

Mecanismo de acción del clorhidrato de 2-(2,6 dicloro-fenilamino) 2 imidazolina. Estudio experimental en animales íntegros *

A. Brugger, R. Oliver y J. A. Salvá

Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Valencia (España)

(Recibido el 12 de junio de 1969)

A. BRUGGER, R. OLIVER and J. A. SALVA, *Mechanism of Action of 2-(2,6 Dichlorophenylamine) 2 Imidazoline Hydrochloride: Experimental Study in Dogs*. R. esp. Fisiol., 26, 1-8, 1970.

The mechanism of action of 2-(2,6 dichlorophenylamine) 2 imidazoline Hydrochloride (ST-155) in anesthetized dogs on various experimental conditions which modify sympathetic tonus, is studied. It is concluded that when the sympathetic tonus is low ST-155 acts as a hypertensive and vice versa. In this way the dualist action of the product previously observed *in vitro* has been confirmed.

ST-155 depress cardiac function and this contributes to the hypotensive effect. This cardiac depression is more marked in reserpinized dogs.

Se han efectuado numerosos estudios para establecer el mecanismo de acción del clorhidrato de 2-(2,6 diclorofenilamino) 2 imidazolina (ST-155) sin que se haya llegado a una conclusión definitiva; es más, las teorías sobre su mecanismo de acción son contradictorias, pues mientras MERGUET *et al.* (8), siguiendo a OBERDORF (10), opinan que este fármaco puede actuar como un agente bloqueador neuronal adrenocolinérgico, otros autores, entre los que destacan NAYLER *et al.* (9), creen que dicho fármaco puede tener un doble mecanismo de acción, explicando la fase hipertensiva que produce, como debida a un estímulo de los receptores adrenérgicos y la fase hipotensora por una acción sedante central. En un trabajo anterior (2), habíamos demostrado que el ST-155 podía actuar como agonista parcial en los receptores alfa del conducto deferente aislado de rata, al igual que ocu-

rrer con el dicloroisoproterenol en los receptores beta de distintos territorios y se pensó que el comportamiento del ST-155 sobre el árbol arterial estaría condicionado por el estado del tono simpático previo a la administración de dicha droga.

En este trabajo se estudian los distintos efectos que puede ejercer el ST-155 partiendo de diversos estados iniciales de predominio adrenérgico.

Material y métodos

Se utilizan perros de distintas razas y pesos, suministrados por el Servicio Público de recogida de animales.

Se han realizado seis experiencias por cada uno de los grupos experimentales que detallamos a continuación.

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

A. PERROS EN LOS QUE SE PROVOCA UN PREDOMINIO SIMPÁTICO MEDIANTE LA OCLUSIÓN DE AMBAS CARÓTIDAS. Tras anestesiarse a los animales mediante la mezcla de cloralosa-uretano (cloralosa 8 g, uretano, 40 g, agua destilada 100 ml) a razón de 1,50 ml/kg de peso, se somete al animal a respiración artificial y registro de la presión arterial y del electrocardiograma, derivando en D II y D III; a continuación se ligan ambas carótidas y cuando se obtiene la estabilización de la presión arterial, se inyectan por vía intravenosa una serie de dosis de ST-155 crecientes, en progresión geométrica de razón 2, comenzando por 2,5 γ /kg.

B. ANIMALES DESCONECTADOS QUÍMICAMENTE MEDIANTE EL EMPLEO DE GANGLIOPLÉJICOS. Se anestesia al animal como en el apartado anterior y, después de conectarle el respirador y los medios de registro, se le inyecta una dosis de tartrato de pentolinio de 400 γ /kg, y tras obtener la estabilización de la presión arterial, se administra una serie de dosis crecientes de ST-155 como en el apartado anterior.

C. ANIMALES RESERPINIZADOS. Se prepara a estos animales inyectándoles 24 horas antes de comenzar la experiencia 1 mg de reserpina por kg por vía intraperitoneal. Cuando se empieza la experiencia, la anestesia se efectúa administrando únicamente la mitad de la dosis de la mezcla de cloralosa uretano indicada en el apartado A, y, tras conectar los sistemas de respiración y registro ya mencionados, se administra la serie descrita de dosis de ST-155.

