). Por lo tanto, las ACIDHPMs se presentan como excelentes candidatas para su estudio farmacológico como agentes vasorrelajantes si consideramos que el método de síntesis multicomponente recientemente desarrollado para su obtención es simple y rápido. En conclusión, se puede postular que las ACIDHPMs presentarán propiedades farmacológicas prometedoras como nuevos agentes con acción vasorrelajante.

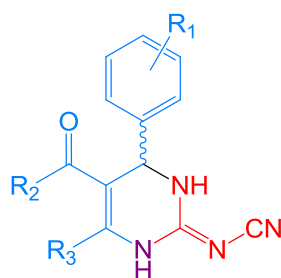


Figura 30.- Estructura de las ACIDHPMs. Fragmento farmacofórico común a DHPs (azul) y fragmento farmacofórico de las cianoguanidinas (rojo).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Sintetizar los compuestos 4-arilsustituído-2-cianoimino-3,4-dihidro-1*H*-pirimidinas, para evaluar el posible efecto vasorrelajante, empleando un modelo de corazón aislado (Langendorff). Aquella molécula que presente mayor potencia farmacológica será utilizada para discernir el mecanismo probable de acción mediante el cual induce los procesos de mediación celular involucrados en el proceso de relajación.

4.2 Objetivos Particulares

- Sintetizar, aislar y purificar los compuestos de interés a través de una reacción multicomponente y llevar a cabo su identificación empleando métodos espectroscópicos como: Espectrometría de Masas (EM), Espectroscopia Infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN).
- Evaluación del perfil farmacológico como agentes vasorrelajantes de estas nuevas moléculas, comparándolas con dos fármacos utilizados en la clínica (Nifedipina y Pinacidilo). empleando la preparación de Langendorff como técnica experimental de órgano aislado.
- Estudiar el posible efecto inotrópico positivo o negativo a través de la medición de la fuerza de contracción en el corazón de rata.
- Proponer la probable vía de mediación celular, utilizando el compuesto de mayor potencia, mediante el empleo de agentes bloqueadores de receptores celulares con mecanismos conocidos de la función cardiaca.

5. Materiales y Métodos

5.1 Síntesis de los Compuestos 4-Aril sustituido 2-Cianoimino-3,4-Dihidro-1H-Pirimidinas (ACIDHPMs)

5.1.1 Materiales

Todos los reactivos comerciales (Sigma-Aldrich), y solventes son grado reactivo y se utilizan sin ningún tratamiento. Todas las reacciones se siguen por cromatografía en capa fina (Silicagel 60F254 Merk®) y la visualización se lleva a cabo con luz ultravioleta. Los puntos de fusión se determinan en un equipo Fisher-Johns. Los espectros de IR se obtienen en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 1600. Los espectros de H^1 , C^{13} RMN de un espectrómetro Varian Mercury 300 usando dimetilsulfoxido (DMSO- d_6) como disolvente y tetrametilsilano como referencia interna. Para los espectros de RMN H^1 , los desplazamientos químicos se expresan en δ (ppm) a campo bajo del tetrametilsilano. Las abreviaciones d, doble, t, triple, m, múltiple, a, ancha se usan para describir los patrones de señales observados. Los espectros de masas de I.E y A.R se determinan en un espectrómetro MStation JMS-700 JEOL.

5.1.2 Procedimiento General para la Síntesis de 2-cianoimino-dihidro-1H-pirimidina y derivados.

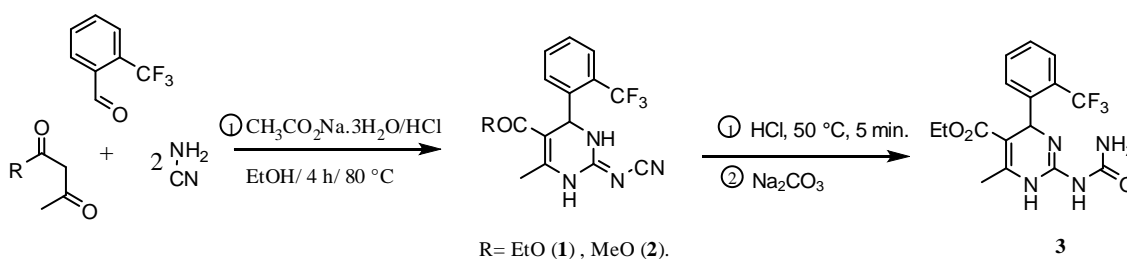


Figura 31.- Reacción general de la síntesis [36].

5.1.3 Procedimiento para la Síntesis de 2-Cianoimino-dihidro-1H-pirimidinas (1 y 2).

En un matraz de 100 mL se adicionan el correspondiente arenecarbaldehído (24 mmol), el compuesto 1,3-dicarbonílico (24 mmol), cianamida (solución acuosa al 50%, 48 mmol), acetato de sodio (24 mmol), y ácido clorhídrico conc. (37%, 0.5 mL) en etanol (20 mL). Esta suspensión se mantiene bajo agitación y en condiciones de reflujo durante 4 h. Al término de la reacción, el crudo de reacción se concentra en un rotavapor, el precipitado que aparece se recoge por filtración y se recristaliza de etanol para obtener el producto puro [36].

