

Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina
Valencia
(Director: Prof. J. A. Salvá)

Antagonismo entre Th 1165a y la vasopresina en el útero aislado de rata

por

A. J. Brugger, J. A. Salvá, M. Sopena y L. Soto

(Recibido para publicar el 3 de mayo de 1968)

En un trabajo anterior (3) estudiamos el antagonismo existente entre el Th 1165a y la oxitocina, y describíamos las características químicas de este nuevo simpatomimético que, perteneciente al grupo de los difenoles, se diferencia de las catecolaminas en que los hidroxilos ocupan las posiciones 3 y 5 en lugar de las 3 y 4, es decir, es derivado resorcílico, con una actividad intermedia entre los derivados monofenólicos y las catecolaminas, aunque más próximo a estas últimas, teniendo la ventaja de que su efecto es más persistente (11).

A este grupo de las resorciletanolaminas, de moderna difusión, ya pertenecía la orciprenalina (Alupent); pudiéndose considerar al Th 1165a como a un derivado de ésta, en el cual uno de los hidrógenos de un carbono extremo del radical isopropílico, se ha sustituido por un grupo parahidroxifenilo, con el consiguiente aumento de la constante polar sigma del grupo N-sustituido, lo cual debe elevar la afinidad del compuesto por los receptores beta (7); este aumento de potencia por una

sustitución semejante ya fue descrita por MOED DIJK y NIEWIND, en 1955 (6) para un derivado similar del isoproterenol (Aleudrina).

En el año 1966 (2) estudiamos el antagonismo que presentaba la orciprenalina frente a las contracciones uterinas producidas por la vasopresina. Queremos recordar aquí, que esta hormona hipofisaria juega un papel importantísimo en el mecanismo desencadenante de la dismenorrea, siendo el útero más sensible a dicha hormona durante los últimos días del ciclo estral y los dos primeros de la menstruación; sensibilidad que está aumentada, en grado máximo, en las pacientes dismenorreicas, bastando una décima de unidad de vasopresina para desencadenar todo el florido cuadro dismenorreico, incluyendo los síntomas a distancia, como la cefalea, nerviosismo, etc. (12).

Queremos destacar que la vasopresina ejerce sobre el útero un efecto de características distintas que el de la oxitocina, pues mientras esta última acompaña a la acción oxitócica una vasodilatación uteri-

na y relajación del hocico de tenca, la vasopresina aumenta el tono del hocico, cierra el istmo, isquemia el miometrio y las contracciones del cuerpo uterino son desordenadas e hipertónicas (12).

A medida que la mujer se va incorporando al trabajo, adquiere un mayor relieve social el tratamiento adecuado de la dismenorrea que, según HAMAN, padecen el 27,5 % de las mujeres, siendo una cuarta parte de éstas las que están obligadas a guardar cama uno o varios días en cada ciclo estral. Es, pues, interesantísimo el poder contar con un fármaco capaz de antagonizar estos efectos desagradables y disminuir la pérdida de horas laborables femeninas (9).

Ya hemos mencionado, anteriormente, nuestro estudio sobre la acción de la orciprenalina como antagonista de las contracciones del útero aislado de la rata, producidas por la vasopresina; en este trabajo, pretendemos estudiar este aspecto del Th 1165a y comparar los resultados con los del trabajo anterior, intentado sacar consecuencias prácticas y las ventajas de un fármaco sobre el otro.

Material y métodos

Hemos utilizado la técnica de útero aislado, según GARCÍA DE JALÓN (5), con un aumento de la carga en la palanca inscriptora (2 g), para obtener unas gráficas dosis-respuesta de tipo acumulativo, más fáciles de interpretar. Las ratas de la raza Holtzman fueron sensibilizadas mediante administración intraperitoneal de 5 $\mu\text{g/g}$ de benzoato de estradiol, 24 ó 48 horas antes de empezar el experimento. El vaso de órganos fue enrasado a 20 ml y aireado por burbujeo de oxígeno.

Como agente agonista se utilizó un extracto altamente purificado de lóbulo posterior de hipófisis de buey, conteniendo 20 unidades presoras rata por ml. Se añadió en cantidades crecientes en progresión geométrica (10) de razón 2, expresándose

las concentraciones en miliunidades/ml y transformándolas en concentraciones molares, teniendo en cuenta que la vasopresina de buey es la arginil-vasopresina con un peso molecular de 1.048 y que un miligramo de vasopresina posee, aproximadamente, 400 unidades presoras (1).

