



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

Fármacos que contienen grupo nitrilo. Aplicaciones biológicas

Autor: Teresa Arquero Sánchez

Tutor: María Loreto Salazar Martínez de Pisón

Convocatoria: Junio 2017

ÍNDICE

Resumen:.....	3
Introducción y antecedentes:.....	3
Objetivos:.....	4
Metodología:.....	4
Resultados y discusión:.....	5
Metabolismo grupo nitrilo	7
Ensayos de Toxicidad	9
Ejemplos de fármacos con grupo nitrilo	14
Conclusiones:.....	17
Bibliografía:	17

Resumen:

Existe un gran número de fármacos empleados en gran variedad de terapias, que presentan en su estructura el grupo nitrilo. Este grupo puede dar lugar a diferentes interacciones, a nivel molecular, lo que justifica que pueda tener diversas funciones, entre ellas: bioisómero de carbonilo, sustituto de hidroxilo y carbonilo, atractor electrónico, mejorar determinadas interacciones por enlace de hidrógeno, análogo del estado de transición de grupo carboxilo y bioisómero de halógenos.

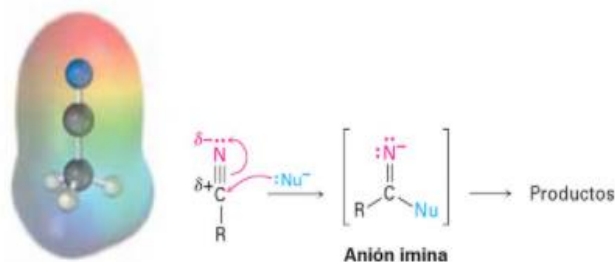
En el presente trabajo de fin de grado, se ha realizado una revisión de las posibles interacciones biológicas del grupo nitrilo, de su metabolismo, y se describen algunos ensayos que permiten determinar la toxicidad potencial de compuestos que lo contienen.

Introducción y antecedentes:

Más de 30 fármacos que contienen en su estructura un grupo nitrilo se prescriben hoy en día para una gran variedad de indicaciones, además, también existen otros principios activos que lo contienen, que se encuentran en desarrollo clínico. El estudio del mecanismo de acción, farmacocinética y farmacodinamia de estos compuestos, ha permitido profundizar en el conocimiento de las funciones que puede representar a nivel biológico.

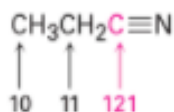
En esta memoria, se ha realizado una revisión de las interacciones posibles del grupo nitrilo con diferentes dianas biológicas. También, se ha estudiado el metabolismo de diferentes compuestos de carbonitrilo y algunos ensayos descritos que permitan predecir su toxicidad potencial.

El grupo nitrilo está formado por un átomo de carbono con tres enlaces a un átomo electronegativo. Contiene un enlace σ y 2 enlaces π . Se polariza fuertemente y tiene un átomo de carbono electrofílico. Por tanto, los nitrilos reaccionan con nucleófilos para producir aniones imina con hibridación sp^2 .



Las técnicas espectroscópicas más empleadas en la elucidación de los compuestos orgánicos son la espectroscopía IR y la Resonancia Magnética Nuclear.

El grupo nitrilo, muestra en IR una absorción intensa y fácilmente reconocible del enlace CN cerca de 2250 cm^{-1} para los compuestos saturados y de 2230 cm^{-1} para las moléculas aromáticas y conjugadas; dado que pocos grupos funcionales absorben en esta región, la espectroscopia de IR es una técnica muy útil en la caracterización de este grupo funcional. En espectroscopia de RMN de ^{13}C , el carbono del nitrilo muestra un desplazamiento químico (δ), entre 115 y 130 ppm^1 .



Objetivos:

El objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento del grupo nitrilo a nivel biológico, y explicar el porqué de su presencia tan general en el diseño de nuevos fármacos.

Metodología:

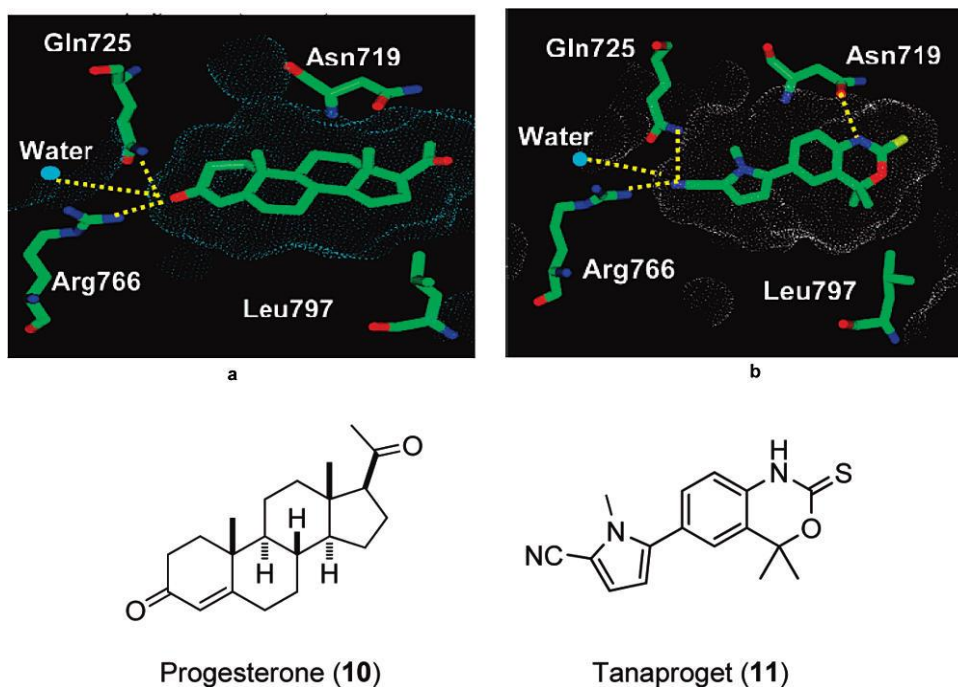
Se ha realizado una revisión bibliográfica de los artículos publicados recientemente en las bases de datos pubmed y medline, relacionados con los fármacos que contienen el grupo nitrilo en su estructura y el metabolismo de estos compuestos.

