

Relación estructura química-actividad farmacológica de los moduladores de los canales de calcio

C. Sunkel, M. Fau de Casa-Juana, L. Santos, M.M. Gómez, J. Priego, M.P. Ortega y A. García*

Departamento de Investigación. ALTER S.A. Madrid y *Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma. Madrid.

Introducción

La modulación farmacológica de la actividad de los canales lentos de calcio voltaje dependientes tuvo su origen en el hallazgo de Fleckenstein¹ al comprobar que el verapamilo disminuía la contractilidad cardíaca y que un exceso de Ca^{2+} contrarrestaba dicho efecto, acuñando el término de antagonista del Ca^{2+} para definir a los fármacos que eran capaces de impedir la entrada de Ca^{2+} a la célula a través de los canales iónicos.

Desde entonces, las 4-aril-1,4-dihidropiridinas (1,4-DHP) se han convertido en el grupo más importante de antagonistas del calcio. Estos compuestos son potentes vasodilatadores arteriulares con efectos relativamente insignificantes sobre el corazón². Además, se ha descrito un nuevo grupo de 1,4-DHP que aumenta la entrada de calcio. Estos activadores de los canales de calcio representan un nuevo grupo de compuestos con potentes efectos vasoconstrictores y con actividad cardíaca inotrópico-positiva³.

Nuestro grupo de trabajo ha estado interesado en los últimos años en la modificación del anillo de 1,4-DHP a la búsqueda de nuevas actividades asociadas a este núcleo. Así, se han sintetizado 4-aril-1,4-DHP con potentes actividades cardiovasculares y cerebrovasculares⁴, así como derivados con actividad vasoconstrictora y vasorrelajante⁵. Uno de ellos presenta interesantes propiedades sobre diversos parámetros cardiovasculares actuando como agonista del calcio^{5,6}.

Por otra parte, hemos modificado la estructura de 1,4-DHP sustituyendo el resto aromático de la posición 4 por un resto alquilo. Así, se han conseguido nuevas series de compuestos que presentan una interesante actividad antitrombótica⁷ y antagonista del factor de activación plaquetaria (PAF)⁸.

4-aril-1,4-dihidropiridinas como calciomoduladores

Nuestro primer objetivo de búsqueda de una nueva 4-aril-1,4-DHP se dirigió hacia la síntesis de una estructura «clásica» del tipo de nifedipino, es decir, que reuniera los requisitos estructurales de un antagonista del calcio. Estos requisitos fueron inicialmente definidos por Loev⁹ y son, básicamente, los siguientes:

La actividad aumenta con la sustitución en la posición 4 del anillo en la secuencia $H < Me < cicloalquilo < heterociclo < fenilo < fenilo$ sustituido.

La sustitución en el átomo de N, así como la oxidación del anillo, provoca la pérdida casi total de la actividad.

Los grupos ésteres en las posiciones 3 y 5 del anillo son los óptimos para la actividad.

De esta manera llegamos a la síntesis de un compuesto denominado «furnidipino»¹⁰, cuya estructura está recogida en la figura 1.

Este compuesto tiene la particularidad estructural de presentar dos centros quirales, señalados en la fórmula (con asteriscos), con lo cual existen 4 isómeros ópticos.

La obtención a escala industrial de este compuesto produce un racemato RR/SS con una riqueza superior al 99%. La síntesis de los cuatro diastereoisómeros¹¹ ha permitido llevar a cabo los ensayos del desplazamiento de la unión de ³H-isradipino en ileon de cobaya de cada uno de ellos, siendo el orden de afinidad el siguiente: $SS > SR > RR > RS$ ¹². De estos datos se desprende que los estereoisómeros más activos son aquellos que presentan la configuración S para el C4 del anillo de DHP, dato que concuerda con lo publicado en la literatura sobre 1,4-DHP, en la que se observa que los enantiómeros S son más activos que los R¹³.

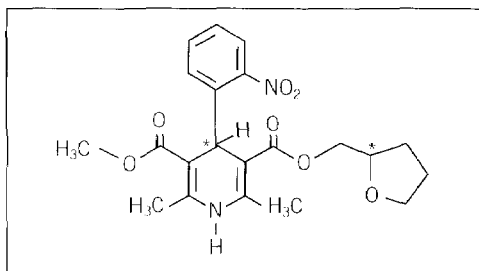


Fig. 1. Furnidipino; *centros quirales.