5.1.4 Procedimiento para la preparación de 2-(N-carbamoilamino)-4-(2-trifluorometilfenil)-1,4-dihidropirimidina (3).

En un matraz de 50 mL, se adicionan 10.2 mmol (2.9 g) de 2-cianoimino-5-etoxicarbonil-6-metil-4-(2-trifluorometilfenil)-3,4-dihidro-1H-pirimidina con 15 mL ácido clorhídrico concentrado (38%). Esta mezcla se mantiene en agitación y a temperatura de reflujo (>50 °C) durante 5 minutos o el tiempo necesario para que la suspensión inicial se vuelva transparente. Al término de este tiempo, el crudo de reacción se enfría, se diluye con 10 mL de agua y se trata con Na₂CO₃ acuoso al 15% hasta alcanzar un pH de 5-7. El precipitado se filtra, se lava con 5 ml de agua fría y se seca para dar el ureido, el cual se purifica por placa preparativa usando AcOEt como fase móvil y disolviendo la muestra en diclorometano [36].

5.2 Evaluación Farmacológica de los Compuestos Obtenidos

Animales de experimentación: Se utilizan rata macho de la cepa Wistar de 12 a 14 semanas de edad, con peso de 220±25 g, suministradas por el Bioterio de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. Los animales tienen acceso al alimento y agua *ad libitum*.

Soluciones: Todos los compuestos se preparan el mismo día del experimento en soluciones concentradas iniciales de 10⁻² M en H₂O doblemente destilada o DMSO según el caso, y son diluidas a las demás concentraciones experimentales (10⁻³-10⁻⁹ M) inmediatamente antes de ser utilizadas.

Sistema de órgano aislado en rata (Método de Langendorff): Este sistema permite examinar la presión de perfusión coronaria y la fuerza de contracción del ventrículo izquierdo en el corazón de rata (Figura 32).

Cabe mencionar que para la calibración de este equipo se utiliza un baumanómetro, por lo que las lecturas de los resultados están dadas en milímetros de mercurio y no en gramos.

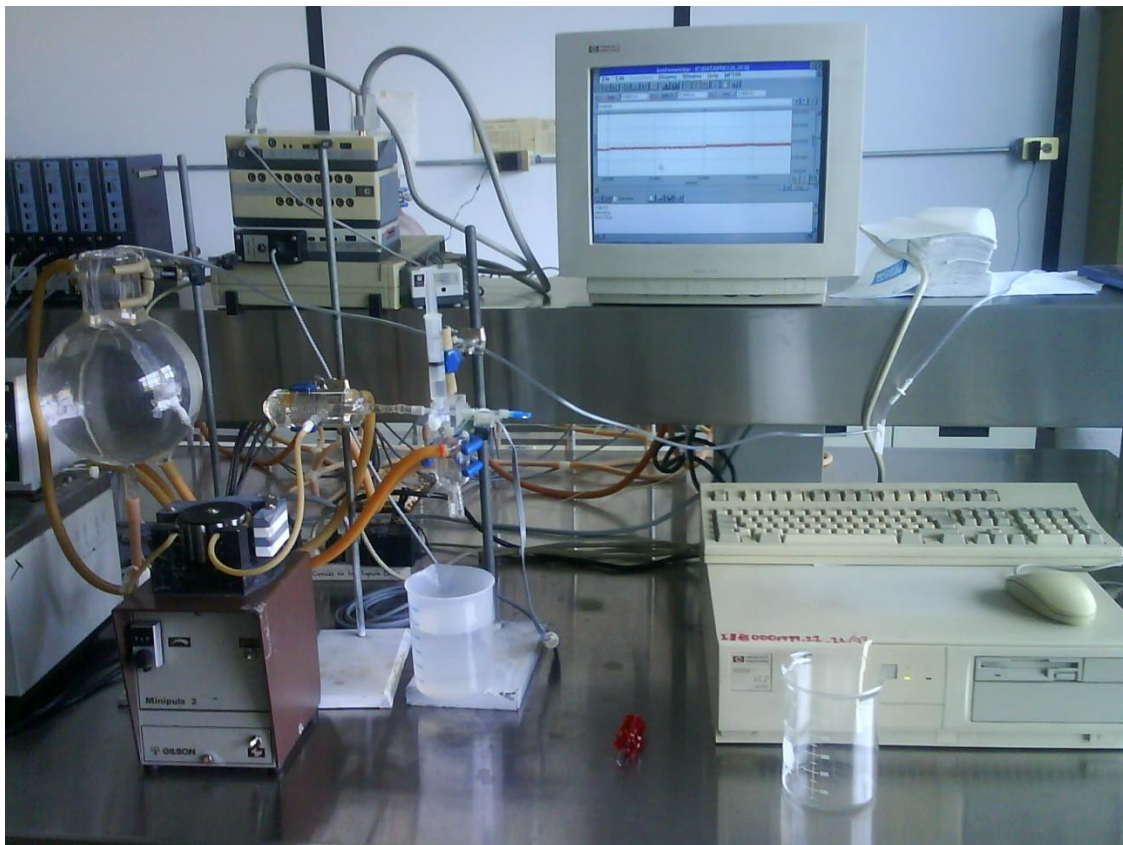


Figura 32.- Sistema de Langendorff utilizado durante todo este proyecto de investigación.