Resultados y discusión:

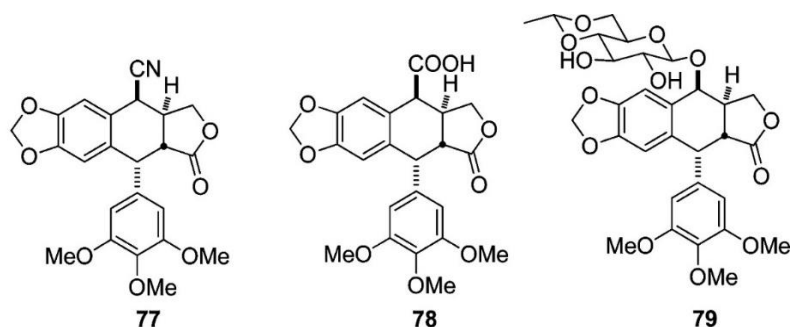
Existe un gran número de fármacos y principios activos en desarrollo farmacéutico que presentan en su estructura el grupo nitrilo. Los avances realizados recientemente en el reconocimiento molecular a través de la cristalografía de RX, RMN y modelado molecular, han dado lugar a mayor información sobre las interacciones entre moléculas pequeñas que actúan como inhibidores y sus dianas.

El estudio de estas interacciones nos da a conocer que la función biológica del grupo nitrilo, en los principios activos que lo contienen, varía considerablemente ². El nitrilo puede actuar como:

1. Bioisótero de carbonilo: Algunos compuestos con naturaleza de arilnitrilo, actúan como agonistas del receptor de progesterona. Respecto a estos, tienen la ventaja de que se disminuyen las interferencias con otros receptores esteroideos, y que mejoran la biodisponibilidad. La homología es evidente si observamos la superposición de la progesterona y el tanaproget (compuesto 11) ya que tienen las mismas interacciones polares ³. El nitrógeno del nitrilo ocupa virtualmente la misma posición que el oxígeno del carbonilo de la progesterona, y se une con las mismas interacciones polares ⁴.



2. Sustituto de hidroxilo y carboxilo: esto es debido a que el nitrilo es un fuerte aceptor de enlace de hidrógeno con una capa de solvatación significativa, lo que permite que funcione como sustituto de esos grupos. Se puede observar en los derivados del antitumoral etopósido (compuesto 79), donde se ha reemplazado el glicósido por el nitrilo (compuesto 77). Esta modificación resultó significativamente más eficaz que la sustitución por un grupo ácido (compuesto 78) ⁵.



Inhibition of L₁₂₁₀
IC₅₀(ng/mL)

3.48

164

155

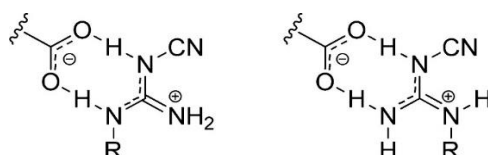
Inhibition of KB
IC₅₀(ng/mL)

155

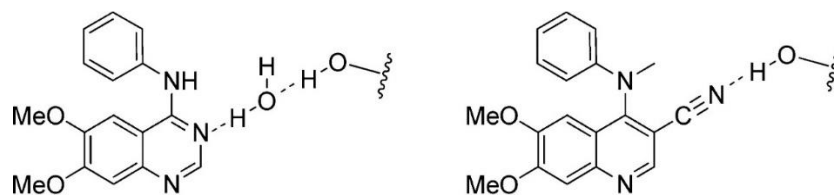
10,000

308

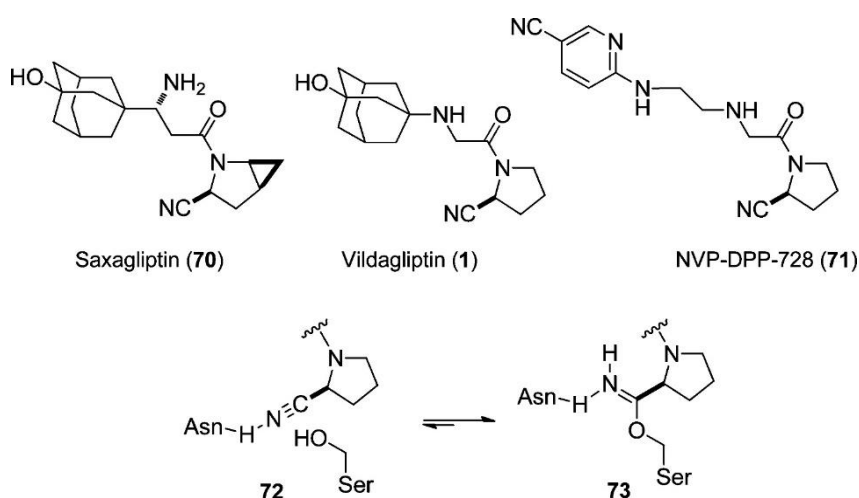
3. El nitrilo como atractor electrónico da lugar a interacciones dipolares no específicas con aminoácidos e iones metálicos. En el caso de las cianoguanidinas y estructuras parecidas, la sustitución por el nitrilo permite ajustar la basicidad de la guanidina y las propiedades de enlace de hidrógeno.