El furnidipino es 10 veces más potente que el nifedipino relajando la aorta de rata y 358 veces más potente en la arteria coronaria de cerdo despolarizada con potasio. El producto aumentó el flujo coronario a dosis inferiores a las del nifedipino y la duración de acción fue más prolongada.

Fue significativamente más activo en venas mesentéricas de pequeño diámetro que en las correspondientes arterias mesentéricas, mientras que el nifedipino no demostró ningún efecto diferencial. Los resultados en diversos vasos demostraron una alta selectividad del furnidipino por los lechos vasculares.

Los estudios hemodinámicos demostraron que el furnidipino reduce la forma dosisdependiente, tanto la poscarga como la presión telediastólica del ventrículo izquierdo y la precarga, aumentando de esa forma el gasto cardíaco. En pacientes con angina estable, su administración intravenosa ha demostrado una buena tolerancia, ausencia de inotropía negativa apreciable, reducción del trabajo del corazón al disminuir la resistencia periférica y el retorno venoso, aumento del índice cardíaco al incrementar el trabajo del ventrículo izquierdo, sin influencia en la frecuencia cardíaca que sólo aumenta, junto con la mayor disminución de las presiones sistólica y diastólica, a las dosis más altas.

En contraste con otros antagonistas del calcio como el verapamilo, el diltiazem y el bepridilo, el furnidipino no afecta la conducción auriculoventricular y, por tanto, puede ser prescrito a pacientes en los que aquellos fármacos están contraindicados.

La ausencia de actividad inotrópica negativa y la no afectación de la conducción del nódulo auriculoventricular y de la frecuencia cardíaca permiten el uso conjunto del furnidipino con bloqueadores beta.

En modelos animales de isquemia inducida por ligadura de arteria coronaria, el furnidipino

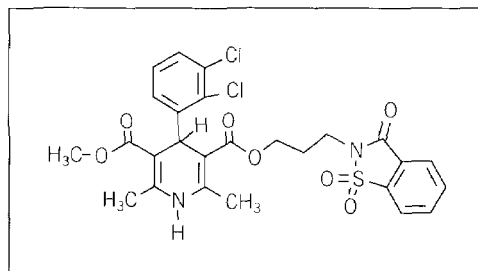


Fig. 2. PCA-50938.

previno completamente la mortalidad y la fibrilación ventricular tras situaciones de isquemia-reperusión. En un modelo de infarto de miocardio inducido por isoproterenol, disminuyó la mortalidad y redujo sustancialmente el área de infarto.

El furnidipino mostró una buena tolerancia y un buen perfil farmacológico de seguridad, así como muy baja toxicidad a largo plazo. Posee un margen de seguridad superior a los representantes de la segunda generación de antagonistas del Ca^{2+} .

El furnidipino posee las características de un fármaco de elección en la prevención y el tratamiento de diferentes situaciones clínicas asociadas a lesión miocárdica tales como angina de esfuerzo estable, angina inestable, angioplastia coronaria, infarto agudo de miocardio con reperusión tras trombólisis, cirugía cardíaca y trasplante cardíaco.

El campo en el que el furnidipino pudiera convertirse en el primer agente terapéutico realmente nuevo y original es el de la protección de la muerte súbita cardíaca.

Basándonos en experiencias previas, decidimos introducir el resto de 1,2-benzisotiazol-3-ona-1,1-dióxido en la cadena lateral de una 1,4-DHP, conservando los demás patrones de sustitución clásicos en el anillo. De esta forma se obtuvieron una serie de derivados, de entre los cuales destaca el compuesto cuya clave de laboratorio es PCA-50938⁵ (fig. 2).

El PCA-50938 posee una relación de selectividad tisular vasos/corazón muy alta (686) en comparación con el nifedipino (39) e incluso el felodipino (126). La selectividad también se muestra en vasos cerebrales cuando se compara con arterias femorales o mesentéricas. Por medio de la utilización de técnicas de radioligando se ha demostrado que posee una mayor afinidad en el cerebro que el nifedipino y el felodipino.

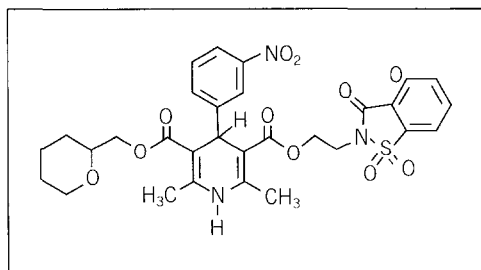


Fig. 3. PCA-50941.