Procedimiento quirúrgico: Una vez bajo el efecto de la anestesia, el animal se coloca en posición de decúbito dorsal en la tabla de disección y se inmoviliza. Las costillas son seccionadas en dos cortes paralelos al eje mayor del esternón a nivel de la línea axilar anterior, la parrilla costal es pinzada en dirección cefálica exponiéndose de esta manera corazón y pulmones, inmediatamente después se retira el pericardio y se disecciona el tejido conectivo de la aorta ascendente, una vez diseccionada se sujeta con

seda 3-0 y se corta; el corazón se sumerge en solución de krebs fría. El corazón es canulado a través de la aorta y conectado a un sistema de perfusión a flujo constante (Figura 33), el cual consta de un serpentín y de una cámara aislante, en el cual se conecta el transductor de presión, que registra la presión de perfusión coronaria. La solución de perfusión se encuentra en un reservorio a una temperatura controlada (37° C), burbujeada con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂) y a un pH de 7.4, ésta es suministrada al corazón por medio de una bomba peristáltica a flujo constante. Para medir los cambios en la fuerza de contracción ventricular (inotropismo), se coloca dentro del ventrículo izquierdo, un balón de látex que se conecta con un transductor de presión, una vez que el corazón ha sido montado, el flujo coronario se ajusta a 15 ml/min (5 minutos). El corazón es estimulado eléctricamente aplicando pulsos cuadrados de 2 milisegundos de duración y con una frecuencia de 4.5 Hz. Con este fin se usan como electrodos de estimulación dos pequeñas pinzas vasculares de acero inoxidable soldadas a un cable delgado flexible. Las pinzas serán colocadas en la aurícula derecha aproximadamente a 2 mm de separación. Posteriormente se estabiliza con un flujo de 12 mL durante 25 minutos, después de este periodo de 30 minutos, se inician los experimentos.

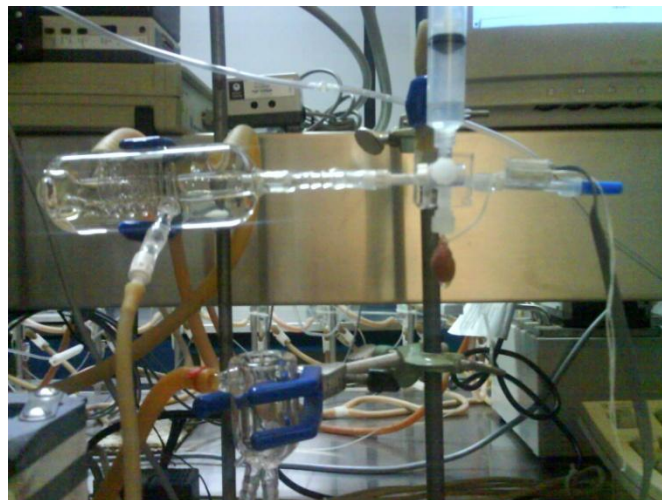


Figura 33.- Montaje experimental del corazón en el sistema de Langendorff.

Evaluación farmacológica de los compuestos sintetizados: Una vez sometido el corazón a un periodo de estabilización durante 25 minutos, se comienzan a administrar los compuestos a evaluar añadiendo 20 microlitros de estos en un periodo de 5 minutos, después se realizan lavados por 5 minutos y así sucesivamente comenzando con una concentración de 10⁻⁹ M hasta llegar a una concentración de 10⁻⁴ M.

Expresión y Tratamiento de Datos: En este tipo de experimentos, cada corazón es su propio control. Para determinar diferencias en cada caso experimental se utiliza análisis de varianza (ANOVA), con un factor de corrección para comparaciones múltiples de Bonferroni. Una diferencia significativa definida para valores de P menor ó igual a 0.05.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de ACIDHPMs 1-3

2-Cianoimino-5-etoxicarbonil-6-metil-4-(2-trifluorometilfenil)-3,4-dihidro-1H pirimidina (1). Rendimiento 35%; p.f. 210-211 °C; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆/TMS): δ 0.91 (t, J=7.2 Hz), 2.38 (s, 3H), 3.89 (q, J=7.2 Hz, 2H), 5.70 (s, 1H), 7.46-7.58 (m, 2H), 7.66-7.76 (m, 2H), 8.61 (s, 1H), 10.28 (s, 1H); ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆/TMS): δ 13.6, 17.8, 50.7, 60.5, 101.4, 115.2, 124.2 (¹J_{CF}=272.1 Hz), 126.5 (³J_{CF}=5.7 Hz), 127.1 (²J_{CF}=30.6 Hz), 128.3, 128.9, 133.3, 139.2, 145.5, 154.2, 164.0; IR (KBr) 1641 (C=N), 1679 (C=O), 2174 (C≡N), 3297 (NH) cm⁻¹; m/z 352; H (EI, 70 eV) encontrado: 352.1140, calculado para C₁₆H₁₅O₂N₄F₃: 352.1147.

2-Cianoimino-5-Metoxicarbonil-6-metil-4-(2-nitrofenil)-3,4-dihidro-1H-pirimidina (2). Rendimiento 68%; p.f. 205-207 °C; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆/TMS): δ 0.93 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 2.32 (s, 3H), 3.87 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 6.04 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.50-7.60 (m, 2H), 7.76 (ddd, J = 8.7, 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.95 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 9.16 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 10.27 (s, 1H); ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆/TMS): δ 13.7, 17.3, 48.6, 59.7, 100.1, 115.9, 124.4, 129.3, 129.4, 134.3, 137.8, 147.0, 147.4, 153.9, 164.1; IR (KBr) 1641 (C=N), 1679 (C=O), 2174 (C≡N), NH (3297) cm⁻¹; m/z 329; H (EI, 70 eV): encontrado 329.1198; calculado para C₁₅H₁₅O₄N₅: 329.1124.

