

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

Estudio del antagonismo entre la oxitocina y el Th 1165a * en el útero aislado de rata **

por

A. J. Brugger y J. A. Salvá

(Recibido para publicar el 3 de febrero de 1968)

El Th 1165a es el 1-(3,5-dihidroxifenil)-1-hidroxi-2-[(4-hidroxifenil) - isopropil] amino-etano, en forma de bromhidrato. Pertenece al grupo de las aminas simpaticomiméticas derivadas del difenol, diferenciándose de las catecolaminas en que los grupos hidroxilos ocupan posiciones 3 y 5 en lugar de las 3 y 4.

La peculiar posición de los hidroxilos fenólicos confiere a estos compuestos una actividad intermedia entre los derivados monofenólicos y las catecolaminas, más próxima a estas últimas que a los primeros, pero la duración del efecto es muy superior (14).

Hasta la aparición de la orciprenalina (Alupent) existían muy pocas citas bibliográficas sobre la actividad y la química de las aminas simpaticomiméticas derivadas de la resorcina, quizás debido a la dificultad en la síntesis de este tipo de derivados (8).

El primer derivado de las resorcil-etanol-aminas que se comercializó fue el sulfato de orciprenalina (Alupent) (8). El Th 1165a se puede considerar un derivado del anterior, en el cual uno de los hidró-

genos de los carbonos externos del radical isopropílico se ha sustituido por un radical p-hidroxifenilo; dicha sustitución, al aumentar la positividad del extremo catiónico, por aumentar el valor de la constante polar σ del grupo alquílico unido al nitrógeno, debe elevar la afinidad del compuesto por los receptores beta y, por tanto, necesitarse menos dosis del mismo para conseguir los mismos efectos (10). El aumento de potencia por una sustitución semejante ya fue descrito para el isoproterenol (Aleudrina) (9).

En una serie de publicaciones anteriores (1, 2, 3, 4 y 5), hemos descrito la capacidad que posee la orciprenalina para antagonizar las contracciones del útero bajo diversas circunstancias; en este trabajo pretendemos estudiar cuantitativamente el tipo de antagonismo que presenta el Th 1165a frente a las contracciones del

* Un nuevo simpaticomimético beta derivado de la resorcil-etanol-amina.

** Trabajo realizado con el Fondo para el Fomento de la Investigación en la Universidad.

útero aislado de rata, producidas por la oxitocina y comparar su potencia con la orciprenalina.

Material y métodos

Hemos seguido la técnica de útero aislado, según JALON (7), aumentando la carga de la palanca de inscripción isotónica. El útero se extrajo de ratas previamente sensibilizadas mediante la administración intraperitoneal de 5 $\mu\text{g/g}$, peso de benzoato de estradiol, 48 horas antes de comenzar la experiencias.

Como agente agonista hemos empleado la oxitocina sintética * siguiendo la técnica de dosis aditivas en progresión geométrica de razón 2 según VAN ROSSUM (13). Como agentes antagonistas utilizamos el Th 1165a ** y la orciprenalina en forma de sulfato, añadidas al recipiente de órgano aislado 5 minutos antes de iniciar la serie de contracciones por oxitocina. Hemos medido la altura de las contracciones en milímetros y tomamos el tanto por ciento sobre la contracción máxima y las enfrentamos a las concentraciones molares de oxitocina para establecer la relación dosis-respuesta y los parámetros de la ecuación que nos expresa dicha relación.

Ecuación 1:

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

en la que E_A es el efecto conseguido por una concentración $[A]$ del agente agonista (oxitocina); E_m el efecto máximo que se conseguiría con una concentración teóricamente infinita del mismo; α es la expresión de la actividad intrínseca que nosotros hemos considerado como la unidad, y K_A nos define la afinidad del agonista por su receptor; teniendo en cuenta que la afinidad es igual al recíproco de K_A , esta relación nos da la concentración del agonista capaz de producir un efecto 50% del efecto máximo y la expresión logarítmica del K_A cambiada de signo se conoce con la de-

nomiación pD_2 . Para determinar los parámetros hemos transformado la ecuación anterior en la ecuación de una recta, utilizando — de los diversos métodos que existen (12) — el de los recíprocos y aplicando la técnica de mínimos cuadrados, fijando como condición que la ordenada en el origen tenga el valor 1 que es valor que tiende a adquirir el recíproco de E_A/E_m cuando los valores de E_A tienden a hacerse iguales a los de E_m y el de valor calculado de la pendiente es el de K_A .