El agente antagonista Th 1165a se añadió a distintas concentraciones cinco minutos antes de iniciar la serie creciente del agente agonista, expresándose su dilución en concentración molar. La actividad del agente agonista se calculó mediante la ecuación:

$$\frac{E_A}{E_m} = \frac{\alpha}{1 + \frac{K_A}{[A]}}$$

que es la expresión de la ley de acción de masas. Hemos calculado los valores de K_A en las distintas experiencias mediante la transformación de dicha ecuación en la de una línea recta, según el método de las recíprocas, y el de representar el efecto por ciento frente al efecto por ciento partido por la dosis (8). Una vez obtenidos los valores individuales de K_A por ambos métodos, les hemos aplicado el test de SHAPIRO y WILK a los logaritmos de dichos valores, para averiguar si su distribución era normal.

Cuando hemos empleado el Th 1165a antes de la administración de la vasopresina, la ecuación anterior se nos ha transformado en la siguiente:

$$\frac{E_{AB'}}{E_m} = \frac{E_A}{E_m} \left(1 + \frac{\beta'}{1 + \frac{K'_B}{[B]}} \right)$$

ecuación que representa el antagonismo de tipo no competitivo, caso en el que nos hallamos, como expondremos en el capítulo de resultados. $E_{AB'}$ es el efecto que produce el agente agonista en presencia del antagonista, y K'_B la constante de di-

sociación para el agente antagonista. Hallamos los valores de K'_B mediante el tanto por ciento de disminución del efecto máximo que se consigue en presencia de las distintas concentraciones de Th 1165a y, previa la transformación de estos valores en sus logaritmos, aplicamos como anteriormente el test de SHAPIRO y WILK, para averiguar la normalidad de la distribución.

Tanto los valores de actividad del agente agonista (vasopresina) como del agente antagonista (Th 1165a), se expresan como pD_2 y pD'_2 que, como ya está indicado en otros trabajos (2, 3) son los logaritmos cambiados de signo de las concentraciones molares del agente agonista, capaz de producir un efecto del 50% sobre el efecto máximo, y del antagonista capaz de reducir al 50% un efecto cualquiera del agente agonista respectivamente.

Resultados

Cuando hemos utilizado únicamente la vasopresina, obtuvimos curvas de relación dosis-respuesta con un coeficiente de correlación de $0,95817 \pm 0,04312$, por el método de los recíprocos, y $0,92819 \pm 0,05138$, cuando se ha utilizado el método de transformación efecto tanto por ciento frente a efecto tanto por ciento partido por dosis. El valor del pD_2 , con el método de los recíprocos es de $8,051864 \pm 0,40825$, que equivale a un K_A de $8,874538 \times 10^{-9}$ M (valor medio), o lo que es lo mismo, a una concentración de 3,848 miliunidades internacionales presoras rata por mililitro y con la transformación efecto por ciento frente a efecto por ciento partido por dosis, es de $8,10038 \pm 0,38017$, que equivale a $7,93588 \times 10^{-9}$ M (valor medio) o, lo que es lo mismo, 3,441 miliunidades internacionales presoras rata por ml. En ambos casos, al aplicar el test de SHAPIRO y WILK al grupo de los valores individuales del pD_2 , hemos obtenido un coeficiente altamente sig-

nificativo que nos indica que la distribución de dichos valores es normal. Estos valores coinciden con los ya obtenidos por nosotros en otros trabajos anteriores (2).

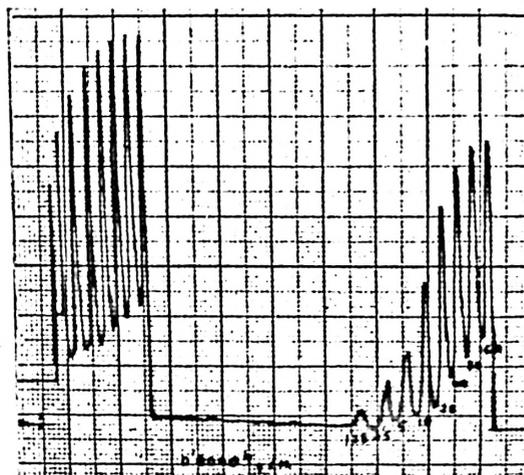


FIG. 1. Curva patrón de vasopresina y modificación de la misma cuando previamente se ha añadido una concentración de 10,04 nanogramos/c.c. de Th 1165a, que equivale a una concentración $1,04 \times 10^{-10}$ M.