2-(N-carbamoilamino)-4-(2-trifluorometilfenil)-1,4-dihidropirimidina (3). Rendimiento: 62%; p.f. 165-168 °C; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆/TMS): δ 0.95 (t, J=6.90 Hz, 3H), 2.42 (s, 3H), 3.94 (q, J=6.90 Hz, 2H), 5.83 (s, 1H), 7.35 (t, 1H), 7.43 (d, 1H), 7.51 (t, 1H), 7.63 (d, 1H), 9.73 (bs, 1H); ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆/TMS): δ 13.7, 18.2, 49.5, 60.0, 100, 124.2 (¹J_{CF}=272.1 Hz), 126.5 (³J_{CF}=5.7 Hz), 127.1 (²J_{CF}=30.6 Hz), 128.3, 128.9, 133.3, 141.4, 143.3, 148.5, 153.7, 164.6; IR (KBr) 1641 (C=N), 1679 (C=O), 3297 (NH) cm⁻¹; m/z 370; HRMS (EI, 70 eV) encontrado: 370.13, calculado para C₁₆H₁₇O₃N₄F₃: 370.1407

Los resultados correspondientes a la caracterización de las ACIDHPMs 1-3 obtenidas mediante la síntesis multicomponente empleada, son congruentes con los resultados reportados por Hulme *et al.* para los compuestos obtenidos en el presente trabajo. Asimismo, los espectros de RMN de ¹H y ¹³C y de EM, proporcionaron evidencia suficiente de que los compuestos sintetizados, corresponden efectivamente a las entidades químicas deseadas con núcleo de ACIDHPM.

Investigación de la bioactividad de las ACIDHPMs

Se ha visto que existe un incremento en enfermedades cardiovasculares y crónico degenerativas a nivel mundial y sobre todo a nivel nacional, la hipertensión arterial, valvulopatías, diabetes, etc. son las enfermedades que ocupan los primeros lugares de morbi-mortalidad [1,2], ya no solo en países desarrollados, sino que también en países en vías de desarrollo como es el caso de México y Latinoamérica.

La síntesis de nuevos fármacos, es la opción más viable para la creación de fármacos más potentes y con mayor eficacia para el tratamiento de enfermedades en este caso cardiovasculares.

En el presente trabajo se sintetizaron 3 fármacos que combinan los fragmentos farmacofóricos de la nifedipina y el pinacidilo dando origen a nuevos compuestos con estructura de 4-arilsustituido-2-cianoimino-3,4-dihidro-1H-pirimidinas, que posteriormente fueron evaluados, mediante el sistema de Langendorff.

El modelo propuesto en el presente estudio, mide directamente la presión de perfusión coronaria (contracción o dilatación coronaria), así como también el efecto a diferentes concentraciones de los compuestos antes mencionados.

Por lo que hay un número creciente de investigadores que utilizan el sistema de Langendorff corazón de rata aislado y perfundido para evaluar estudios de enfermedad cardiovascular [39].

La investigación preliminar de la actividad farmacológica vasorrelajante de los compuestos de interés ACIDHPM, en corazón de rata se basó en la construcción de las curvas concentración-respuesta.

La perfusión intracoronaria de los compuestos sintetizados ACIDHPMs 1, 2 y 3 así como de nifedipina, pinacidilo y de dimetil sulfoxido, fueron realizadas en el corazón aislado y perfundido de rata macho, a dosis crecientes desde 10^{-9} M hasta 10^{-4} M.

Las figuras 34 y 35 se realizaron con la finalidad de observar los resultados que esperamos obtener, la acetilcolina farmacológicamente, tiene diversos efectos en ciertos órganos y sistemas del cuerpo, en el Sistema cardiovascular produce vasodilatación, disminución de la frecuencia cardíaca, disminución de la velocidad de conducción del nodo sinoauricular y auriculoventricular y una disminución en la fuerza de contracción cardíaca (efecto inotrópico negativo). La fenilefrina se comporta ligeramente como un agonista adrenérgico indirecto, estimulando la liberación de la

noradrenalina de sus vesículas, lo que potencia los efectos adrenérgicos dando lugar a una vasoconstricción de las arteriolas.

Por lo tanto en este estudio lo que esperamos observar es una vasodilatación como se muestra en la figura 34 correspondiente a acetilcolina.

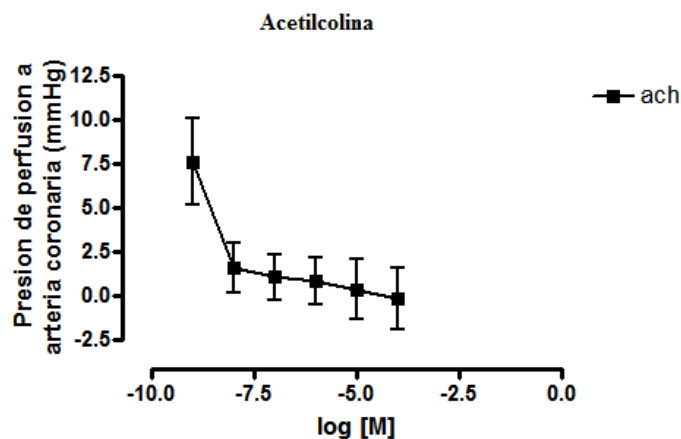


Figura 34.- Efecto de la acetilcolina.

