

EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ANTINOCICEPTIVA ENTRE RUTINA Y NAPROXENO UTILIZANDO ANÁLISIS ISOBOLOGRÁFICO

Rangel Velázquez Joceline Estefanía (1), Alonso Castro Ángel Josabad (2), Zapata Morales Juan Ramón (3), Orozco Castellanos Luis Manuel (4)

1 [Lic. Químico Farmacéutico Biólogo] | [je.rangelvelazquez@ugto.mx]

2 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [angeljosabad@ugto.mx]

3 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [juan.zapata@ugto.mx]

4 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [orozcoz@hotmail.com]

Resumen

El uso de combinaciones farmacológicas entre analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y opioides puede traer consigo una mayor actividad analgésica y menores efectos colaterales. El naproxeno, un fármaco tipo AINE, es ampliamente utilizado en la terapéutica del dolor. Sin embargo, tiene graves efectos en el sistema gastrointestinal. La rutina es un flavonoide que posee diversas propiedades farmacológicas, entre ellas las antinociceptivas y antiinflamatorias.

La actividad antinociceptiva de rutina y naproxeno, administrados vía oral por separado y en combinación, fue evaluada mediante el test de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético. El tipo de combinación farmacológica fue evaluada mediante análisis isobolográfico. Rutina y naproxeno mostraron un efecto antinociceptivo de 80.42 ± 6.47 % y 87.71 ± 0.82 %, respectivamente. La combinación de ambos fármacos resultó en un índice de interacción menor a 1, lo cual indica un sinergismo tipo potenciación. La combinación de rutina y naproxeno mostró un buen efecto antinociceptivo. Por lo cual, esta nueva combinación de fármacos se puede considerar como una nueva alternativa a la terapéutica del dolor.

Abstract

The use of drug combinations between nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) and opioids may bring greater analgesic activity and fewer side effects. Naproxen, an NSAID type drug, is widely used in the therapy of pain. However, it has serious effects on the gastrointestinal system. Rutin is a flavonoid that has several pharmacological properties, including antinociceptive and anti-inflammatory.

Antinociceptive activity rutin and naproxen orally administered separately and in combination, was assessed by the test of writhes induced by acetic acid. The type of drug combination was evaluated by isobolographic analysis. Rutin and naproxen showed an antinociceptive effect of $80.42 \pm 6.47\%$ and $87.71 \pm 0.82\%$, respectively. The combination of both drugs resulted in a rate less than 1 interaction, indicating a type potentiation synergism. The combination of rutin and naproxen showed good antinociceptive effect. Therefore, this new drug combination can be considered as a new alternative to pain therapy.

Palabras Clave

Nocicepción 1; Farmacodinamica 2; Isoblograma 3; Sinergismo 4; Potenciación 5

INTRODUCCIÓN

La Asociación Internacional del Dolor (IASP) ha definido al dolor como una experiencia sensorial subjetiva y emocional desagradable asociada con una lesión presente o potencial. [1]

Para tratar el dolor, principalmente se cuenta con dos tipos de fármacos, los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los opioides, sin embargo, con la finalidad de disminuir sus efectos adversos de éstos, se han realizado combinaciones de dichos fármacos (AINEs-Opioides) obteniéndose mayores beneficios a dosis menores y mejor cobertura del dolor, ya que al combinar fármacos analgésicos con diferentes mecanismo de acción se genera una interacción farmacológica a nivel farmacodinámico tipo sinergismo produciendo una potenciación o una aditividad en el efecto.[2]

El isoblograma es un método gráfico que nos permite analizar el tipo de interacción farmacodinámica en combinaciones analgésicas, mediante la evaluación de dosis equi-efectivas, estableciendo una línea de aditividad que surge del nivel de efecto determinado para cada fármaco individual. [3,4]

El naproxeno es un derivado del ácido propiónico, está indicado en el alivio de los síntomas y signos artritis reumatoide, artrosis, espondilitis anquilosante y dismenorrea. [5]. Su mecanismo de acción consiste la inhibición de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), responsable de la síntesis de prostaglandinas, a partir del ácido araquidónico, éstas participan en la regulación de la memoria, el sueño, la fiebre y el dolor. [6]

La rutina es un flavonoide disglucósido formado de quercetina y rutinosa, se encuentra ampliamente distribuido en plantas del género *Ruta*, *Rheum* y *Asparagus*, entre otros géneros, cítricos y frutas. Su principal fuente es *Ruta graveolens*, comúnmente conocida como ruda, en la medicina popular, los extractos de ruda han sido utilizados para el tratamiento del dolor e inflamación. [7]

Las actividades antinociceptiva y antiinflamatoria de rutina han sido documentadas por; Hernández y cols (2015) [8] determinaron el efecto antinociceptivo de rutina en el modelo de formalina, así como la intervención del sistema opioide en su mecanismo de acción, por su parte Lotankar y cols.