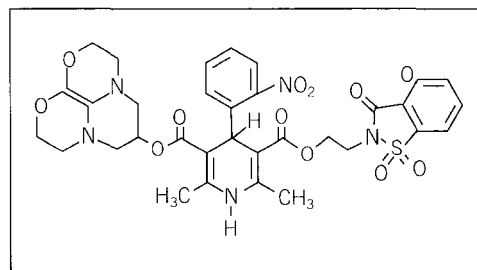


Fig. 4. PCA-50982.

Por otro lado, la instauración del efecto vasodilatador y la reversibilidad de su efecto son mucho más lentas que las de nifedipino.

El PCA-50938 posee actividad protectora frente a la isquemia cerebral. Este efecto ha sido demostrado en varios modelos experimentales de isquemia realizados en ratones, gerbos y cabra consciente, donde el PCA-50938 aumentó el flujo sanguíneo cerebral y la supervivencia de los animales en estudio, así como también disminuyó el número de neuronas lesionadas por la anoxia.

Cabe destacar que este producto es sustancialmente menos potente como hipotensor que el nisoldipino y el felodipino en diversos modelos de hipertensión en rata. En conjunto, además, el aumento de la frecuencia cardíaca producido por el PCA-50938 es menor que el inducido por el felodipino y el nisoldipino.

Por otra parte, se observó, sorprendentemente, que uno de los compuestos de esta serie, cuya clave de laboratorio es PCA-50941 (fig. 3), presentaba efecto vasoconstrictor y aumentaba la presión arterial^{5,6}.

Desde el punto de vista estructural, hay que destacar que este compuesto vasoconstrictor difiere de los agonistas del calcio descritos hasta el momento. Puede observarse que nuestro compuesto presenta dos restos ésteres en las posiciones 3 y 5 del anillo de 1,4-DHP. Uno de ellos está unido al resto de benzotiazolona a través de un puente etilénico y el otro a un resto de 2-metiltetrahidropirano. Ninguno de los agonistas descritos hasta ahora presenta este patrón de sustitución, ya que en concreto el Bay K 8644³ incorpora un grupo nitro en la posición 3 del anillo, el CGP 28392¹⁴ es una lactona y el YC 170¹⁵ es una amida. Por ello, este nuevo compuesto se suma al heterogéneo grupo de agonistas del calcio.

Se han llevado a cabo cálculos teóricos¹⁶ y comparaciones entre estructuras cristalinas de

algunos agonistas y antagonistas, y se ha postulado una hipótesis que explica las diferencias conformacionales entre estos, en función del enlace de hidrógeno que forma en 1-NH y la orientación de los grupos ésteres.

El PCA-50941 aumenta las contracciones de aorta de conejo inducidas por adición de Ca^{2+} en presencia de 10 mM de K^+ con la misma potencia que el Bay K 8644⁵. Sus efectos vasoconstrictores coronarios, muy débiles o incluso inexistentes, contrastan, por el contrario, con el potente efecto constrictor de coronaria que presenta el Bay K 8644⁶. El producto muestra una pronunciada selectividad vascular frente a la cardíaca, mientras el Bay K 8644 posee ambas acciones vasoconstrictoras e inotropopositivas de modo acusado. En este sentido, el PCA-50941 presenta ligeros efectos inotrópicos positivos en aurícula aislada de cobaya y efecto inotroponegativo en el corazón perfundido de rata.

Además, este compuesto mostró un perfil bifásico de vasoconstricción y varorrelajación, en aorta de conejo, mientras que el Bay K 8644 fue un agente vasoconstrictor puro.

Ambos compuestos, en corazón aislado de rata, disminuyeron el flujo coronario. En el caso del Bay K 8644, al causar un marcado aumento de la fuerza contráctil, el gasto cardíaco aumenta. Por el contrario, el PCA-50941 causa una disminución de la fuerza contráctil que conduce a un gasto cardíaco disminuido.

Los estudios hemodinámicos in vivo actualmente en curso confirman la potencial aplicación de este compuesto en situaciones clínicas tales como estados de shock, hipotensión idiopática crónica, migraña vascular, etc. Su selectividad tisular y su prolongada duración de acción otorgan al PCA-50941 un perfil cardiovascular más favorable que otros agonistas del calcio 1,4-dihidropiridínicos.

El último compuesto de tipo 1,4-aril-1,4-DHP desarrollado ha sido el PCA-50982¹⁷ (fig. 4).