Los valores expresados en miliunidades son más exactos, ya que, al transformarlos en concentración molar, se supone que un miligramo de vasopresina contiene aproximadamente 400 U.I. presoras rata.

Al añadir una concentración de Th 1165a cinco minutos antes de comenzar la adición de la vasopresina para obtener las curvas de dosis-respuesta, vemos que estas últimas se modifican de la siguiente forma: hay una disminución de los efectos conseguidos con cualquier concentración de vasopresina, incluido el efecto máximo que, por otra parte, no se halla desplazado hacia la zona de concentraciones superiores; esta disminución de efectos es proporcional a la dosis empleada del Th 1165a (fig. 1); nos hallamos, pues, ante un caso de antagonismo no competitivo y, por lo tanto, podemos apli-

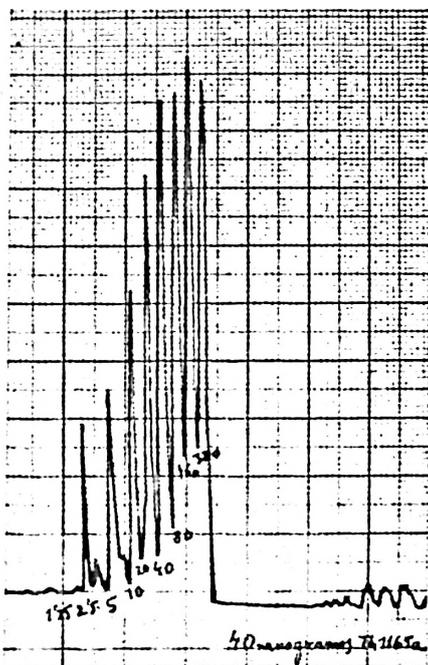


FIG. 2. Curva patrón de vasopresina y práctica desaparición del efecto de la misma cuando se han empleado 40 nanogramos de Th 1165a/c.c., que equivalen a una concentración de $1,04 \times 10^{-7}$ M.

car la ecuación 2 y, cuando la concentración del simpaticomimético es muy elevada, pueden llegar a anularse totalmente las respuestas (fig. 2), por lo tanto podemos considerar que la constante β' de la ecuación 2 tiene el valor de -1 .

Podemos calcular los valores individuales de K'_B aplicando la ecuación:

$$\frac{1}{E \%_{AB'}} = \frac{1 + [B]/K'_B}{E \%_m}$$

Y despejando K'_B obtendremos:

$$K'_B = \frac{[B]}{\frac{E \%_m}{E \%_{AB'}} - 1}$$

y transformándolos en los logaritmos de las concentraciones molares, hallamos los valores del pD'_2 como expresión de la potencia del Th 1165a como antagonista no competitivo de la vasopresina, y aplicando el test de SHAPIRO y WILK para averiguar la normalidad de la distribución, obtenemos también un coeficiente altamente significativo, siendo el valor de pD'_2

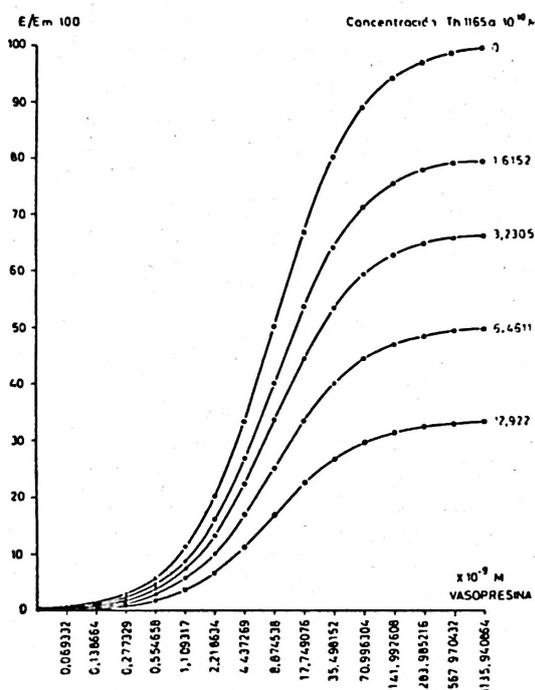


FIG. 3. Curvas de relación dosis-respuesta construidas según la ecuación 2 con los valores medios $K_A = 8,874538 \times 10^{-9}$ M, $K_B = 6,4611 \times 10^{-10}$ M. Las correspondientes desviaciones «standard» figuran en el texto.