(2016) [9] evaluaron su actividad antinociceptiva mediante el modelo de contorsiones abdominales.

La combinación de rutina y naproxeno, administrados vía oral, dos fármacos de diferente naturaleza y farmacodinámica, es decir, tipo opioide y AINE respectivamente, generan una interacción de tipo sinérgica que puede traer beneficios al tratamiento del dolor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

En el estudio se utilizaron ratones machos de la cepa Balb/c de 4 a 6 semanas de edad con un peso entre 25-30 gramos, los cuales se mantuvieron en se mantuvieron en condiciones controladas de acuerdo a la norma mexicana NOM 062-ZOO-1999.

Actividad antinociceptiva

El modelo de nocicepción utilizado consiste en la inducción de un dolor visceral por estímulo a los órganos internos mediante el uso de ácido acético como sustancia algogénica.

Los animales en estudio reciben una inyección de ácido acético (AcH) 1% por vía intraperitoneal para inducir las contorsiones abdominales. Antes de recibir la inyección del ácido acético, los grupos en estudio reciben el tratamiento asignado: Rutina en dosis de 10 mg/Kg, 25 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg, y naproxeno en dosis de 10 mg/Kg, 50 mg/Kg, 100 mg/Kg, 150 mg/Kg y 250 mg/Kg.

Los animales son colocados en cilindros transparentes de acrílico después de la inyección intraperitoneal de ácido acético, para observar y contar el número de contorsiones abdominales durante los 30 min posteriores a la inyección.

El porcentaje de antinocicepción se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Antinocicepción} = \left(\frac{\text{No. Contorsiones de vehículo} - \text{No. Contorsiones de tratamiento}}{\text{No. Contorsiones de vehículo}} \right) * 100$$

Mediante regresión lineal se determinó la dosis efectiva 50 (DE₅₀) de cada fármaco para realizar las combinaciones.

Análisis isoblográfico

La interacción de rutina y naproxeno se efectuó mediante una administración oral de las combinaciones en diferentes proporciones, con base a la DE₅₀ determinada; 1Rut:1Npx, 1Rut:3Npx, 3Rut:1Npx, posteriormente se realizaron diluciones seriadas 1:2, 1:4, 1:8, de cada proporción.

La magnitud de la interacción se determina por medio del índice de interacción. Los valores cercanos a 1 indican una interacción tipo aditiva, mientras que valores más grandes que 1 implican una interacción antagónica y valores menores que 1 indican una potenciación. [10]

$$\gamma = DE_{50 \text{ experimental}} / DE_{50 \text{ teórica}}$$

Análisis estadístico

Los datos se presentan como la media ± EEM (error estándar de la media). El análisis se realizó empleando ANOVA de una vía seguida de la prueba de Dunnett, mediante el programa sigma stat. La diferencia entre los tratamientos se estableció con $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto antinociceptivo de rutina y naproxeno se presentó en todas las dosis administradas, dicho efecto presenta una dependencia de la dosis, por lo tanto, naproxeno tuvo un porcentaje de antinocicepción de 87.71 ± 0.82 para la dosis de 250 mg/Kg (Figura 1) mientras el de rutina fue de 80.42 ± 4.67 para una dosis de 100 mg/Kg. (Figura 1)