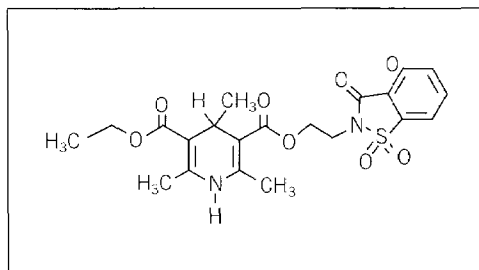


Fig. 5. Trombodipino.

Este compuesto posee la característica de que, además de incorporar un resto de benzisotiazolona en el éster en C3, posee una agrupación de 1,3-di-(N-morfolino) isopropilo. Esta modificación ha permitido obtener derivados dihidropiridínicos solubles en agua, mediante la formación de sus sales correspondientes, de forma similar a lo que sucede con el amlodipino.

La velocidad de instauración del efecto relajante del PCA-50982, en tiras helicoidales de aorta de conejo contraída con potasio, fue más lenta que la del amlodipino. La actividad desplazante del PCA-50982 de [^3H] isradipino en íleon de cobaya va aumentando linealmente con el tiempo de incubación. La cinética de instauración del efecto hipotensor de este compuesto resultó muy diferente de la del nifedipino. Mientras este último tiene un efecto temprano acusado, el PCA-50982 disminuye la presión arterial y la frecuencia cardíaca de forma lenta y paulatina, alcanzándose el efecto máximo tras una hora de administración del compuesto. En ratas espontáneamente hipertensas y conscientes no se aprecia aumento de la frecuencia cardíaca y el efecto hipotensor del PCA-50982 duró más de 18-20 h.

El PCA-50982 no produce aumento de la frecuencia cardíaca, e incluso presenta un ligero efecto bradicardizante. La instauración de la hipotensión lenta y gradual puede ser la principal causa de la ausencia de taquicardia refleja. A este efecto coadyuva otro adicional vasodilatador mixto (arterial y venoso) similar al de los nitratos, con mejora de la función cardíaca.

Este producto presenta la ventaja sobre otros de la misma familia de ser altamente soluble en agua, lo que lo hace especialmente indicado para su uso en venoclisis en unidades de cuidado intensivo y en accidentes cardiovasculares graves y agudos que incluyen isquemia cerebral, coronaria y crisis hipertensivas y anginosas.

4-alkil-1,4-dihidropiridinas con nuevas propiedades farmacológicas

Muchos grupos han descrito la actividad antiplaquetaria de 1,4-DHP usadas comúnmente como bloqueadores de los canales del calcio¹⁸. Sin embargo, la concentración usada en esta aplicación es de 2-3 órdenes de magnitud más altas que la necesaria para alcanzar los efectos sobre el sistema cardiovascular. Este hecho nos condujo a la idea de una nueva serie de 1,4-DHP con una mayor actividad antitrombótica y básicamente libre de efectos cardiovasculares. Así, se suprimió el sustituyente aromático del anillo de DHP, que es esencial para la acción como bloqueadores de los canales de calcio⁹. De esta forma, hemos introducido un resto alquilo, preferentemente metilo, en la posición 4 del anillo de 1,4-DHP. Simultáneamente, hemos unido un grupo de 2-benzisotiazolona-1,1-dióxido mediante un puente alquilénico al carboxilato en C-3'. De todos los compuestos sintetizados, fue seleccionado para su posterior desarrollo farmacológico y clínico el trombodipino, que aparece en la figura 5.

Este compuesto posee un perfil farmacológico muy diferente del de la aspirina y otros fármacos con actividad antiplaquetaria. El trombodipino posee un amplio espectro de actividad antiagregante, ya que es capaz de inhibir tanto la agregación como la reacción de liberación de las plaquetas estimuladas con los diversos agonistas fisiológicos¹⁹. Este compuesto es sólo un débil inhibidor de la agregación plaquetaria inducida por trombina o ácido araquidónico.

Cuando se administra por vía oral o intraperitoneal a dosis entre 0,1 y 10 mg/kg, el trombodipino ha demostrado poseer una potente actividad antitrombótica.

La administración a ratones de dosis únicas de compuesto indujo un alargamiento del tiempo de hemorragia de forma dependiente de la dosis desde la primera hora de su administración. Este efecto fue máximo a la dosis de 10 mg/kg.