D. ANIMALES SOMETIDOS A PERFUSIÓN CON NORADRENALINA. Después de anestesiarse a los animales y conectarles los aparatos de respiración y registro, se les somete a la acción de un goteo de noradrenalina a razón de 2,5 γ /kg/min.; una vez estabilizada la tensión se administra la serie creciente de dosis de ST-155 ya descrita.

E. ANIMALES SOMETIDOS A INFUSIÓN DE NORADRENALINA, PREVIO BLOQUEO GANGLIONAR. Después de anestesiarse el perro y conectarle los aparatos de registro y respiración, se administra una dosis de 400 γ /kg de tartrato de pentolinio. A continuación se infunde noradrenalina a razón de 2,5 γ por kg/min., y una vez estabilizada la tensión se administra la serie de dosis crecientes de ST-155.

Se miden las frecuencias cardíacas y alteraciones de ritmo, así como las modificaciones morfológicas del trazado ECG.

Los efectos del ST-155 se miden en mm de Hg de ascenso o descenso de la presión sobre los valores existentes al comenzar la serie.

Tanto los resultados obtenidos sobre la presión arterial, como las observaciones sobre la frecuencia cardíaca, se someten a tratamiento estadístico para observar si existe correlación con las dosis empleadas y la normalidad de distribución.

Resultados

A. ANIMALES A LOS QUE SE LES INYECTA UNA SERIE DE ST-155 TRAS LA OCLUSIÓN DE LAS CARÓTIDAS. La administración de la dosis creciente de ST-155, en estas condiciones, produce un descenso de la presión arterial que guarda estrecha correlación con las dosis empleadas según la ley de acción de masas. Los descensos son progresivos, no obteniéndose el retorno de la presión a los valores iniciales antes de inyectar las dosis siguientes (30 minutos). El descenso alcanza un máximo que, prácticamente, es imposible sobrepasarle sin que la dosis de ST-155 produzca graves alteraciones en el ritmo y el trazado electrocardiográfico. Los efectos progresivos descritos se obtienen a las dosis comprendidas entre 2,5 y 40 γ /kg. Las dosis superiores producen bradicardia intensa, extrasístoles, ritmo bigemino y bloqueo cardíaco A.V. Las dosis inferiores producen una bradicardia progresiva. El descenso total medio que se obtiene con estas

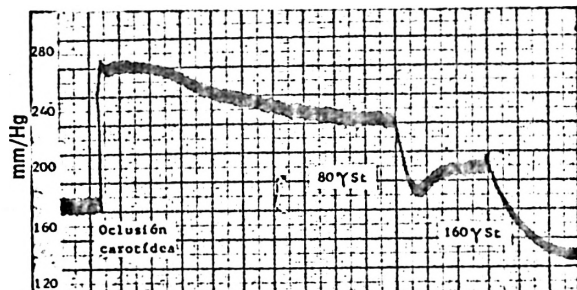


Fig. 1. Efecto del ST-155 (5 y 10 γ /kg) sobre la presión arterial en un perro al que se le ocluyen ambas carótidas.

Tabla I. Efecto medio de las distintas dosis de ST-155 sobre la presión elevada por oclusión carotídea.

El efecto es la media de los descensos medidos en mm de Hg sobre la presión existente al comenzar la serie

Dosis γ /Kg	Acumulativa	Efecto $\pm$ ET
2,5	2,5	26,3333 $\pm$ 3,2204
5	7,5	36,7676 $\pm$ 5,2159
10	17,5	43,1666 $\pm$ 5,5601
20	37,5	54,3333 $\pm$ 5,0481
40	77,5	60,6666 $\pm$ 4,5198
80	157,5	67,1676 $\pm$ 6,3617

dosis progresivas llega hasta $98,8 \pm 15,4$ mm Hg, siendo la media de la dosis eficaz 50 %: $14,246 \pm 3,466$ γ /kg, presentando una distribución normal (figs. 1 y 2, tabla I). El factor de correlación medio obtenido es $0,98 \pm 0,01$, obteniéndose este factor cuando en vez de considerar la dosis de ST-155 como unidades aisladas, se calculaba la dosis como la suma de las dosis inyectadas acumulando los resultados. Si se consideraban las dosis aisladas, el valor de la dosis media eficaz era ligeramente superior al obtenido $15,024 \pm 3,401$ y el factor de correlación $0,94 \pm 0,02$. Señalaremos que, en algunos experimentos, las dosis próximas a producción de descenso máximo y las superiores producen un ligero y breve efecto hipertensor.