4. Cianoquinolinas y cianopiridinas pueden dar lugar a enlaces de hidrógeno muy potentes, sustituyendo enlaces de hidrógeno donde es necesaria una molécula de agua intermedia. Es factible el cambio de la quinazolina por una 3-cianoquinolina o piridina, ya que se forma un enlace de hidrógeno directo entre el nitrilo y la proteína. La expulsión del agua del dominio hace que aumente la entropía y la afinidad de unión.



5. Análogo de estado de transición de grupo carboxilo: varios aminonitrilos se han desarrollado como inhibidores reversibles de la dipeptidil peptidasa (DPP IV)⁶ para tratar la Diabetes Mellitus tipo 2. Estos inhibidores funcionan mediante el ataque de un residuo de serina sobre el nitrilo, dando lugar a una fuerte inhibición reversible (72 → 73).



6. Bioisómeros de halógenos: El nitrilo mimetiza la polarización del haluro y es a menudo un excelente bioisómero del halógeno. Es más pequeño que el bromo o el yodo, por lo que es capaz de conseguir un mayor contacto con los aminoácidos del sitio activo.

7. El grupo nitrilo mejora los perfiles ADME y toxicológico.

Metabolismo grupo nitrilo

El grupo de nitrilo es bastante estable, y en la mayoría de los casos no es fácilmente metabolizado. De manera que una gran parte de los fármacos que lo contienen, son eliminados sin que este grupo sufra transformaciones. Las reacciones metabólicas tanto de fase I, como de fase II se producen en otras posiciones alejadas del grupo nitrilo, de manera que la posible toxicidad por liberación de cianuro no tiene lugar.

En cambio, los productos nitrilos, no aptos como fármacos es posible que den lugar a toxicidad debido a su metabolismo, esto queda de manifiesto en los estudios que se han realizado con acetonitrilo.

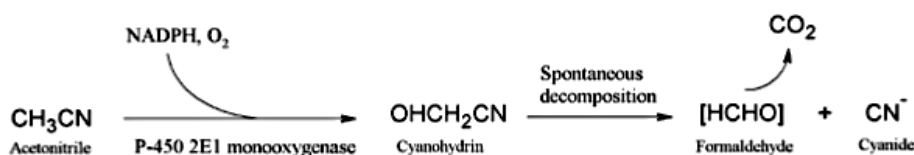
El acetonitrilo es un líquido incoloro y volátil que se emplea como disolvente. Debido a su baja viscosidad y reactividad química, es una elección habitual para la composición de fase móvil en cromatografía líquida de fase inversa. Por lo tanto, se ha realizado en profundidad el estudio de su metabolismo para determinar la toxicidad derivada de su uso.

La exposición se da principalmente por vía oral, dérmica o inhalación, este se absorbe rápidamente en todas las vías, pero la velocidad de metabolización depende de la especie.

El acetonitrilo y sus metabolitos son transportados por el cuerpo a través de la sangre, por lo que llega en poco tiempo a cerebro, hígado, riñón, bazo, estómago y músculo. En los casos en los que se da la exposición por inhalación también aparece en la piel, pulmones, intestino, testículos y orina. No se observa la acumulación del mismo en tejidos tras administraciones repetidas.

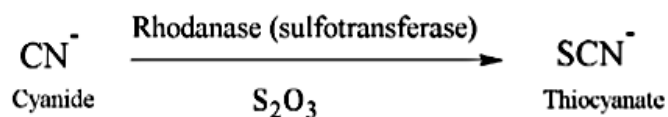
Mediante la circulación sistémica llega al hígado, donde se transforma en cianhidrina, esta reacción está mediada por la monooxigenasa del citocromo P-450 2E1 y es dependiente de oxígeno y de NADPH.

Más tarde la cianhidrina se descompone espontáneamente en cianuro de hidrógeno y formaldehído, este último rápidamente se convierte en CO₂.



El cianuro formado en esta ruta del acetonitrilo puede seguir varias vías de desintoxicación. La vía principal es su oxidación dando lugar a tiocianato, el cual es menos tóxico que el cianuro y se excreta en orina.

La oxidación está mediada por una sulfotransferasa, la rodanasa. Esta enzima está en hígado y en la mucosa nasal humana y es capaz de oxidar el 80% del cianuro producido.



Se han visto otras vías de eliminación del cianuro, las cuales se han descrito como vías menores de detoxificación del cianuro: la formación de ácido 2-aminotiazina-4-carboxílico, iones cianato, ácido fórmico y complejos de iones metálicos ⁷.