El trombodipino protegió a los animales de experimentación de la muerte inducida por agonistas fisiológicos individuales y asociados entre sí, en un modelo de trombosis inducida por 2 agonistas que fue seleccionado por nuestro grupo por el hecho de que, a menudo, los episodios de trombosis son iniciados por más de un agonista^{16,20,21}.

Esta protección del trombodipino frente a la formación del trombo in vivo está relacionada con su efecto sobre la activación de las plaque-

tas, ya que el compuesto no modifica la adhesividad plaquetaria, responsable de la formación de la primera monocapa de plaquetas sobre la lesión vascular, ni actúa sobre los procesos de coagulación y fibrinólisis²².

El mecanismo de acción del trombodipino es muy diferente del de los otros fármacos antiplaquetarios utilizados en la actualidad. Este compuesto no afecta a la producción de tromboxano A₂ como la aspirina²³, ni modifica la unión de fibrinógeno a su receptor en plaquetas, como en el caso de ticlopidina²⁴. Se ha demostrado que trombodipino antagoniza selectivamente la entrada de calcio en plaquetas a través de canales operados por receptor, sin interferir con el mecanismo responsable de la movilización de calcio de los depósitos intracelulares²⁵. Más recientemente, se ha sugerido que esta actividad del compuesto es específica para las plaquetas, ya que este efecto no se manifiesta en otras células tales como neutrófilos humanos o timocitos de rata²⁶.

Cuando se administraron dosis únicas de hasta 800 mg a voluntarios sanos, el trombodipino fue bien tolerado. Se apreció un alargamiento significativo del tiempo de hemorragia que, sin embargo, permaneció dentro del intervalo de valores normales e inhibición de la agregación de plaquetas inducida por distintos agonistas²⁷.

La administración de 200 mg/día de trombodipino durante 90 días a pacientes de enfermedad arterosclerótica incipiente, moderada o avanzada, produjo una marcada inhibición de la agregación plaquetaria inducida por colágeno, ADP y trombina, sin que se modificaran los parámetros de coagulación. Los resultados de la bioquímica de seguridad demostraron que el compuesto es perfectamente tolerado y posee un amplio margen de seguridad²⁸.

El PAF es un mediador fosfolipídico implicado en muchos procesos fisiológicos y patológicos, entre los que se pueden mencionar el asma, la anafilaxia, alteraciones cardiovasculares y el shock séptico. El PAF actúa sobre las células a través de receptores específicos en la membrana celular.

Durante el cribado farmacológico de los compuestos que presentaban un resto de tioéter unido a través de un puente etilénico al carboxilato de la posición 3 del anillo de 1,4-DHP, se observó que inhibían la agregación plaquetaria inducida por PAF, pero no presentaban inhibición a la agregación inducida por otros agonistas tales como ADP, colágeno, trombina y ácido araquidónico⁸.

De todos los compuestos obtenidos, se ha seleccionado el tiapafant, que aparece en la figu-

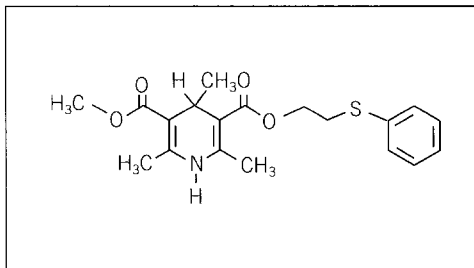


Fig. 6. Tiapafant.

ra 6. Se trata de un derivado del núcleo de 1,4-dihidropiridina, carente de actividad sobre el sistema cardiovascular, que posee actividad antagonista del receptor del PAF⁸.

El análisis de los datos obtenidos en experimentos de unión al receptor del PAF en plaquetas, neutrófilos y macrófagos alveolares de varias especies, incluyendo la humana, demostró que el tiapafant es un potente antagonista, específico y reversible de este receptor²⁹.

Cuando se administra por vía intravenosa u oral, en dosis de 0,1 a 2 mg/kg (DE₅₀ = 0,45 mg/kg), el tiapafant es capaz de antagonizar el efecto hipotensor del PAF. En estos experimentos también se observó una inhibición del aumento de permeabilidad vascular mediado por PAF³⁰. Este efecto protector se mantuvo cuando el tiapafant se administró a ratas que recibieron dosis letales y subletales de endotoxina bacteriana por vía intravenosa³¹.