$9,187 \pm 0,508297$, que equivale a una concentración de $6,4611 \times 10^{-10}$ M (valor medio) o 0,2483 nanogramos por c.c.

Con los valores medios de K_A y K'_B construimos las curvas de relación dosis-respuesta de la figura 3.

Discusión

Los valores del pD'_2 obtenidos nos indican que el Th 1165a es un antagonista no competitivo de la vasopresina con gran actividad, y nos llama mucho la atención que, frente a la vasopresina sea unas cien veces más potente que frente a la oxitocina, ya que, frente a esta última, en un trabajo anterior, habíamos hallado un pD'_2 de 7,1463 (3), lo cual parece indicar que el mecanismo íntimo de acción de la vasopresina sería distinto al de la oxitocina, aunque ambas poseen los mismos grupos activos (4).

Como en otro trabajo anteriormente mencionado (2) en el que estudiábamos el antagonismo entre la vasopresina y la orciprenalina, los valores que obteníamos para la constante de disociación K_A eran muy similares a los mismos obtenidos en éste (3,875 y 3,848 ó 3,441, respectivamente), podemos comparar las actividades de la orciprenalina y del Th 1165a y, como el valor del pD'_2 obtenido en el anterior trabajo era de 7,1 existe una relación aproximada de 100 a favor de la potencia del Th 1165a. Esta relación tan favorable presupone que el Th 1165a sea el fármaco ideal, entre ambos, para el tratamiento de la dismenorrea, pues se necesitarían dosis exiguas, que, prácticamente, no ejercerían los efectos simpaticomiméticos beta sobre el aparato cardio-vascular.

Conclusiones

El Th 1165a es un antagonista no competitivo de la vasopresina (arginil). El pD'_2 del Th 1165a es $9,1895 \pm 0,508297$.

El Th 1165a es un antagonista más potente frente a la vasopresina que frente a la oxitocina. El Th 1165a es un antagonista de la vasopresina mucho más potente que la orciprenalina.

Resumen

Se estudia, a nivel molecular, el antagonismo existente entre el Th 1165a y la vasopresina, obteniéndose los siguientes resultados:

El Th 1165a es antagonista no competitivo de la vasopresina, con un pD'_2 de $9,1897 \pm 0,508297$. Se hacen unas consideraciones respecto al antagonismo con la oxitocina y el de la orciprenalina frente a la vasopresina.

Summary

Antagonism Between Vasopressin and Th-1165a on the Isolated Rat Uterus

The antagonism between vasopressin and Th 1165a, is studied at molecular level. Th 1165a is a non competitive antagonist of vasopressin (arginil). Its pD'_2 is 9.1897 ± 0.508297 . As antagonist of the vasopressin, Th 1165a is stronger than orciprenalin. In front of oxitocin the antagonistic action of Th 1165a is fewer than in front of vasopressin.

Bibliografía

1. BOISSONAS, R. A., GUTTMANN, S., BERDE, B., and KONZETT, H.: *Experientia*, **17**, 377, 1961.
2. BRUGGER, A. J.: *Med. esp.*, **56**, 449, 1966.
3. BRUGGER, A. J., y SALVÁ, J. A.: *R. esp. Fisiol.*, **24**, 121, 1968.
4. CHAN, W., and KELLY, N.: *J. Pharmacol.*, **156**, 150, 1967.
5. GARCÍA DE JALÓN, P., BAYO, J., y GARCÍA DE JALÓN, M.: *Farmacoter. actual.*, **3**, 313, 1945.
6. MOED, H. D., VAN DIJK, J., et NIEWIND, H.: *Rec. Trav. Chim. Pays Bas.*, **74**, 919, 1955.
7. PRATESI, P., and GRANA, E.: En *Advances in Drug Research*. Ed. Academic Press. Londres. Vol. **2**, 127, 1965.

8. TAMARIT, J.: En *Química Fisiológica*, de García-Blanco. Ed. Saber. Valencia. VI ed. Vol. 2, 1033, 1962.
9. USANDIZAGA, M., USANDIZAGA, J. A., y USANDIZAGA, J. M.: *Actas R. Cient. Fac. Inst. Pol.*, 17, 61, 1963.
10. VICK, H., und ENGELHARDT, A.: *Naunyn Schmiedeberg's Arch. exp. Path.*, 241, 523. 1961.
11. WOODBURY, R. A.: En *Drill's Pharmacology in Medicine*. Ed. Mc. Grawhill, Co., Nueva York, 1110, 1965.