Cuando utilizamos un agente antagonista, previamente a la administración de oxitocina la ecuación anterior se nos transforma en:

Ecuación 2:

$$\frac{E_{AB'}}{E_m} = \frac{\alpha}{1 + K_A/[A]} \times \left(1 + \frac{\beta'}{1 + K_{B'}/[B]} \right)$$

que es la expresión del antagonismo no competitivo, pues nos encontramos ante este tipo de antagonismo como discutiremos más adelante. En este caso $E_{AB'}$ es el efecto que se consigue con una concentración $[A]$ del agente agonista en presencia de una concentración $[B]$ del antagonista; β' es la actividad intrínseca del antagonista, y $K_{B'}$ nos indica la afinidad del mismo por sus receptores.

Al transformar esta ecuación en una recta, empleando el método de los recíprocos, se nos modifica la pendiente de la recta y la ordenada en el origen de la siguiente forma: la pendiente nos viene dada por la expresión:

Ecuación 3:

$$\frac{K_A(1 + [B]/K_{B'})}{E_m}$$

* Agradecemos a la firma Sandoz el haber-nos proporcionado las muestras de oxitocina sintética.

** Agradecemos a la firma Boehringer Sohn las muestras de Th 1165a.

y la ordenada en el origen por:

Ecuación 4:

$$1 + \frac{[B]}{K_B}$$

$$\frac{E_m}{E_m}$$

y de cualquiera de estas dos últimas ecuaciones se puede deducir fácilmente el valor de $1/K_B$, como expresión de la afinidad del agente antagonista, siendo K_B el valor de la concentración del antagonista capaz de reducir en un 50 % el efecto de cualquier dosis del agonista y su expresión logarítmica cambiada de signo se conoce por pD'_2 .

Resultados

La oxitocina, como ya habíamos observado en un trabajo anterior (5), y coincidiendo con los resultados de CHAN y KELLEY y RUDINGER y KREJCI (6, 11), produce respuestas contráctiles del útero aislado de rata, que guardan perfecta correlación con la concentración empleada, siguiendo la ley de acción de masas, expresada en la ecuación 1, en la que consideramos el valor de α (actividad intrínseca) igual a la unidad, como se puede deducir de los trabajos de CHAN y KELLEY y RUDINGER y KREJCI, en los cuales comparan la actividad de la oxitocina con la de hormonas polipeptídicas similares, obtenidas por la sustitución de alguno de sus radicales activos. Mediante la transformación en recta por el método arriba indicado, el factor de correlación medio obtenido es $0,9563 \pm 0,0232$ y el valor de K_A expresado en concentración molar $12,5417 \pm 6,4442 M \times 10^{-10}$; la dispersión de los resultados es debida probablemente a la gran variabilidad biológica que existe entre los úteros de las distintas ratas, observándose una gran uniformidad al comparar los resultados obtenidos en las experiencias realizadas con los dos cuernos uterinos de un mismo animal. En la figura 1 presentamos la curva de contracciones uterinas obteni-