B. SERIE DE ANIMALES A LOS CUALES SE LES ADMINISTRA 400 γ /KG DE TARTRATO DE PENTOLINIO. En los animales así preparados la administración de la serie dosis creciente de ST-155 produce un ascenso progresivo de la presión que entre las dosis de 2,5 y 40 γ /kg guarda correlación con la dosis empleada, obteniéndose un ascenso máximo que no aumenta si se sobrepasan las dosis mencionadas, pues por encima de dichas dosis se obtienen los mismos trastornos cardíacos descritos en el apartado anterior. Al contrario que en el grupo anterior, la correlación obtenida es más fuerte si se consideran las dosis aisladas.

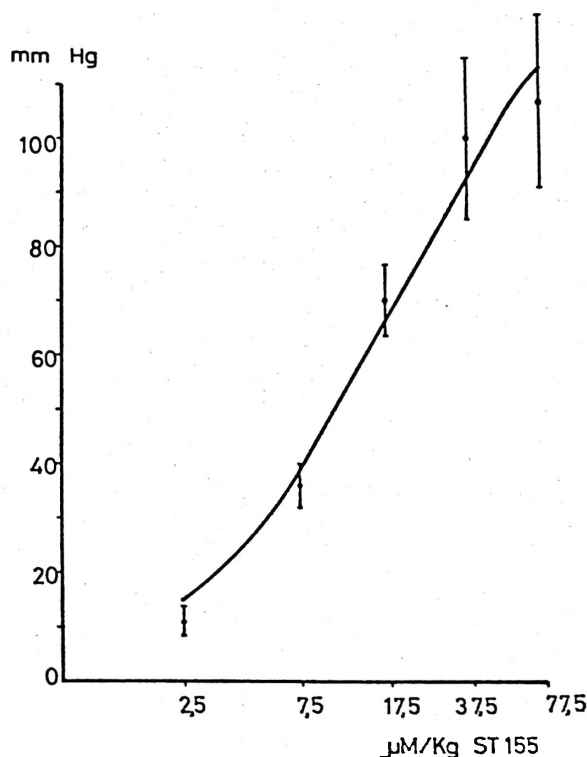


Fig. 2. Curva teórica de relación dosis-respuesta del descenso de la presión arterial en los perros que tienen las carótidas ocluidas. Se toma como dosis eficaz 50 %, $14,246$. En abscisas se toma escala logarítmica y en ordenadas el descenso expresado en mm de Hg. Se señalan asimismo las medias de los efectos reales conseguidos con sus respectivos errores tipo.

das, factor de correlación $0,98 \pm 0,01$, que si se consideran como acumulativas, factor de correlación $0,94 \pm 0,03$. Con una dosis media eficaz de $11,083 \pm 3,717$, considerando como hemos dicho las dosis aisladas, el ascenso máximo obtenido es de $120,8 \pm 15,1$ mm Hg (fig. 3, tabla II).

También se observa bradicardia progresiva en relación con la dosis.

C. ANIMALES RESERPINIZADOS. El efecto del ST-155 en los animales reserpinizados recuerda el que produce este fármaco en los perros a los que antes de inyectar ST-155 se administra una dosis de tartrato de pentolinio. En efecto, cuando se han vaciado los depósitos de catecolaminas mediante la administración 24 horas antes de 1 mg/kg de reserpina, las dosis de ST-155 producen un efecto hiper-

tensor brusco y mantenido; sin embargo, existen diferencias cuantitativas, ya que los efectos obtenidos con dosis de 2,5 y 5 γ /kg son netamente superiores a los obtenidos en los animales tratados con pentolinio ($0,01 > P > 0,05$). Dosis de 10 γ /kg y superiores no producen dicho efecto hipertensor de un modo claro, pues el miocardio en estas condiciones también parece estar sensibilizado a la acción depresora del ST-155, pues con estas dosis ya ocurren las alteraciones ECG descritas en A, y al aparecer dichos trastornos cardíacos la tensión arterial muestra grandes oscilaciones que impiden una valoración cuantitativa (fig. 4).