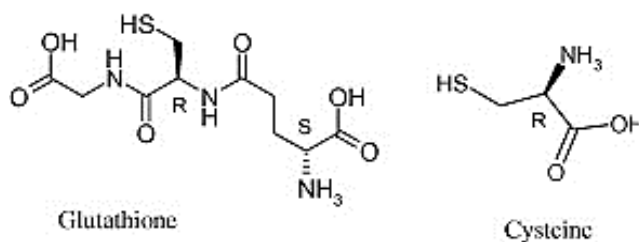
Ensayos de Toxicidad

En el desarrollo de nuevos fármacos, es fundamental el estudio de la toxicidad de los principios activos candidatos, para así poder continuar con su progreso.

En la revisión realizada, se han encontrado diferentes publicaciones relacionadas con la toxicidad de compuestos que contienen nitrilo. A continuación, se describen algunas de ellas:

1. Evaluación de la toxicidad potencial de compuestos con nitrilo por medio de su reacción con glutatión⁸.

Se llevó a cabo empleando como nucleófilos cisteína y glutatión. Esta reacción puede ser una herramienta útil para decidir si progresar o no en el desarrollo de los compuestos en ausencia de estudios de radiomarcaje.

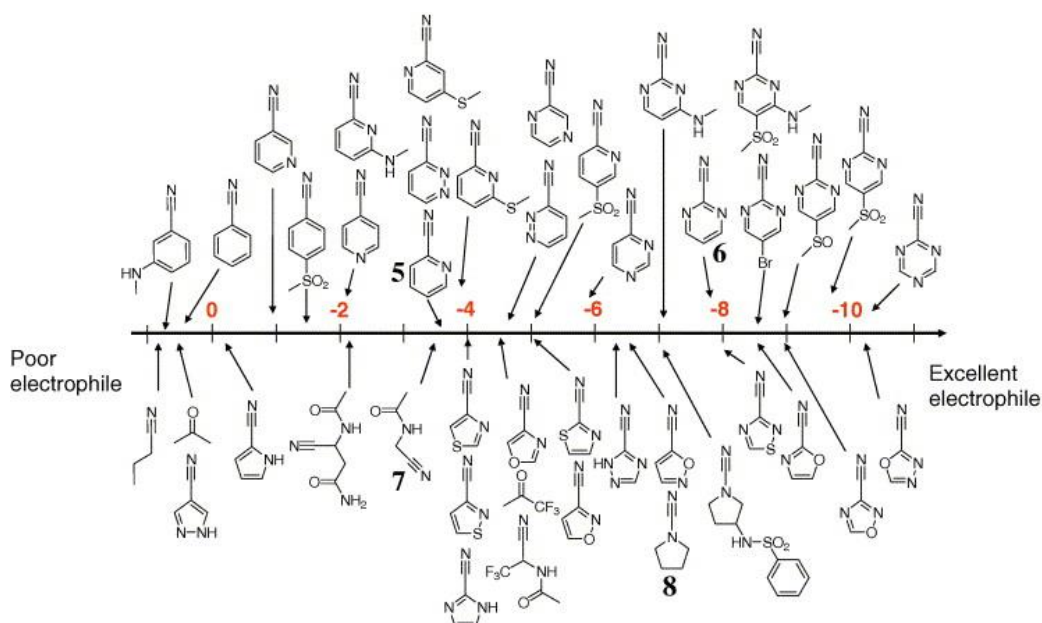


El trabajo descrito indica que las velocidades de reacción de nitrilos con tioles de moléculas pequeñas pueden cuantificarse fácilmente, y pueden variar en función de la naturaleza del tiol. En

general, el grado de reactividad está relacionado con la electrofilia del nitrilo. En este trabajo se estudió la reactividad de los nitrilos frente a cisteína (que está presente en las células en cantidades micromolares) y glutatión. La reacción con la cisteína es bastante más rápida que con el glutatión, pero a pesar de que existe una correlación general entre las dos velocidades de reacción, este no resulta un buen indicador, ya que no se conoce el comportamiento en presencia de otro tipo de tioles. Por tanto, como el glutatión es fisiológicamente más relevante, su tasa de reacción se ha utilizado preferentemente para la evaluación *in vitro*. La reacción muy rápida de los compuestos con glutatión puede dar lugar a un posible riesgo de toxicidad, ya sea por agotamiento del glutatión o por su unión irreversible a las proteínas.

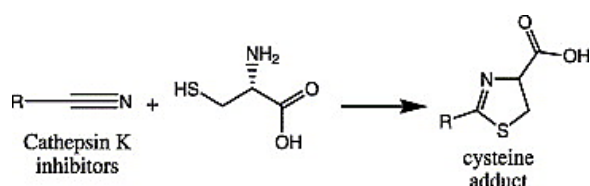
2. Modelo de estudio de toxicidad de fármacos con grupo nitrilo por estudio de su reactividad con metanotiol⁹ :

El fundamento de este consiste en la realización de un cálculo teórico (reactividad de nitrilos con metanotiol) para predecir la electrofilia de diversos compuestos que contienen nitrilo. Este método teórico es simple y general, lo que permite la comparación directa de la electrofilia entre los nitrilos de diferentes clases.