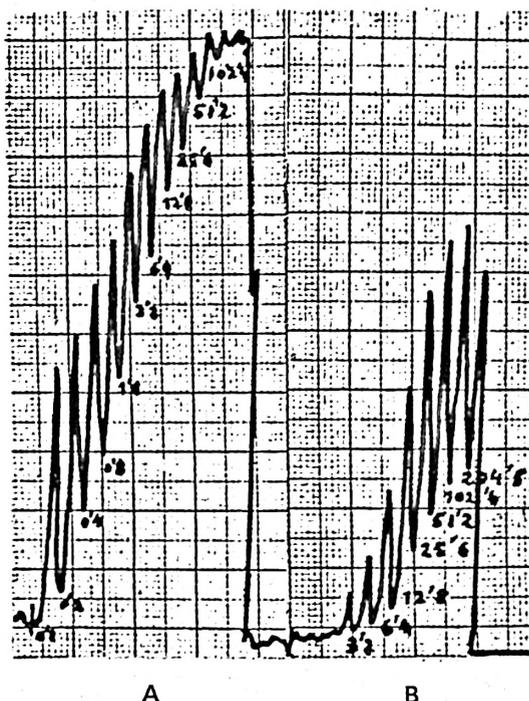


FIG. 1. En A, contracciones del útero aislado de rata producidas por concentraciones crecientes de oxitocina. En B, contracciones del útero aislado de rata producidas por concentraciones crecientes de oxitocina en presencia de una concentración de 60 nanogramos/c.c. de Th 1165a.

das por la adición de concentraciones crecientes de oxitocina en el baño, y en la figura 3 representamos la curva media tipo de dosis-respuesta para la oxitocina.

Cuando añadimos previamente una concentración de Th 1165a, o de orciprenalina, la respuesta que obtenemos con la oxitocina se nos modifica de la siguiente forma: la altura de las contracciones conseguidas con concentraciones crecientes de oxitocina es menor, incluido el efecto máximo, el cual se sigue obteniendo con la misma concentración de oxitocina que antes de añadir los simpaticomiméticos, es decir, que no está desplazado hacia la zona de concentraciones superiores (figu-



FIG. 2. En A, contracciones del útero aislado de rata producidas por concentraciones crecientes de oxitocina. En B, contracciones del útero aislado de rata producidas por concentraciones crecientes de oxitocina en presencia de 160 nanogramos/c.c. de Th 1165a. En C, contracciones del útero aislado de rata producidas por concentraciones crecientes de oxitocina, en presencia de una concentración de 500 nanogramos/c.c. de orciprenalina.

ras 1 y 2). Nos hallamos, pues, ante un antagonismo de tipo no competitivo al igual que sucedía con la orciprenalina cuando la ensayamos frente a la vasopresina (1). Este tipo de antagonismo se puede resolver mediante la ecuación 2 considerando que el valor de β' es -1 , y que

concentraciones teóricamente infinitas de cualquiera de los dos simpaticomiméticos pueden anular totalmente la acción de la hormona posthipofisaria. Calculamos el valor de K_B para cada fármaco, según las ecuaciones 3 y 4, obteniendo los siguientes resultados, expresados en concentraciones molares: para la orciprenalina $509,611 \pm 302,6864 \text{ M} \times 10^{-9}$ y para el Th 1165a $71,4047 \pm 43,5322 \text{ M} \times 10^{-9}$ y tomando el valor medio se pueden construir las curvas de la figura 3. Estas cifras con sus dispersiones nos indican las potencias de ambos fármacos como inhibidores de la motilidad provocada por la oxitocina en el útero aislado de rata con un pD'_2 para la orciprenalina de 6,2364 y para el Th 1165a de 7,1463.

Al relacionar las cifras medias de los K_B y los límites superiores e inferiores se obtienen los siguientes cocientes: relación de potencias medias: 7,1369; relación de potencias máximas: 7,0673; relación de potencias mínimas: 7,4240, que nos indi-