No se puede establecer con las dosis que hemos empleado una correlación con el efecto hipertensor que se obtiene en los animales reserpinizados.

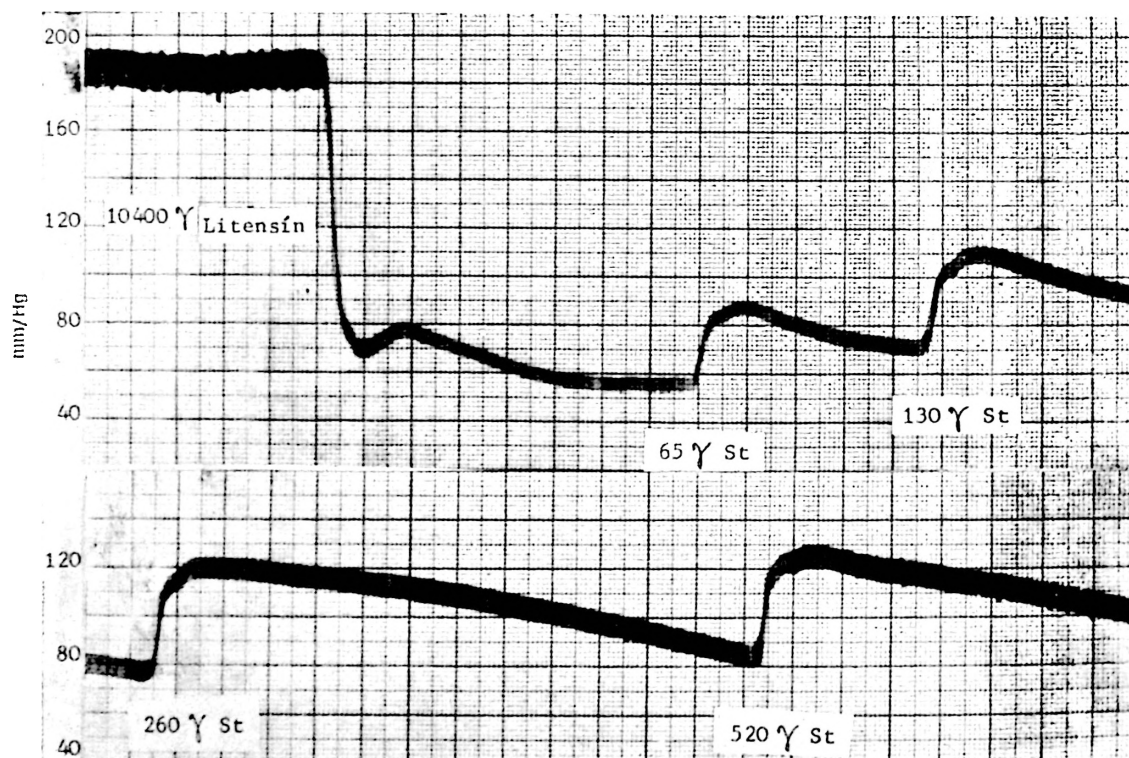


Fig. 3. Efecto del ST-155 (2,5, 5, 10 y 20 γ /kg) sobre la presión arterial en un perro al cual se le ha administrado una dosis de 400 γ /kg de tartrato de pentolinio.

Tabla II. Efecto medio de la dosis ST-155 sobre la presión arterial de los perros tratados con tartrato de pentolinio.

