

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

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

por

A. Brugger, M. Sopena y J. A. Salvá

(Recibido para publicar el 5 de septiembre de 1968)

Continuando en nuestra línea de investigación básica de la potencia espasmolítica uterina del Th-1165a (4, 5), hemos procedido a determinar su capacidad espasmolítica frente a la serotonina.

En trabajos anteriores (2, 3) ya habíamos utilizado la 5-hidroxi-triptamina como agente agonista para un *screening* de los fármacos con posible acción espasmolítica uterina, y observamos que, únicamente los simpaticomiméticos beta tenían capacidad para antagonizar las contracciones producidas por aquel mediador; dentro del grupo de simpaticomiméticos probados, precisamente la orciprenalina (Alupent) derivado N-isopropílico de la 3,5-dihidroxifeniletanolamina, era la que mostraba mayor potencia que, no sólo superaba a los otros simpaticomiméticos empleados, sino que incluso era más activa frente a la serotonina, que frente a la acetilcolina, oxitocina y cloruro de bario (2, 3).

Por estas razones, nos hemos propuesto estudiar a nivel molecular, el antagonismo del Th-1165a (derivado de la orciprenalina por sustitución de un H de un carbono terminal por un grupo p-hidroxifenilo) que tiene una constante polar sigma más

electropositiva que la orciprenalina, frente a la 5-hidroxitriptamina (7).

Material y métodos

Se ha seguido la técnica del útero aislado, según GARCÍA DE JALÓN (6), aumentando la carga de la palanca hasta 2 g. El útero procedía de ratas previamente sensibilizadas, mediante la administración intraperitoneal de 5 microgramos/gramo de benzoato de estradiol, 48 horas antes de comenzar la experiencia.

Se utilizó como agente agonista la 5-hidroxi-triptamina en su forma de sulfato doble de ella y creatinina, con un peso molecular de 390,5 que se añadió al baño según la técnica de dosis acumulativas en progresión geométrica de razón 2 (9). El agente antagonista fue el Th-1165a, que se añadió al recipiente del baño 5 minutos antes de iniciar la serie de contracciones por la serotonina.

* Nuevo simpaticomimético beta (1-[3,5-dihidroxifenil]-1-hidroxi-2-1-[-(4-hidroxifenil) isopropil] amino etano).