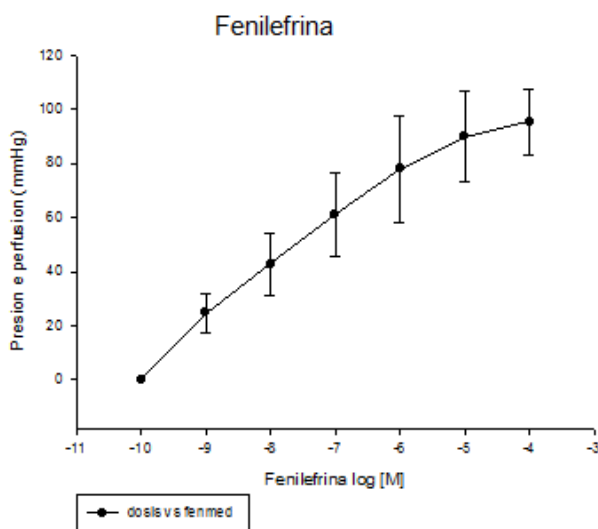


Figura 35.- Efecto de la Fenilefrina.

Las figuras 36 y 37 muestran las curvas que se realizaron con La finalidad de descartar algún posible efecto del dimetilsulfoxido (DMSO) que pudieran interferir con los resultados de los compuestos sintetizados y llegar a confundirse con los efectos de los compuestos sintetizados ya que estos son solubles en este disolvente y con base a los resultados obtenidos podemos decir que no ejerce una actividad vasorrelajante que pueda llegar a confundirnos con los ACIDHPMs.

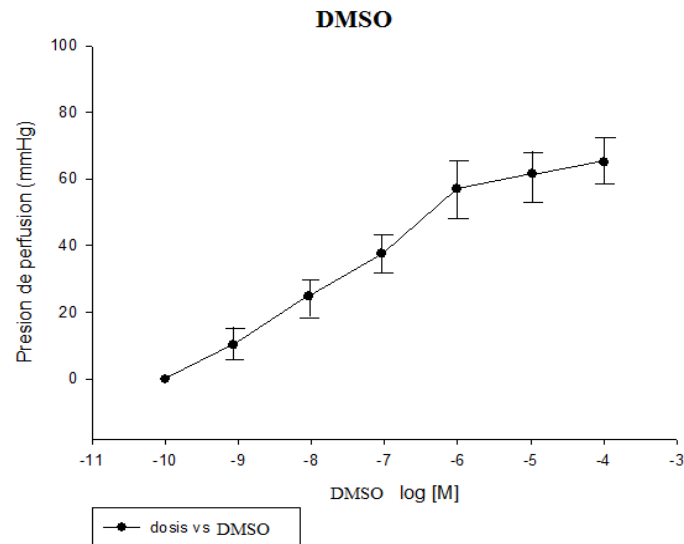


Figura 36.- Efecto del DMSO en la presión de perfusión coronaria.

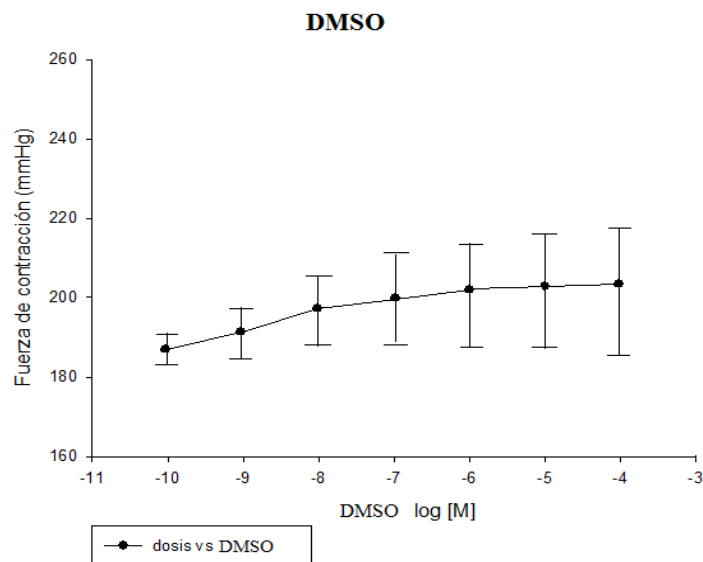


Figura 37.- Efecto del DMSO en la fuerza de contracción.

La figura 38 muestra de manera más clara a el pinacido y la nifedipina en comparación con los ACIDHPMs, y podemos observar que no presentan actividad vasorrelajante, en comparación con la figura 34 ningún ACIDHPMs que presenta una disminución de los mmHg que nos hicieran referencia a una vasodilatación que nos diga que presentan una eficacia y por lo tanto saber cual presenta mayor potencia, por lo que podemos decir que los ACIDHPMs 1, 2 y 3 no disminuyen la presión de perfusión coronaria.