La administración a cobayas de tiapafant por vía intravenosa u oral bloquea de forma selectiva la broncoconstricción inducida por PAF, así como la trombocitopenia y leucopenia acompañantes. Además, este compuesto fue capaz de bloquear los efectos de la inyección de antígeno en pulmones de cobayas activamente sensibilizadas frente a dicho antígeno. Este efecto no ha podido ser demostrado para ninguno de los antagonistas del PAF conocidos hasta el momento³², por lo que se ha sugerido que el tiapafant posee características originales en este tipo de situaciones patológicas³³.

Finalmente, se ha demostrado que el tiapafant es activo en una serie de modelos de inflamación y shock dependientes de PAF, endotoxina bacteriana, agregados de IgG y de IgE³⁴.

Los estudios clínicos de fase I en los que se han administrado de 10 a 640 mg de tiapafant a voluntarios sanos, han demostrado que el producto es bien tolerado y no posee efectos adversos³⁵.

BIBLIOGRAFÍA

- Fleckenstein A. Die bedeutung der energiereichen phosphat für kontraktilität und tonus des myokards. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1964; 70: 81-99.
- Janis RA, Silver PJ, Triggler DJ. Durg action and cellular calcium regulation. *Adv Drug Res* 1987; 16: 309-391.
- Schramm M, Thomas G, Towart R, Franckowiak G. Novel dihydropyridines with positive inotropic action through activation calcium channels. *Nature* 1983; 303: 535-537.
- Sunkel C, Fau de Casa-Juana M, Statkow P, Straumann D. U.S. Patent 4656181.
- Sunkel C, Fau de Casa-Juana M, Santos L, García AG, Artalejo CR, Villarroja M et al. Synthesis of 3-[(2,3-Dihydro-1, 1,3-trioxo-1,2-benzisothiazol-2-yl)alkyl] 1,4-Dihydropyridine-3,5-dicarboxylate derivatives as calcium channel modulators. *J Med Chem* 1992; 35: 2.407-2.414.
- Priego JG, González-Morales MA, Cillero FJ, Villarroja M, Sunkel C, Fau de Casa-Juana M et al. PCA-50941, a novel Ca²⁺ channel agonist. *Eur J Pharmacol* 1993; 243: 24-34.
- Sunkel C, Fau de Casa-Juana M, Cillero FJ, Priego JG, Ortega MP. Synthesis, Platelet aggregation inhibitory activity, and in vivo antithrombotic activity of new 1,4-dihydropyridines. *J Med Chem* 1988; 31: 1.886-1.890.
- Sunkel C, Fau de Casa-Juana M, Santos L, Gómez MM, Villarroja M, González-Morales MA et al. 4-alkyl-1,4-dihydropyridines derivatives as specific PAF-acether antagonists *J Med Chem* 1990; 33: 3.205-3.210.
- Loev B, Goodman MM, Snader KM, Tedeschi R, Macko E. «Hantzsch-type» dihydropyridine hypotensive agents. *J Med Chem* 1974; 17: 956-965.
- Statkow PR, Chatterjee SS, Straumann D, Sunkel C, Priego JG, Fau de Casa-Juana M. Furnidipine, a new selective and long-acting calcium entry blocking agent. *XI Int Cong Pharmacol (Amsterdam)* 1990; 173.
- Alajarín R, Álvarez-Builla J, Vaquero JJ, Sunkel C, Fau de Casa-Juana M, Statkow PR et al. Synthesis and chromatographic separation of the stereoisomers of furnidipine. *Tetrahedron Assymetry* 1993; 4: 617-620.
- Priego JG, Florentino A, Sunkel C, Fau de Casa-Juana M, Statkow PR, Straumann D et al. Calcium antagonist activity of the different stereoisomers of furnidipine [resumen]. *5th Int. Symp. Calcium antagonists: Pharmacol Clin Res (Houston)* 1991; 31.
- Goldmann S, Stotelfuss J, 1,4-Dihydropyridines: Effects of chirality and conformation on the calcium antagonist and calcium agonist activities. *Angew Chem Int Ed Engl* 1991; 30: 1.559-1.578.
- Erne P, Burgisser E, Buhler FR, Dubach B, Kuhnis H, Meier M et al. Enhancement of calcium influx in human platelets by CGP28392, a novel dihydropyridine. *Biochem Biophys Res Comm* 1984; 118: 842-847.
- Takenaka T, Maeno H. A new vasoconstrictor 1,4-dihydropyridine derivative YC-170. *Jpn J Pharmacol* 1983; 32 (Supl): 139.
- Di Minno G, Silver MJ. Mouse antithrombotic assay: A simple method for the evaluation of antithrombotic agents in vivo. Potentiation of antithrombotic activity by ethyl alcohol. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 225: 57-60.
- Fau de Casa-Juana M, Santos L, Sunkel C, Cillero J, García AG, González-Morales MA et al. Nuevos derivados de 1,4-dihydropiridina, procedimiento para su fabricación y uso como agentes terapéuticos. Patente Española N.º solicitud P-9302422/3.
- Ono H, Kimura M. Effect of Ca²⁺-antagonistic vasodilatadores. Diltiazem, Nifedipine and Verapamil on platelet aggregation in vitro. *Arzneim-Forsch/Drugs Res* 1981; 31: 1.131.
- Ortega MP, Sunkel C, Priego JG. Inhibition of human platelet function by PCA-4230. *Thromb Haemost* 1987; 58: 632.
- Ortega MP, Sunkel C, Priego JG. Protective effect of a new synthetic compound: PCA-4230, on several in vivo thrombosis models. *Thromb Haemost* 1987; 58: 631.
- Ortega MP, Priego JG, Sunkel CE. Mouse antithrombotic assay: The effect of PCA-4230 versus Cilostazol. *Thromb Haemost* 1991; 65: 1.352.
- Gutiérrez Díaz JA, Tolon RM, Sunkel C, Priego JG, Ortega MP. Interaction of platelets with subendothelium in rats treated with PCA-4230, a new antithrombotic agent. *Haemostasis* 1992; 22: 202-210.
- Preston FE, Whipps S, Jackson CA, French AJ, Wyld PJ, Stoddard CJ. Inhibition of prostacyclin and platelet thromboxane A₂ after low-dose aspirin. *N Engl J Med* 1981; 304: 76-79.
- McTavish D, Faulds D, Goa KL. Ticlopidine. An update review of its pharmacology and therapeutic use in platelet-dependent disorders. *Drugs* 1990; 40: 238-259.
- Alonso MT, Villalobos C, Sánchez A. Effects of the antithrombotic agent PCA-4230 on agonist-induced Ca²⁺ entry and Ca²⁺ release in human platelets. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1.104: 257-260.
- Montero M, Gómez MM, Ortega MP, Álvarez J. Inhibition of agonist-induced Ca²⁺ entry by the antithrombotic agent PCA-4230 is specific for platelets. *Biochim Biophys Acta*. En prensa.
- Cillero J, Navarro JL, Narvaiza J, Priego JG, Sunkel CE, Ortega MP. Clinical pharmacology (Phase I) of PCA-4230, a new antithrombotic agent, in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 1991; 65: 1.145.
- Guivernau M. Resultados del ensayo clínico de Fase II en pacientes de enfermedad aterosclerótica obliterante con PCA-4230. Informe Interno 1994.
- Ortega MP, García MC, Gijón MA, Fau de Casa-Juana M, Priego JG, Sánchez-Crespo M et al. 1,4-Dihydropyridine, a new class of platelet-activating factor receptor antagonist: In vitro pharmacologic studies. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255: 28-33.
- Fernández-Gallardo S, Ortega MP, Priego JG, Fau