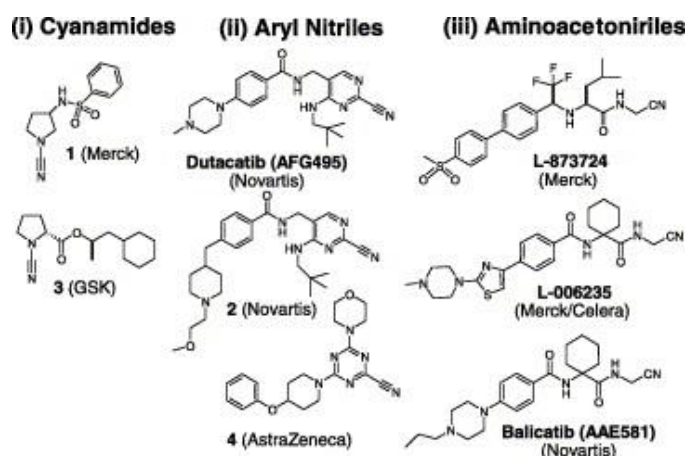


Las energías de reacción calculadas de diversas fracciones de nitrilo con metanotiol se muestran en kcal / mol. Un valor muy negativo indica alta electrofilia, mientras que los pequeños valores negativos se atribuyen a electrófilos más pobres.

El cálculo de la electrofilia se relacionó con la cantidad de aducto de tiazolina formado tras la incubación de los nitrilos con cisteína.



El ensayo se realizó con tres clases diferentes de inhibidores de la catepsina K (cianamidas, arilnitrilos y aminoacetónitrilos), y se encontró que los inhibidores con nitrilos muy electrófilos (tal y como se puede ver mediante la formación de aductos de cisteína) también presentan una unión covalente e irreversible a los microsomas hepáticos en ausencia de NADPH.

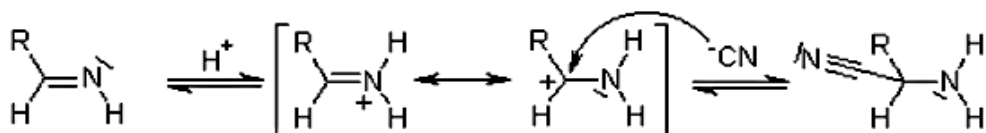


Las dos clases de nitrilo en las que se observó esta unión fueron las cianamidas y la 2-cianopirimidinas. Se necesitaría un conjunto de datos mayor para determinar si existe relación entre los nitrilos reactivos y la unión covalente irreversible a proteínas.

En cambio, los aminoacetónitrilos tienen baja reactividad y la unión covalente es despreciable. Así, la posibilidad de efectos adversos en los seres humanos debido a la unión covalente se reduciría al mínimo con esta clase de inhibidores.

3. “Estudio comparativo de toxicidad de diversos nitrilos alifáticos”¹⁰:

Se ha postulado que los nitrilos alifáticos manifiestan su toxicidad mediante la liberación de cianuro.



Por eso se han investigado los signos de toxicidad y el efecto de las dosis que presentan DL50 en mono- y dinitrilos alifáticos, saturados e insaturados, mediante los niveles de cianuro en tejidos y sangre, niveles de glutatión en el tejido y actividad del citocromo-C-oxidasa. Los compuestos estudiados fueron los siguientes: acetonitrilo, propionitrilo, butironitrilo, cianuro de potasio, acrilonitrilo, fumaronitrilo y malononitrilo.

Los signos de la toxicidad se clasificaron en efectos colinomiméticos (simulan acción de la acetilcolina) observados con nitrilos no saturados y efectos en el sistema nervioso central observados con nitrilos saturados y cianuro de potasio (KCN).

Los niveles de cianuro hepáticos y en sangre 1 h después del tratamiento fueron más altos después del malononitrilo y disminuyeron en el siguiente orden: propionitrilo > cianuro de potasio > butironitrilo > acrilonitrilo > fumaronitrilo > acetonitrilo. Este orden es diferente en el cerebro donde el cianuro de potasio estuvo por delante del malononitrilo y propionitrilo.

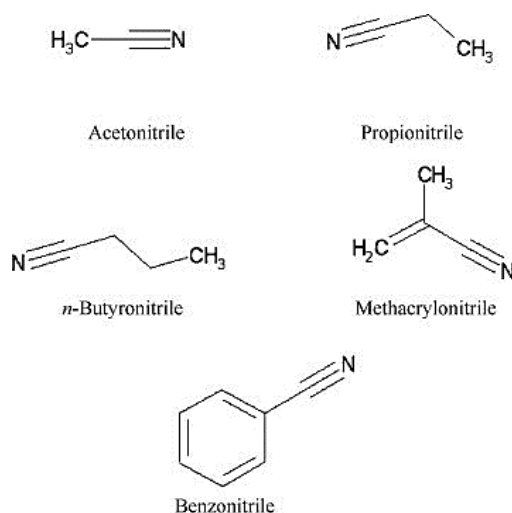
Las citocromo C oxidasas hepática y cerebral fueron inhibidas significativamente y de manera correspondiente a sus niveles de cianuro. No se observó inhibición significativa in vitro. Sólo el acrilonitrilo fue capaz de reducir los niveles de glutatión en los tejidos.

Con esto se vio que la toxicidad expresada por los nitrilos alifáticos depende no sólo de la liberación de cianuro, sino también de su grado de insaturación. Con los nitrilos aromáticos insaturados, la liberación de cianuro desempeña un papel mínimo en la toxicidad.

4. Evaluación de la actividad genotóxica de diferentes nitrilos (acetonitrilo, propionitrilo, metacrilonitrilo, butironitrilo y benzonitrilo)¹¹.

Se han realizado investigaciones comparativas para evaluar la actividad genotóxica de cinco nitrilos mediante dos ensayos a corto plazo, el ensayo de Ames modificado y el ensayo del cometa.