Media de los ascensos en mm de Hg medidos sobre la presión al iniciar la serie

Dosis γ/kg	Acumulativa	Efecto $\pm$ ET
2,5	2,5	$11,3829 \pm 2,4630$
5	7,5	$36,0000 \pm 4,1500$
10	17,5	$70,1666 \pm 6,7392$
20	37,5	$100,3333 \pm 15,0664$
40	77,5	$107,0000 \pm 15,3338$

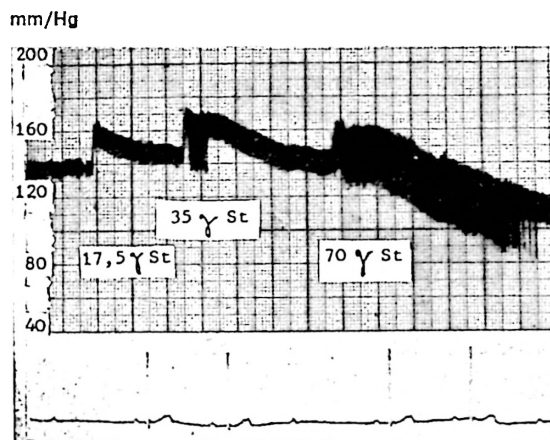


Fig. 4. Efecto del ST-155 (2,5, 5 y 10 γ/kg) en un perro reserpinizado.

Obsérvese el ensanchamiento de la gráfica, que obedece a trastornos del ritmo cardíaco que se recoge en el trazado electrocardiográfico correspondiente a la dosis de 10 γ/kg derivación III, en el que se observa bloqueo aurículo ventricular de segundo grado Mohlitz.

D. ANIMALES SOMETIDOS A UNA INFUSIÓN CONTINUA DE NORADRENALINA. Después de que la presión arterial se ha normalizado se inyectan las dosis progresivas de ST-155 y, en estas condiciones, producen constantemente un efecto hipotensor que guarda correlación con la dosis empleada según la ley de acción de masas igual que en A, sólo que los efectos conseguidos en estas condiciones son mayores, pero debemos destacar que el nivel inicial de la pre-

sión arterial era más alto en este grupo de animales. La media de la dosis eficaz 50% hallada tiene un valor de $14,996 \pm 5,102$ γ/kg . Es de destacar que las alteraciones electrocardiográficas, bradicardia intensa, bloqueo A.V., extrasístoles, ritmo bigemino, cuando se ha empleado la infusión con noradrenalina, quedan reducidas únicamente a extrasístoles aisladas que no aparecen en todos los casos y sólo cuando se han empleado dosis de 80 ó 160 γ/kg de ST-155. Las dosis muy elevadas pueden producir un breve efecto hipertensor, previo al descenso característico. Tanto la fase presora como la hipotensora están muy acortadas con respecto a las obtenidas en el primer grupo de perros, pero sobre todo destaca la fugacidad de la hipertensión (fig. 5).

E. ANIMALES SOMETIDOS A INFUSIÓN DE NORADRENALINA TRAS EL BLOQUEO GANGLIONAR. Los resultados que se obtienen en estas condiciones son totalmente superponibles a los descritos en el apartado anterior, obteniendo una media de la dosis eficaz 50% de $12,568 \pm 3,720$ γ/kg de ST-155. La bradicardia y demás trastornos ECG tampoco se presentan con las características descritas en A, apareciendo extrasístoles aisladas cuando la dosis administrada de ST-155 es muy elevada.



Fig. 5. Efecto hipotensor del ST-155 (20, 40 y 80 γ/kg) cuando el perro está sometido a un goteo de noradrenalina.