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

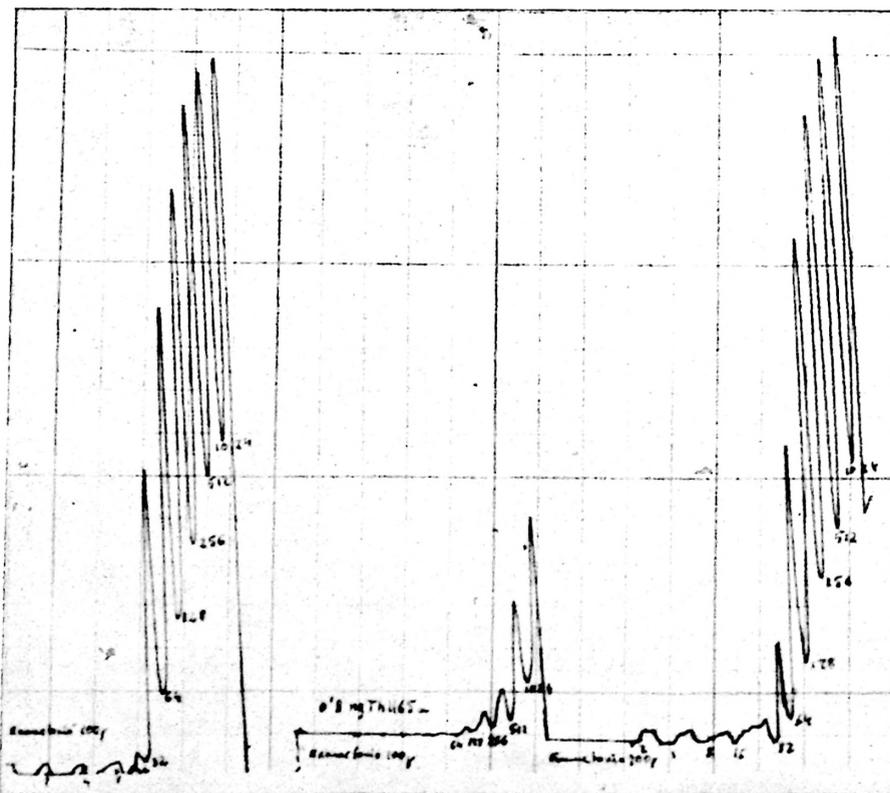
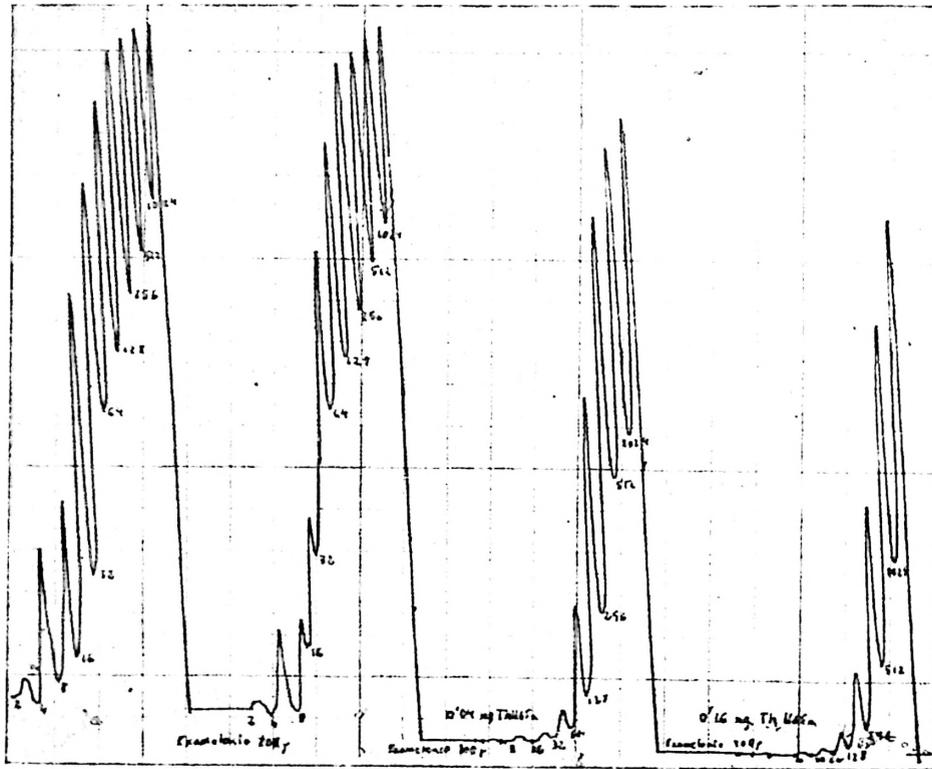


FIG. 1. Gráficas de contracción del útero aislado de rata, por la serotonina, e inhibición de dichas contracciones por distintas concentraciones del Th 1165a.

Tras medir la altura de las contracciones en milímetros, tomamos el tanto por ciento sobre la contracción máxima, enfrentando este valor al de las concentraciones molares de sulfato doble, para establecer la relación dosis-respuesta y los parámetros de la ecuación que nos expresa dicha relación:

Ec. 1

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

en la que E_A es el efecto que consigue una concentración $[A]$ del agente agonista; E_m el efecto máximo que se consigue con las concentraciones teóricamente infinitas y, prácticamente, muy elevadas de 5-hidroxi-triptamina; α es la actividad intrínseca (que la consideramos de valor 1) y K_A nos define la afinidad del agonista por su receptor, teniendo en cuenta que dicha afinidad viene representada por el recíproco de K_A ; la expresión logarítmica de K_A , cambiada de signo, se conoce con el nombre de pD_2 .