La genotoxicidad es la capacidad relativa de un agente de ocasionar daño en el material genético, originando efectos biológicos adversos. El ensayo de Ames y el ensayo del cometa son dos procedimientos adecuados realizados a corto plazo para proporcionar indicadores válidos sobre la actividad cancerígena de las sustancias¹².



La vía de exposición a los diferentes nitrilos alifáticos se produce por inhalación de vapores o aerosoles y/o por absorción cutánea. Como ya hemos visto, se demostró que algunos nitrilos alifáticos como el butironitrilo, el acetonitrilo y el propionitrilo ejercen su toxicidad a través de la liberación de cianuro, dando lugar a la inhibición de la citocromo C oxidasa hepática y se observaron también neoplasias relacionadas con metacrilonitrilo en la nariz e hígados de ratas.

Además, estudios con animales han indicado efectos adicionales de los nitrilos como envenenamiento, incluyendo desarrollo de úlceras duodenales, cambios nucleares en las neuronas y ganglios raquídeos, hiperemia, la hiperplasia tiroidea, disfunción neurogénica de la vejiga y la apoplejía adrenal.

Aunque la genotoxicidad del acetonitrilo ha sido investigada en numerosos estudios, en sistemas de prueba los resultados genotóxicos han sido inconsistentes. El metacrilonitrilo no mostró toxicidad y hubo datos limitados en el caso del benzonitrilo. La incoherencia sobre la genotoxicidad de estos cinco nitrilos es lo que llevó a evaluar cuantitativamente el alcance del daño que indujeron en el ADN.

En el ensayo se compararon los nitrilos por su capacidad para inducir mutaciones en el ensayo de Ames modificado, después de 30 minutos de incubación y la inducción de la genotoxicidad 1 hora después de incubación.

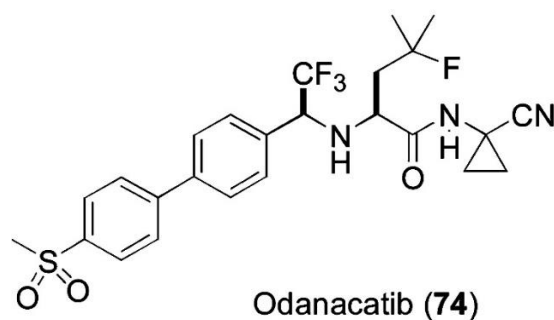
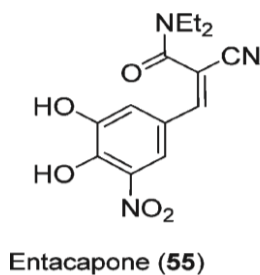
Los protocolos empleados para el ensayo de cometa y el ensayo de Ames modificado, incluyendo el tiempo de incubación, fueron los descritos por Chen et al.¹³ y Bajpayee et al.¹⁴ respectivamente. A pesar de que el tiempo de incubación en ambos ensayos fue diferente, la mutagenicidad no se observó usando el ensayo de Ames modificado después del tiempo de incubación prolongado hasta 1 h. Los cinco nitrilos fueron negativos en el ensayo de Ames modificado y positivos en el ensayo de cometa.

Se necesitarán estudios adicionales para establecer un vínculo entre las estructuras de estos nitrilos y las vías metabólicas que conducen a la genotoxicidad. A diferencia del ensayo del cometa, algunos métodos citogenéticos comunes tales como aberraciones cromosómicas, micronúcleos e intercambios de cromátidas hermanas detectan solamente la genotoxicidad de células proliferantes. Estos métodos se incluirán en las estrategias experimentales para explorar la viabilidad en la detección de la genotoxicidad de estos compuestos nitrilos en las células en proliferación. Estos diferentes puntos finales detectados a partir de estos métodos citogenéticos y cometas de ensayo nos proporcionan una pista para abordar el mecanismo genotóxico adicional de nitrilos en las diferentes fases de crecimiento de las células humanas.

Ejemplos de fármacos con grupo nitrilo

A continuación veremos algunos ejemplos de fármacos que en función de su estructura son: Arilnitrilos, α -arilacetnitrilos, alquenonitrilos, cianoguanidinas y α -aminonitrilos.

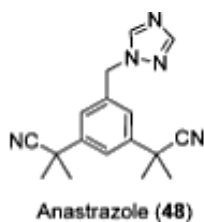
Dentro de los compuestos aromáticos con grupos nitrilo podemos encontrar inhibidores de fosfodiesterasa como la Milrinona (compuesto 19) usada para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca¹⁵. En el caso de los alquenos la Entacapona (compuesto 55), potente inhibidor de la catecol-O-metiltransferasa utilizada en la enfermedad del Parkinson¹⁶. Aminonitrilos como el Odanacatib, (compuesto 74) inhibidor de catepsina para el tratamiento de osteoporosis¹⁷.



Desarrollamos como ejemplo los arilacetone nitrilos, ya que tienen gran importancia y diversidad en cuanto a sus funciones en la clínica actual.

- Anastrozol: es un inhibidor de la aromatasas no esteroideo competitivo, administrado por vía oral para tratar el cáncer de mama dependiente de estrógenos.

Reduce los niveles circulantes de estradiol al inhibir la aromatasas, enzima que interviene en la síntesis de estrógenos a partir de precursores androgénicos¹⁸.