Discusión

El ST-155 es un derivado de la imidazolina. En farmacología y en terapéutica se conocen desde hace años derivados imidazólicos que son activos sobre los receptores alfa del sistema simpático, como son la nafazolina, que es estimulante, y la tolazolina, que es bloqueador. GRAUBNER (3), en su extenso estudio farmacológico, no llega a una conclusión clara sobre el mecanismo de la acción hipotensora del ST-155, señalando que, en algunas condiciones experimentales, la respuesta presora a este fármaco es bifásica, hipertensión seguida de hipotensión. Indica asimismo que sus efectos se deberían a un mecanismo distinto a los hipotensores conocidos, reserpina, alfa-metil-dopa, guanetidina, saluréticos, etc. KÜNDIG *et al.* (7) destacan la acción que el ST-155 posee sobre los efectos presores de la adrenalina y noradrenalina, señalando que un fármaco como éste, capaz de producir contracción de la membrana nictitante y reducción del tamaño del bazo en el gato, efectos típicamente estimuladores alfa, pueda al mismo tiempo disminuir la acción de noradrenalina e invertir los efectos de la adrenalina, y en la discusión de los resultados atribuye el componente presor la respuesta del ST-155 (ya mencionado anteriormente) a un estímulo de receptores alfa, señalando al mismo tiempo que este fármaco puede bloquear dichos receptores, pues disminuye e invierte el efecto de la adrenalina.

En un trabajo anterior (2) señalábamos que en el conducto deferente de rata el ST-155 es capaz de comportarse frente a los receptores alfa como agonista parcial, es decir, que según la concentración de noradrenalina existente en el líquido de perfusión, el ST-155 se comportaría como estimulante o como bloqueador de dichos receptores.

Continuando en esta línea de investigación y pensando que la acción del ST-155 sobre la presión arterial dependería del

tono simpático previo existente en el animal, efectuamos el presente estudio en animales íntegros, en los cuales, por distintos sistemas, modificábamos dicho tono, observando claramente que la acción del ST-155 era hipotensora cuando el tono simpático estaba elevado, bien por oclusión de ambas carótidas o por la infusión de un goteo de noradrenalina; en todos los casos, la acción hipotensora del ST-155 guarda correlación con la dosis empleada, observando que las medias de las dosis efectivas 50 % en los distintos grupos experimentales A, D, y E no difieren significativamente. Es de destacar que, en los experimentos con animales sometidos a infusión de noradrenalina y un bloqueador ganglionar para que no se produzca interferencia con los mecanismos centrales, ya que se ha señalado por distintos autores (3, 4, 6, 9) una marcada acción sedante central, sigue produciéndose de una forma constante el efecto hipotensor, pudiendo descartar en este grupo dicha acción central, a la cual NAYLER *et al.* (9) atribuyen el efecto hipotensor; así, pues, aunque no se puede negar de una manera rotunda la intervención de dicho mecanismo central, de nuestras observaciones se deduce que existe un efecto periférico evidente que atribuimos a bloqueo de receptores alfa.

En los animales que están desconectados químicamente por bloqueo ganglionar, el ST-155 produce hipertensión, que depende de la dosis, ocurriendo otro tanto en los animales previamente reserpinizados. El efecto presor del ST-155, como señala NAYLER *et al.* (9) y KÜNDIG *et al.* (7), puede ser anulado por la administración de fentolamina; por lo tanto, es lógico atribuirlo a un estímulo de receptores alfa.

ONESTI *et al.* (11) señalan que existe una marcada disminución del rendimiento cardíaco, que se acompaña de disminución de la resistencia periférica y de bradicardia, efectos que también señala NAYLER en sus trabajos (9). En nuestras observa-

ciones, aunque no hemos hecho determinaciones del rendimiento cardíaco, hemos observado que existe una depresión de la frecuencia cardíaca que depende de la dosis empleada, y que puede contribuir al efecto hipotensor del ST-155. Sin embargo, cuando hemos utilizado perros con perfusión de noradrenalina, no aparece dicha depresión o lo hace a dosis muy elevadas, lo cual parece indicar que la participación del lecho periférico en el efecto hipotensor del ST-155 es la más importante.

Destacamos también los efectos observados sobre el corazón, ya que, en nuestros experimentos, se observa también de una manera evidente la importancia que tienen las catecolaminas sobre dichos efectos, pues cuando se han vaciado los depósitos, mediante la administración de reserpina, aparecen con mayor facilidad y a menores dosis trastornos del trazado electrocardiográfico, al contrario de lo que ocurre cuando el perro está sometido a una infusión de noradrenalina. Esta acción depresora cardíaca no podríamos atribuir-la de un modo directo a un antagonismo competitivo con los receptores alfa cardíacos, que, por otro lado, no están demostrados, pero no repugna el que el ST-155 posea una acción directa sobre el miocardio, ya que derivados imidazólicos como la antazolina, producen depresión sinusal, aumento del umbral de excitación, aumento del período refractario y disminución de la velocidad de conducción (1, 5).