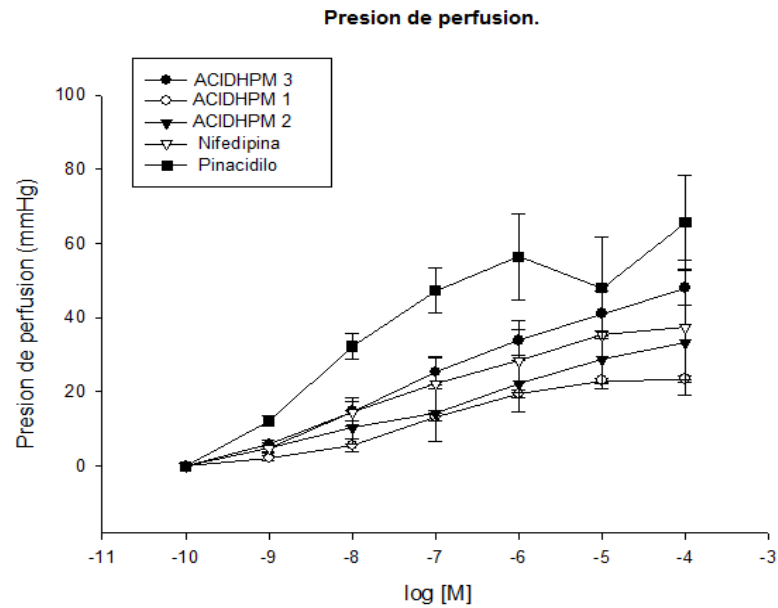


Figura 38.- Efecto de las ACIDHPM 1, 2 y 3 en comparación con la nifedipina y el pinacidilo a concentraciones de 10^{-9} M hasta 10^{-4} M.

El presente estudio también llevo a cabo la evaluación del efecto inotrópico de los ACIDHPMs 1, 2 y 3 y así poder saber si estos pueden disminuir o no la fuerza con la que el corazón se contrae.

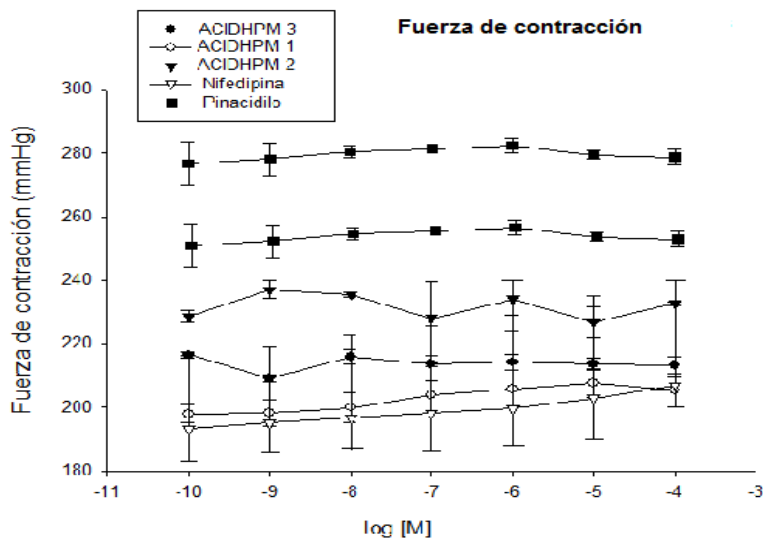


Figura 38.- Efecto de las ACIDHPM 1, 2 y 3 en comparación con la nifedipina y el pinacidilo a concentraciones de 10^{-9} M hasta 10^{-4} M.

Por lo que podemos decir que las ACIDHPMs 1, 2 y 3 en comparación con la nifedipina y el pinacidilo no presenta una disminución en la fuerza de contracción a concentraciones de 10^{-9} M hasta 10^{-4} M.

Los resultados derivados de este estudio permiten establecer por una parte, que todos los compuestos evaluados no presentaron actividad vasorrelajante, sin embargo, podemos observar que a partir de estas curvas demuestran que la naturaleza química y la posición de los sustituyentes presentes en el grupo fenilo enlazado al C-4 del núcleo DHPM, modulan de manera importante la potencia y la eficacia de estos compuestos, recordando que la potencia de un fármaco está determinada por la afinidad del compuesto hacia el receptor.

Trabajos realizados por Simona Saponara *et al.* Similar a este los años 2004 y 2007 donde trabajaron con un compuesto análogo a la nifedipina 3,5-Dibenzil-4-(3-fenoxifenil)-1,4-dihidro-2,6-dimetilpiridina (DP7) y obtuvieron resultados muy similares a este donde al ser evaluados mediante el sistema de Langendorff reportaron que la DP7 no ejerce ningún efecto en corazón [43, 44] lo que nos indica que las DHP son exclusivas para el musculo liso vascular [12].

Cabe mencionar que al compuesto que presentará una mayor potencia se utilizaría para evaluar su mecanismo de mediación celular, ya que ninguno presento una actividad vasodilatadora no se llevo a cabo este procedimiento, pero podemos decir también que falta mucho por realizar con las ACIDHPMs 1, 2 y 3 ya que solamente contamos con estudios *in vitro* que fueron realizados en modelos de órgano aislado y estos solo nos ofrecen resultados del órgano en estudio.

Sin embargo el innegable interés de la química medicinal y el screening como metodología para el descubrimiento de nuevos compuestos con posible actividad biológica ha generado toda una serie de nuevas necesidades a los grupos de investigación que se aventuran en ella. Uno de los aspectos a considerar es el de la gestión de los productos de partida necesarios para el desarrollo de nuevos fármacos requiere tres etapas clave:

- 1.- El descubrimiento identificación de nuevos principios activos, generalmente llamados *cabezas de serie*.
- 2.- La optimización modificación química del compuesto *cabeza de serie*.
- 3.- El desarrollo optimización de los procesos que permitan la obtención del fármaco en grandes cantidades optimización de sus propiedades farmacocinéticas, de forma que resulten más adecuadas para su uso terapéutico.