Al utilizar una concentración determinada de Th-1165a, antes de la administración de la 5-hidroxi-triptamina, la relación de dosis respuesta viene determinada por la ecuación anterior, modificada de la siguiente forma:

Ec. 2

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

que es la expresión del antagonismo no competitivo que, como se puede observar, equivale a la ecuación 1 multiplicada por el factor variable encerrado entre paréntesis, en el que β' es la actividad intrínseca del antagonista; K_B nos expresa mediante su recíproco, la afinidad del mismo por sus receptores específicos y su logaritmo cambiado de signo se conoce con el nombre de pD_2' . $E_{AB'}$ es el efecto que produce una concentración A del agonista, en

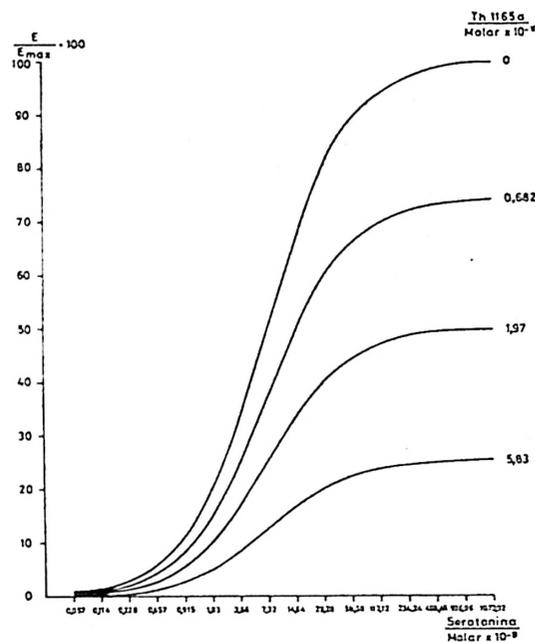


FIG. 2. Curvas de relación dosis-respuesta trazadas con los datos obtenidos experimentalmente.

presencia de una concentración B del antagonista. Internacionalmente, los valores del pD_2 y del pD_2' se calculan sobre la concentración molar, para poder comparar los resultados.

El primer problema que se nos plantea al efectuar esta serie de experimentos, es el del desarrollo de la taquifilaxia al emplear serotonina y que nosotros hemos resuelto siguiendo las indicaciones de SAVINI (8), el cual hace desaparecer este fenómeno mediante la adición de una concentración de 200 gammas por ml de hexametonio.

Resultados

La serotonina produce contracciones del útero aislado de rata que guardan perfecta correlación con las concentraciones empleadas, según la ecuación de la ley de acción de masas, expresada en 1, con un factor de correlación medio de $0,97259 \pm 0,01355$, cuando hemos utilizado el mé-

todo de transformación en línea recta según los recíprocos. A los valores logarítmicos individuales de K_A les hemos aplicado el test de SHAPIRO y WILK, encontrando que presentaban una distribución normal, siendo el valor medio de dicha constante de $7,32 \times 10^{-8}$ M, lo que nos da un pD_2 de $7,13 \pm 0,61$, equivalente a 28,604 nanogramos/ml.

Cuando previamente a la adición de serotonina se añade una concentración de Th-1165a, la curva patrón sufre las siguientes modificaciones: las concentraciones individuales de serotonina producen menos efecto, incluida la concentración que produce el efecto máximo, sin que exista desplazamiento de la curva hacia la zona de las concentraciones mayores; nos encontramos, pues, ante un caso de antagonismo de tipo no competitivo y se puede aplicar la ecuación 2, a partir de la cual se puede calcular el valor de K_B , dando un valor para β' igual a la unidad ya que las concentraciones muy elevadas de Th-1165a son capaces de anular por completo la respuesta contráctil a la serotonina.