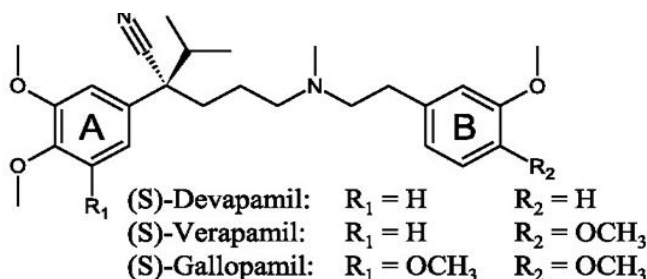


- Verapamilo: es un antagonista del canal de calcio, se usa como agente antiarrítmico en el tratamiento de la angina de pecho e HTA¹⁹.

Relaja los vasos sanguíneos para que el corazón no tenga que bombear tan fuerte, a la vez aumenta el suministro de sangre y oxígeno al corazón, de esta forma, disminuye el dolor en el pecho.

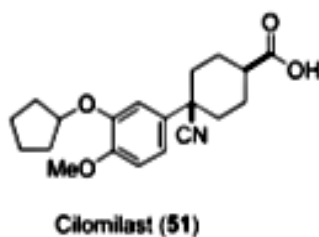
- Galopamilo: es un metoxiderivado del verapamilo, y tiene una potencia 10 veces mayor.

- Devapamilo: el efecto inhibitorio en el aumento de calcio intracelular es similar al del verapamilo y galopamilo ²⁰.

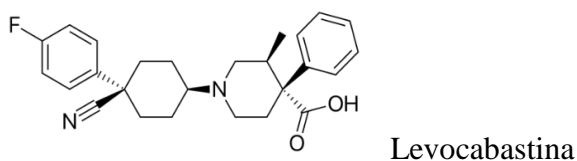


- Cilomilast: inhibidor potente y selectivo de la fosfodiesterasa (PDE4) que modula los procesos fisiopatológicos de importancia directa para la EPOC. Los inhibidores de la fosfodiesterasa 4 (PDE4) actúan por su relevancia directa para la EPOC. En estudios preclínicos, inhibiendo la degradación del segundo mensajero intracelular, el adenosinmonofosfato cíclico (cAMP) ²¹.

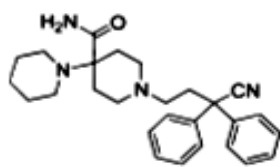
Se han realizado sobre este, ensayos clínicos de fase III ²², los cuales no han dado resultados muy buenos, por tanto, se han desarrollado análogos más rígidos, para optimizar la actividad y disminuir los efectos secundarios como diarrea y síntomas de cabeza.



- Levocabastina: antagonista selectivo de los receptores H1 de segunda generación, se usa para la conjuntivitis alérgica.

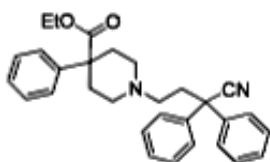


- Piritramida: opioide sintético, de igual potencia a la morfina, se usa en el dolor postoperatorio



Pirtramide (53)

- Difenoxilato: para diarreas de gran intensidad. Se suele asociar a la atropina lo que da lugar a la inhibición de la motilidad y la propulsión excesiva del tubo digestivo, aumentando así, el tono de los esfínteres y mejorando la absorción de los líquidos



Diphenozvlate (54)

Conclusiones:

Teniendo en cuenta uno de los objetivos del trabajo, el hecho de que el grupo nitrilo tenga una presencia tan general en el diseño de nuevos fármacos se debe a que este puede comportarse de diversas formas: da lugar a interacciones polares, es un fuerte aceptor del enlace de hidrógeno, atractor electrónico, puede formar uniones covalentes reversibles o actuar como bioisómero de halógenos.

Existe la posibilidad de que los principios activos o sustancias que contienen grupos nitrilos en su estructura den lugar a toxicidad, por ello a la hora de progresar en el desarrollo de fármacos se han descrito métodos para el estudio de esta y así decidir si seguir adelante o no.

Bibliografía:

1. Química Orgánica – John McMurry, 8º Ed. CENGAGE LEARNING, 2012.

2. Fraser F. Fleming, Lihua Yao, P.C. Ravikumar, Lee Funk, and Brian C. Shook. Nitrile-containing pharmaceuticals: Efficacious roles of the nitrile Pharmacophore. *J. Med. Chem.* 2010; 53: 7902-7917
3. Wang, Y.; Duraiswami, C.; Madauss, K. P.; Tran, T. B.; Williams, S. P.; Deng, S.-J.; Graybill, T. L.; Hammond, M.; Jones, D. G.; Grygielko, E. T.; Bray, J. D.; Thompson, S. K. 2-Amino-9-aryl-3-cyano-4-methyl-7-oxo-6,7,8,9-tetrahydropyrido[2',3':4,5]thieno[2,3-b]pyridine derivatives as selective progesterone receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009; 19: 4916–4919.
4. A. Fensome; R. Bender; R. Chopra, J. Cohen, M. A. Collins; V. Hudak; K. Malakian, S. Lockhead, A. Olland, K. Svenson, E. A. Terefenko, R. J. Unwalla; J. M. Wilhelm, S. Wolfrom, Y. Zhu, Z. Zhang, P. Zhang, R. C. Winneker, J. Wrobel. Synthesis and Structure-Activity Relationship of Novel 6-Aryl-1,4-dihydrobenzo[*d*] [1, 3] oxazine-2-thiones as Progesterone Receptor Modulators Leading to the Potent and Selective Nonsteroidal Progesterone Receptor Agonist Tanaproget. *J. Med. Chem.* 2005; 48: 5092–5095.
5. Chen, Z. X.; Ma, W. Y.; Zhang, C. N. Stereoselective synthesis and anticancer activities of new podophyllotoxin derivatives: 4-β-cyano-4-deoxy-40-demethylepipodophyllotoxin and 4-β-carboxyl-4-deoxy-40-demethylepipodophyllotoxin. *Chin. Chem. Lett.* 2000; 11: 505–508.
6. Metzler, W. J.; Yanchunas, J.; Weigelt, C.; Kish, K.; Klei, H. E.; Xie, D.; Zhang, Y.; Corbett, M.; Tamura, J. K.; He, B.; Hamann, L. G.; Kirby, M. S.; Marcinkeviciene, J. Involvement of DPP-IV catalytic residues in enzyme-saxagliptin complex formation. *Protein Sci.* 2008, 17: 240–250.
7. The impact of acetonitrile on human health: Clinical and toxicological overview por João Cleverson Gasparetto; Thais Guimarães de Francisco; Francinete Ramos Campos. *Int J Child Health and Human Dev* 2012; 5 (3): 289-300.
8. MacFaul, P. A.; Morley, A. D., Crawford, J. J. A simple in vitro assay for assessing the reactivity of nitrile containing compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009; 19: 1136–1138.
9. Oballa, R. M.; Truchon, J.-F.; Bayly, C. I.; Chauret, N.; Day, S.; Crane, S. Berthelette, C. A generally applicable method for assessing the electrophilicity and reactivity of diverse nitrile containing compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007; 17: 998–1002.
10. A.E. Ahmed, M.Y. Farooqui, Comparative toxicities of aliphatic nitriles, *Toxicol. Lett.* 1982; 12: 157–163.
11. J.-C.; Hseu, Y. C.; Chen, C.-H.; Wang, S.-H. and Chen, S. C. Comparative investigations of genotoxic activity of five nitriles in the comet assay and the Ames test. *J. Hazard. Mater.* 2009; 169: 492–497.

12. Enrique Gadea Carrera. NTP 269: Cancerígenos, mutágenos y teratógenos: manipulación en el laboratorio. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo. Año 19+#
13. M. Bajpayee, A.K. Pandey, S. Zaidi, J. Musarrat, D. Parmar, N. Mathur, P.K. Seth, A. Dhawan, DNA damage and mutagenicity induced by endosulfan and its metabolites, *Environ. Mol. Mutagen.* 2006; 47: 682–692.
14. Paul Wilhelm Dierkes*, Verena Wende, Peter Hochstrate, Wolf-Ru'diger Schlue. L-type Ca channel antagonists block voltage-dependent Ca channels in identified leech Neurons. *Brain Research.* 2004; 1013: 159–167
15. Bayram, M.; De Luca, L.; Massie, M. B.; Gheorghide, M. Reassessment of dobutamine, dopamine, and milrinone in the management of acute heart failure syndromes. *Am. J. Cardiol.* 2005; 96: 47G – 58G.
16. (a) Lees, A. J. Evidence-based efficacy comparison of tolcapone and entacapone as adjunctive therapy in Parkinson's disease. *CNS Neurosci. Ther.* 2008, 14, 83–93. (b) Gordin, A.; Brooks, D. J. Clinical pharmacology and therapeutic use of COMT inhibition in Parkinson's disease. *J. Neurol.* 2007; 254: IV/37–IV/48.
17. Gauthier, J. Y.; Chaurat, N.; Cromlish, W.; Desmarais, S.; Duong, Le T.; Falguyret, J.-P.; Kimmel, D. B.; Lamontagne, S.; Leger, S.; LeRiche, T.; Lia, C. S.; Masea, F.; McKay, D. J.; Nicoll-Griffith, D. A.; Oballa, R. M.; Palmerc, J. T.; Percival, M. D.; Riendeau, D.; Robichaud, J.; Rodan, G. A.; Rodan, S. B.; Seto, C.; Therien, M.; Truong, V. L.; Venuti, M. C.; Wesolowski, G.; Young, R. N.; Zamboni, R.; Black, W. C. The discovery of odanacatib (MK-0822), a selective inhibitor of cathepsin K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008; 18: 923–928
18. Oncología clínica – Juan J. Cruz Hernández, César A. Rodríguez Sánchez, Elvira del Barco Morillo. 5º edición
19. P. W. Dierkes, V. Wende, P. Hochstrate, W. D. Schlue. L-type Ca channel antagonists block voltage-dependent Ca channels in identified leech Neurons. *Brain Research* 2004; 1013: 159-167.
20. R.C.K. Cheng, D.B. Tikhonov, and B.S. Zhorov. Structural Model for Phenylalkylamine Binding to L-type Calcium Channels. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (41): 28332–28342.
21. S. Rennard, Knobil, K. F. Rabe, A. Morris, N. Schachter, N. Locantore, W. G. Canonica, Y. Zhu and F. Barnhart. The Efficacy and Safety of Cilomilast in COPD. *Drugs* 2008; 68 Suppl. 2: 3-57
22. Julio Cortijo y Esteban J. Morcillo. Nuevos avances en medicamentos: Avances en el tratamiento de las enfermedades pulmonares. Monografía XV. Real Academia Nacional de Farmacia. 2004: 313-350.