- de la Casa-Juana M, Sunkel C, Sánchez-Crespo M. Pharmacological actions of PCA-4248, a new platelet-activating factor receptor antagonist: in vivo studies. *J Pharmac Exp Ther* 1990; 255: 34-39.
31. Gómez MM, Sunkel C, Priego JG, Ortega MP. Activity of PCA-4248 in PAF or endotoxin-induced hypotension and death. *J Lip Med* 1990; 2: 211.
32. Pretolani M, Lefort J, Vargaftig BB. Limited interference of specific PAF-acether antagonists with hyperresponsiveness to PAF-acether itself of lungs from actively sensitized guinea-pigs. *Br J Pharmacol* 1989; 97: 433-439.
33. Lima MCR, Neto HCCF, Silva PMR, Dias MTRP, Bozza PT, Pérez SAC et al. Interference of PCA-4248, a novel PAF antagonist, on antigen-induced pleurisy. *Eur J Pharmacol* 1990; 183: 888.
34. Fernández-Gallardo S, Gijón MA, García C, Furió V, Liu F-T, Sánchez-Crespo M. The role of platelet-activating factor and peptidoleukotrienes in vascular changes of rat passive anaphylaxis. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 119-125.
35. PCA-4248: A double blind, placebo-controlled rising single oral dose, safety, tolerance, pharmacokinetics and pharmacodynamics in healthy male volunteers. Hazleton-Besselaar, Internal report. 1994.