Así, pues, creemos que en el mecanismo de acción del ST-155 hay implicados dos efectos, uno directo sobre el corazón, que no está presente en todas las condiciones experimentales, y otro periférico, sobre los receptores alfa simpaticomiméticos, comportándose el ST-155 frente a estos receptores como un agonista parcial con acción estimulante y bloqueadora, indicando los estudios matemáticos de correlación en los grupos A y B que la acción bloqueadora es más persistente que la estimulante, ya que, en el primer caso, la aplicación del

tratamiento estadístico con dosis acumuladas da mejor correlación que con dosis individuales, al contrario de lo que ocurre en el grupo B.

La respuesta bifásica ya descrita repetidamente también parece indicar un estímulo previo al bloqueo definitivo de los receptores alfa, fenómeno que también sucede en los receptores beta con el dicloroisoproterenol, que casualmente es también un derivado diclorado como el compuesto que nos ocupa, sin que por el momento se pueda establecer relación entre la cloración de la molécula y los efectos descritos.

Conclusiones

El ST-155 puede mostrarse como hipotensor o hipotensor según el tono simpático inicial. Tanto la acción presora como depresora parece que son de origen preferentemente periférico por estímulo o bloqueo de los receptores alfa, aunque la acción hipotensora puede estar reforzada por una disminución del rendimiento cardíaco.

Resumen

El mecanismo de acción del clorhidrato de 2-(2,6 diclorofenilamino) 2 imidazolina (ST-155) se estudia en animales anestesiados bajo diversas condiciones experimentales que influyen sobre el tono simpático. Se llega a la conclusión de que si se parte de un tono simpático bajo, el ST 155 se comporta como hipertensor, mientras que si el tono simpático está elevado, se comporta como hipotensor, confirmando la acción dualística comprobada *in vitro*.

El ST-155 produce depresión cardíaca, que puede contribuir a su efecto hipotensor. Esta depresión cardíaca es más acentuada en los animales sometidos al vaciamiento de las catecolaminas por la reserpina.

Bibliografía

1. BRUGGER, A. J.: Perspectivas actuales de la terapéutica cardiovascular. Ed. Facta. 61-75. 1968.
2. BRUGGER, A. J., SALVÁ, J. A., SOPENA, M., y OLIVER, R.: *R. esp. Fisiol.*, **25**, 233, 1969.

3. GRAUBNER, W. y WOLF, M.: *Arzneimittelforsch.*, **16**, 1055, 1966.
4. HOEFKE, W. y KOBINGER, W.: *Arzneimittelforsch.*, **16**, 1038, 1966.
5. KABELA, E., MENA, M. A., MARTÍNEZ-LÓPEZ, M. y MÉNDEZ, R.: *Acta Cardiol.*, **22**, 113, 1967.
6. KOBINGER, W. y WALLAND, A.: *Arzneimittelforsch.*, **17**, 292, 1967.
7. KÜNDIG, H., MONNIER, H., LEVIN, N. W. y CHARLTON, R. W.: *Arzneimittelforsch.*, **17**, 1440, 1967.
8. MERGUET, P., HEIMSOTH, V., MURETA, T. y BOCK, K. D.: *Pharmacol. Clin.*, **1**, 30, 1968.
9. NAYLER, W. G., PRICE, J. M., SWANN, J. B., MCINNIS, I., RACE, D. y LOWE, T. E.: *J. Pharmacol.*, **164**, 45, 1968.
10. OBERDORF, A., HOFFMEISTER, F. y KRONEBERG, G.: *Naunyn Archmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, **257**, 48, 1967.
11. ONESTI, G., SCHWARTZ, A. B., KIM, K. E., SWARTZ, C. y BREST, A. N.: *Circulation*, **39**, 219, 1969.