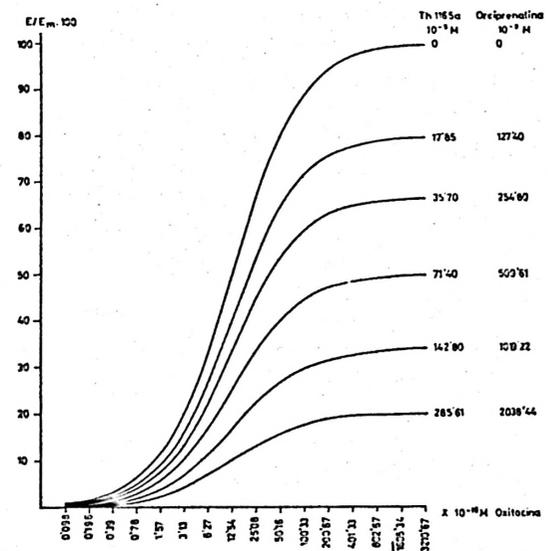


FIG. 3. Curvas de relación dosis-efecto construidas siguiendo las ecuaciones 1 y 2 con los valores medios de K_A para la oxitocina y K_B para el Th 1165a y la orciprenalina.

can que el Th 1165a tiene una potencia ligeramente superior a siete veces la de la orciprenalina.

Conclusiones

Tanto el Th 1165a como la orciprenalina son antagonistas no competitivos de la oxitocina.

Ambos presentan un valor de β' , igual a -1 , es decir, que pueden anular completamente la acción de la oxitocina cuando se utilizan a concentraciones suficientemente elevadas.

En las experiencias realizadas en el útero de rata el Th 1165a es siete veces más potente que la orciprenalina.

Resumen

Se estudia a nivel molecular, el tipo de antagonismo que presenta el Th 1165a, frente a las contracciones producidas por la oxitocina en el útero de la rata y se compara su potencia con la de la orciprenalina. El antagonismo que presentan ambos fármacos es de tipo no competitivo y el Th 1165a es entre 7,06 y 7,42 veces más potente que la orciprenalina.

Summary

Antagonism between oxytocin and Th 1165a in the isolated rat uterus

The antagonism type, at molecular level, from Th 1165a, in front of Oxytocin induced contractions of rat uterus is studied. The activity is compared with the Orciprenaline one. The antagonism between Th 1165a, and Oxytocine is of non-competitive-type. Th 1165a is from 7.06 to 7.42 times stronger than Orciprenaline.

Bibliografía

1. BRUGGER, A.: *Med. Esp.*, 56, 449, 1966.
2. BRUGGER, A.: *R. Esp. Obst. Ginec.*, 28, 137, 1967.
3. BRUGGER, A., ARGUDO, A., MONLEÓN, J., SOTO, L., y UGALDE, F.: *Acta Ginecol.*, 18, 4, 1967.
4. BRUGGER, A., ESPLUGUES, J., y BEDATE, H.: *Acta Ginecol.*, 17, 185, 1967.
5. BRUGGER, A., SOTO, L., y MONLEÓN, J.: *Acta Ginecol.*, 18, 527, 1967.
6. CHAN, W. V., y KELLEY, N.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 156, 150, 1967.
7. DE JALÓN, P. G., J. BAYO y DE JALÓN, M. C.: *Farmacoterap. Actual*, 3, 313, 1945.
8. ENGELHARDT, A., HOEFKE, W., und WICK, H.: *Arzneim-Forsch.*, 11, 521, 1961.
9. MOED, H. D., VAN DIJK, J., et NIEWIND, H.: *Rec. Trav. Chimic. Pays Bas*, 74, 919, 1955.
10. PRATESE, P., and GRANA, E.: «Advances in drug research» (Harper N. J. & Simmonds A. B.), Academic Press, Londres-Nueva York, 2, 127, 1965.
11. RUDINGER, J., and KREJCI: *Experientia*, 15, 585, 1962.
12. TAMARIT, J.: «Cinética de la reacción enzimática en Química Fisiológica» (J. García-Blanco), 6.ª edic., vol., II, 1053. Saber, 1962.
13. VAN ROSSUM, J. M.: *Arch Int. Pharmacodyn.*, 143, 299, 1963.
14. WICK, H., and ENGELHARDT, A.: *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Exp. Path.*, 241, 523, 1961.

Agradecemos la colaboración técnica que nos ha prestado el Sr. Martínez Carrillo, Licenciado en Ciencias Exactas.