DISCUSIÓN

- A. ALBILLOS: ¿Cuál es el sitio de unión de la molécula de dihidropiridina en el receptor?, ¿es el anillo piridina o depende de la conformación que adopta la molécula?
- C. SUNKEL: Uno de los radicales más importantes es el NH en la posición 1 del anillo. Si cambia la conformación va cambiando la orientación de ese grupo NH, y ello tiene implicaciones en la unión de la molécula al receptor. Otra parte importante en la unión al receptor son los grupos carboxilatos, que como puede apreciarse en un modelo molecular, pueden adoptar dos orientaciones que modifican la conformación. Otro tipo de fijación son las uniones de tipo Van der Waals, por ejemplo, del grupo aromático.
- A. ALBILLOS: ¿Qué ocurre, por ejemplo, con amlodipino, que tiene un cloro en lugar de NO₂?
- C. SUNKEL: Es un cloro derivado.
- A. ALBILLOS: O sea, ¿que no tienen que haber necesariamente grupos NO₂ en la posición 2 y 3?
- C. SUNKEL: No, por ejemplo, el amlodipino es un 2-cloro derivado, otros compuestos sintetizados en nuestro laboratorio, por ejemplo el PCA50938 es un 2-3 dicloro-derivado, y existen también trifluometilderivados. El mejor sustituyente es un grupo que atraiga electrones, no que los ceda como, por ejemplo, un grupo metilo. En este último caso no sería un antagonista del calcio potente.
- M. HURLÉ: ¿El agonista PCA-50941 tiene acción bifásica como ocurre con algunos compuestos que son agonistas o antagonistas según las dosis?
- A.G. GARCÍA: Creo que la mayoría de las dihidropiridinas son una mezcla racémica de agonista y antagonista. De hecho, se ha descrito que nifedipino, a dosis subnanomolares posee cierto efecto vasoconstrictor. En el caso de la molécula sintetizada por el Dr. Sunkel et al, posee la particularidad de que dependiendo del órgano se manifiesta más o menos el efecto agonista o antagonista.
- C. MONTEL: Cuando habla de las estructuras tridimensionales de las dihidropiridinas, ¿se refiere a la molécula en estado sólido, cristalino?, ¿qué ocurre cuando está en solución?
- C. SUNKEL: Siempre que hablamos de conformación nos referimos al estado sólido. En solución, y teniendo en cuenta que los enlaces pueden rotar, la conformación va cambiando constantemente. El problema de la química médica para diseñar es que desconocemos lo que se llama conformación activa del compuesto; no sabemos cómo es la conformación activa en el momento que el compuesto se une al receptor y forma el complejo.
- F. BARROS: Puesto que hay diferentes tipos de antagonistas orgánicos de canales de calcio ¿existe alguna estructura general en los canales que actúe como un sitio de unión al igual que podría ocurrir, por ejemplo, para las benzodiazepinas y ciertos receptores?
- C. SUNKEL: No lo conozco.
- A.G. GARCÍA: En cualquier caso, como reflexión final, deberíamos considerar la enorme plasticidad de las moléculas dihidropiridínicas, que poseen una variedad de acciones farmacológicas extraordinariamente amplia.

J. TAMARGO: Con respecto a los *pockets* para dihidropiridinas quisiera comentar que, si existen, deberían localizarse a nivel extracelular. Por otra parte, se supone que hay un *pocket* intracelular para el verapamilo y que hasta hace poco pensábamos que era para el diltiazem. Los datos más recientes apuntan que los derivados del diltiazem también tendrían un *pocket* extracelular.

J. LÓPEZ BARNEO: Usted ha comentado la diferencia de afinidad de los 4 esteroisómeros en el cerebro, pero había un grupo que tenía un

alto nivel de unión del flunaridipino y otro grupo que se unía con menos afinidad, ¿ha observado esa diferencia de los mismos esteroisómeros en otros tejidos que no sean el cerebro?

C. SUNKEL: En cerebro y corazón. Se ha comprobado que la configuración que importa para la actividad de estos compuestos que tienen dos centros de simetría, es la configuración del carbono 4 del anillo de 1-4 de dihidropiridina. Y tanto en el corazón como en el cerebro siempre es la configuración S la que muestra mayor afinidad por el receptor.