Por lo que la modificación estructural constituye una estrategia clásica para el desarrollo de nuevos fármacos, orientada a obtener, a partir de compuestos activos, otros con otras características tales como mayor potencia, mayor índice terapéutico, mayor biodisponibilidad o, simplemente, encontrar un nuevo compuesto activo no patentado.

El origen del prototipo activo sobre el que se realiza la modificación puede ser muy variado: un ligando natural, una droga patentada por una compañía farmacéutica competidora (drogas “me too”/ “semejante a”), un compuesto hallado por screening sistemático, observación de un efecto adverso conveniente, etc. [40]. Dentro de esta estrategia encontramos a su vez distintos tipos de modificaciones clásicas tales como homologación, ramificación, ciclación, apertura de anillos, adición de un escudo estérico, transformaciones que involucran anillos y modificaciones guiadas por el concepto de bioisosterismo [41].

El corazón aislado perfundido Langendorff sirvió como un modelo sólido para muchos descubrimientos fundamentales en fisiología cardíaca, patología y farmacología durante más de 100 años. Sólo unos pocos modelos experimentales han disfrutado de tal popularidad, no ha disminuido durante tanto tiempo. Sigue siendo uno de los diseños experimentales más populares en la investigación cardiovascular cardiovascular y la farmacología. Las desventajas del modelo que puede sufrir son compensadas por sus beneficios y la técnica posee un equilibrio óptimo entre la calidad y la cantidad de datos con relevancia clínica [42].

7. CONCLUSIONES

- Se logró sintetizar compuestos con núcleo de ACIDHPM mediante una síntesis multicomponente, asimismo se comprobó la identidad química de estas moléculas generadas en virtud de los resultados obtenidos en su caracterización.

- Se comprobó que las ACIDHPMs 1, 2 y 3 no presentan propiedades farmacológicas como agentes vasorrelajantes ni efecto inotrópico en corazón, lo anterior debido a que en los estudios de órgano aislado no se observó la disminución en presión de perfusión coronaria ni variaciones en la fuerza de contracción cardiaca. Por lo que no se llegó a establecer la posible vía de mediación celular de dichos compuestos.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios *in vivo* para poder evaluar el efecto antihipertensivo de estos compuestos, así como pruebas de toxicidad aguda para poder realizar estos estudios.

- Realizar otras pruebas en donde podamos evaluar su efecto sobre otras fisiopatologías en las que se vean involucrados canales iónicos como en la epilepsia.

9. REFERENCIAS

- 1) Secretaría de Salud. (2001). Programa de Acción: Enfermedades Cardiovasculares e Hipertensión Arterial. México.
- 2) Secretaría de Salud. (2007). Programa Nacional de Salud 2007-2012. Por un México sano: construyendo alianzas. México.
- 3) Abadal, L. T. (2007). Hipertensión arterial. México, D.F: Edikamed.
- 4) Berne, Levi. (1993). Physiology. Mosby Company, Toronto.
- 5) Katz A.M. (1992). Physiology of the Heart (2 ed.) United States of America: Raven Press.
- 6) Javier Segovia Cubero, Luis Alonso-Pulpon Rivera, Roberto Peraira Moral, Lorenzo Silva Melchor: Etiología y evaluación diagnóstica en la insuficiencia cardíaca. Rev. Esp. Cardiol. 2004; 57: 250-9.
- 7) C-M Yu, H Lin, Q, Zhang, J E Sanderson: High prevalence of left ventricular systolic and diastolic asynchrony in patients with congestive Heart failure and normal QRS duration, Cardiovascular Medicine, Heart: 2003 ; 89: 54-60
- 8) Horacio E. Cingolani, Alberto B. Houssay. (2000). Fisiología Humana de Houssay (7 ed) México: Editorial El Ateneo.
- 9) Tortora Gerard J. Bryan H. Derrickson. (2006). Principios de Anatomía y Fisiología (11ª Ed). México: Editorial Medica Panamericana.
- 10) Guytón C. Arthur. (1992). Tratado de Fisiología Medica (8 ed) México: Editorial Interamericana McGraw Hill.
- 11) Domarus, AV. (1978). Medicina Interna. Tomo 1 México: Editorial Marin.
- 12) Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., & Moore, P. K. (2004). *Farmacología* (5 ed.). Editorial Elsevier.
- 13) Damián S., Quintana & Siew Y., HO. (2003). Anatomía de los nodos cardíacos y del sistema de conducción específico auriculoventricular. Rev Esp Cardiol 56(11):1085-92.
- 14) Enciclopedia Salvat. Tomo 5, El Corazón.
- 15) Brunton, L., Lazo, J., & Parker, K. (2005). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (11 ed.). United States of America: Editorial McGraw-Hill.
- 16) Nogrady, T., & Weaver, D. (2005). *Medicinal Chemistry* (3 ed.). New York, United States of America: Oxford University Press.
- 17) Medicinal Chemistry. Dr David Clark, Dr David Horwell, Dr Geoff Lawton, Dr Nigel Rogers y Dr Will Watson. Información disponible en línea en: www.scientificupdate.co.uk/training/medchem/index.php. Fecha de consulta: 14 de Enero de 2010.