Los valores logarítmicos de K_B ofrecen asimismo una distribución normal con un valor medio de $1,97 \times 10^{-10}$ y una dispersión comprendida entre $1,37 \times 10^{-10}$ y $2,83 \times 10^{-10}$ M que, naturalmente, no es simétrica debido a que la distribución es logarítmica. El valor medio equivale a 0,0756 nanogramos/ml y el pD_2' es $9,70 \pm 0,15$.

Discusión

El Th-1165a al igual que nos ocurrió en los primeros resultados de *screening* con la orciprenalina (2, 3) es, como antagonista de la serotonina, más potente que como antagonista de la oxitocina, para la cual en un trabajo anterior (4) obteníamos un valor de su pD_2' de 7,1463 que, al compararlo con el que obtenemos en este trabajo, nos da una actividad inhibitoria del Th-1165a unas 300 veces superior como anta-

gonista de la serotonina. Estos resultados, por otra parte, también coinciden con los descritos en la experimentación farmacológica, al probar la actividad broncodilatadora del compuesto cuya dosis efectiva 50 % es inferior cuando se emplea como agente broncoconstrictor la 5-hidroxi-triptamina en vez de la histamina o la acetilcolina (1).

Puesto que el Th-1165a, como antagonista de estos agentes constrictores del músculo liso, se debe unir siempre al mismo tipo de receptores, la diferencia de actividad que se observa frente a los distintos agonistas únicamente hay que relacionarla en la distinta forma en que dichos agonistas desencadenan el proceso estímulo-respuesta, que es el que se modifica en el antagonismo no competitivo.

Conclusiones

El Th-1165a se comporta como antagonista no competitivo de la serotonina en el útero aislado de rata. El pD_2' es de $9,70 \pm 0,15$.

Resumen

Se estudia a nivel molecular la actividad del Th-1165a como antagonista de la 5-hidroxi-triptamina. Se demuestra que el Th-1165a es un antagonista no competitivo de la 5-hidroxi-triptamina y que su potencia como tal es mucho mayor que como antagonista de la oxitocina. Se ha encontrado un pD_2' de $9,70 \pm 0,15$.

Summary

Antagonism between serotonin and Th-1165a in the isolated rat uterus

The activity of Th-1165a (a beta stimulating agent) is studied at molecular level as serotonin antagonist. The Th-1165a, is a non competitive antagonist of serotonin, with a very much higher activity in front of serotonin, than in front of oxytocin. Its pD_2' is 9.7 ± 0.15 .

Bibliografía

1. BOEHRINGER SOHN INGELHEIM AM RHEIM: Th-1165a «Exposé» de investigaciones farmacológicas.
2. BRUGGER, A. J.: *Rev. esp. Obs. Gin.*, **26**, 137, 1967.
3. BRUGGER, A. J., ESPLUGUES, J. y H. BEDATE: *Acta Gin.*, **17**, 185, 1966.
4. BRUGGER, A. J. y SALVÁ, J. A.: *R. esp. Fisiol.*, **24**, 121, 1968.
5. BRUGGER, A. J., SALVÁ, J. A., SOPENA, M. y SOTO, L.: *R. esp. Fisiol.*, **24**, 177, 1968.
6. GARCÍA DE JALÓN, P., BAYO, J. y M. GARCÍA DE JALÓN: *Farmacoterapia actual*, **3**, 313, 1945.
7. PRATESI, P. y GRANA, E.: En «Advances in drugs Research». Ed. Academic Press. Londres, New York, **2**, p. 127, 1965.
8. SAVINI, E. C.: *Actualités Pharmacol.*, **17**, 117, 1964.
9. VAN ROSSUM, J. M.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **143**, 299, 1963.