- 18) Lemke Thomas et.al. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 6^a edición. Lemke Thomas L, editor. United States of America: Editorial Lippincott Williams & Wilkins.
- 19) Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Sixth Edition, Volume 1: Drug Discovery Edited by Donald J. Abraham, 2003 John Wiley&Sons, Inc.
- 20) Avendaño López María del Carmen; Introducción a la química Farmaceutica; 1^a Edición; Edit. Mcgraw-Hill; España Madrid; (1996).
- 21) C.M. Armstrong, B. Hille, *Neuron*. **20**, 371 (1998).
- 22) W.A. Catterall, *Annu. Rev. Biochem.* **64**, 493 (1995).
- 23) Delgado, A., Minguillón, C., & Joglar, J. (2003). *Introducción a la Química Terapéutica* (2 ed.). Madrid, España: Díaz de Santos.
- 24) Dömling. (2006). Recent Developments in Isocyanide Based Multicomponent Reactions in Applied Chemistry. *Chem. Rev.* , **106**, 17-89.
- 25) Dömling, A. (2002). Recent Advances in Isocyanide-based Multicomponent Chemistry. *Curr. Opin. Chem. Biol.* , **6**, 306-313.
- 26) Ugi, I., Dömling, A., & Hörl, W. (1994). Multicomponent Reactions in Organic Chemistry. *Endeavour* , **18**, 115-122.
- 27) Kolb, J., Beck, B., Almstetter, M., Heck, S., Herdtweck, E., & Dömling, A. (2003). New MCRs: The First 4-Component Reaction Leading to 2,4-Disubstituted Thiazoles. *Molecular Diversity* , **6**, 297-313.
- 28) Zhu JP (2003) Recent developments in the isonitrile-based multicomponent synthesis of heterocycles. *Eur J Org Chem* 1133–1144
- 29) Simon C, Constantieux T, Rodriguez J (2004) Utilisation of 1,3-dicarbonyl derivatives in multicomponent reactions. *Eur J Org Chem* 4957–4980
- 30) Reddy GM, Shiradkar M, Chakravarthy AK (2007) Chemical and pharmacological significance of 1,4-dihydropyridines. *Curr. Org. Chem.* **11**:847–852
- 31) Moseley JD (2005) Alternative esters in the synthesis of ZD0947. *Tetrahedron Lett* **46**:3179–3181
- 32) Kappe, C. O. (2000). Biologically Active Dihydropyrimidines of the Biginelli-Type. A literature Survey. *Eur. J. Med. Chem* , **35**, 1043-1052.
- 33) Hayase, N., Inagaki, S., & Abiko, Y. (1995). Effects of Photodegradation Products of Nifedipine: the Nitroso- derivative Relaxes Contractions of the Rat Aortic Strip Induced by Norepinephrine and Other Agonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* , **275**, 813-821.
- 34) Nilsson BL, Overman LE (2006) Concise synthesis of guanidine-containing heterocycles using the Biginelli reaction. *J. Org. Chem.* **71**:7706–7714

- 35) Lange, U., Löffler-Walz, C., Englert, H. C., Hambrock, A., Russ, U., & Quast, U. (2002). The Stereoisomers of a Pinacidil Analog Open or Close Cloned ATP-sensitive K⁺ Channels. *J. Biol. Chem.*, 277, 40196-40205.
- 36) Hulme R, Zamora ODP, Mota EJ, Pasten MA, Contreras-Rojas R, Miranda R, Valencia- Hernandez I, Correa-Basurto J, Trujillo-Ferrara J, Delgado F (2008) Cyanamide: a convenient building block to synthesize 4-aryl-2-cyanoimino-3,4-dihydro-1H-pyrimidine systems via a multicomponent reaction. *Tetrahedron* 64:3372–3380.
- 37) Hamlin RL. (2007) Animal models of ventricular arrhythmias. *Pharmacol Ther*:113:276-95.
- 38) Francisco J. Chorro, Luis Such-Belenguer y Vicente López-Merino (2009) Modelos animales de enfermedad cardiovascular. *Rev Esp Cardiol*: 62(1):69-84
- 39) S. Bratkovsky, E. Aasum, C. H. Birkeland, R. A. Riemersma, E. S. P. Myhre y T. S. Larsen (2004) Measurement of coronary flow reserve in isolated hearts from mice *Acta Physiol Scand*, 181, 167–172.
- 40) Patrick, G.L (2001) An introduction to Medicinal Chemistry. Oxford University Press, New York, Estados Unidos.
- 41) Domino, E.F.(1999) History of modern psychopharmacology: a personal view with an emphasis on antidepressants. *Psychosom. Med.*, 61, 591-598
- 42) Monika Skrzypiec-Spring a, Bartosz Grotthus a, Adam Szeląg a, Richard Schulz (2007) Role of p38-Mitogen-Activated protein in ischaemic preconditioning in rat heart. *J. Pharmacol. Toxicol. Met.* 55, 113–126.
- 43) Simona Saponara, Masami K, Anamik, Noboru Motohas hi, Joseph M, Katalin U, Giampietro S. (2004) ,5-Dibenzoyl-4-(3-phenoxyphenyl)-1,4-dihydro-2,6-dimethylpyridine (DP7) as a new multidrug resistance reverting agent devoid of effects on vascular smooth muscle contractility. *Br. J. Pharmacol.* 141, 415–422.
- 44) Simona Saponara a, Antonella F, Beatrice G, Anamik S, Masami K, Noboru M, Joseph M, Giampietro S, Fabio F. (2007) 3,5-Dibenzoyl-4-(3 phenoxyphenyl)-1,4-dihydro-2,6-dimethylpyridine (DP7): A new multidrug resistance inhibitor devoid of effects on Langendorff-perfused rat heart *Eur. J. Pharmacol.* 563 160–163.