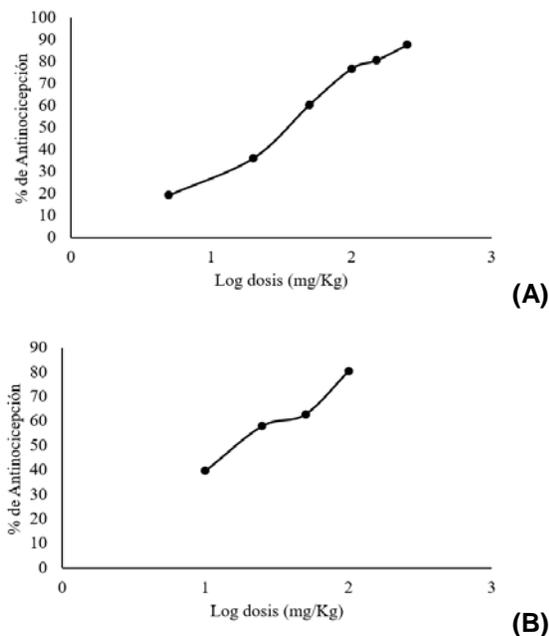


Figura 1: Actividad antinociceptiva de (A) Naproxeno, (B) rutina, comparándolos con el vehículo. Los tratamientos presentan $*p < 0.05$, por lo que son estadísticamente diferentes.

La DE₅₀ determinada para naproxeno fue de 30.05 mg/Kg, al ser comparada con reportada por Padi y cols (2004) [11] es muy similar (30.3 mg/Kg). En el caso de rutina se determinó una DE₅₀ de 18.10 mg/Kg, sin embargo, no se reportó dicha dosis en el modelo de contorsiones abdominales. De acuerdo a los resultados obtenidos se determinaron las DE₅₀ teóricas de cada una de las combinaciones realizadas

Las diferentes proporciones de las combinaciones de rutina y naproxeno, al igual que sus respectivas diluciones, presentaron actividad antinociceptiva, los porcentajes de máxima antinocicepción determinados para las tres proporciones fueron: 1Rut:1Npx 77.21 ± 5.73 , 1Rut:3Npx 69.49 ± 2.38 y 3Rut:1Npx presentó 71.32 ± 1.51 . (Figura 2).

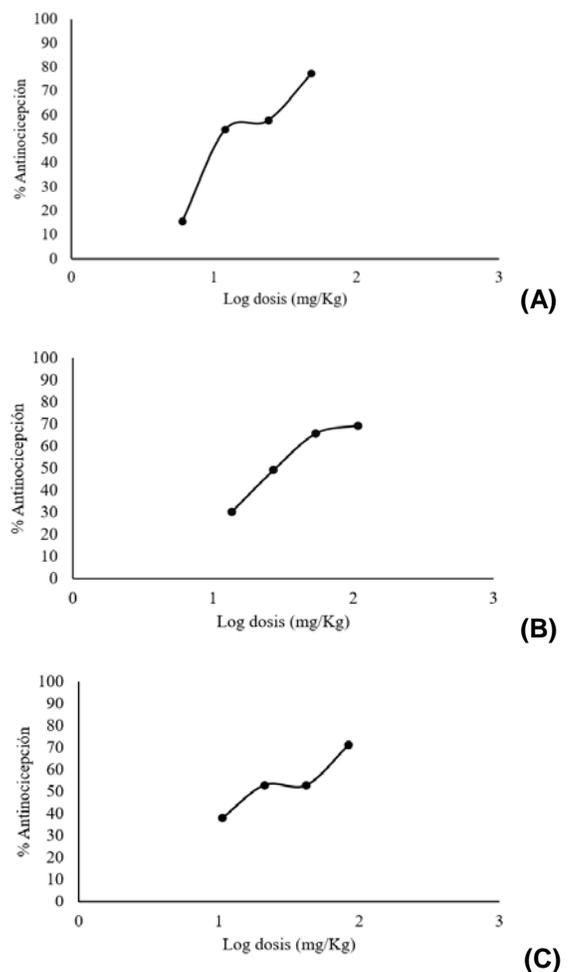


Figura 2. Actividad antinociceptiva de las combinaciones rutina-naproxeno en las distintas proporciones (A) 1Rut:1Npx, (B) 1Rut:3Npx, (C) 3Rut:1Npx, comparándolos con el vehículo. Los tratamientos presentan $*p < 0.05$, por lo que son estadísticamente diferentes.

En la interpretación de los isoblogramas, las barras horizontales y verticales indican el error de la media (EEM), la línea oblicua entre los ejes X e Y representan el efecto aditivo, el punto medio (T) indica el valor de la DE₅₀ teórica y el punto (E) indica el valor experimental de la DE₅₀.

En el análisis isoblográfico las tres proporciones de rutina-naproxeno, presentan el mismo comportamiento, es decir, el valor experimental de la DE₅₀ se encuentra por debajo de la línea de adición, por lo que es significativamente diferente al efecto teórico de la DE₅₀. (Figura 3)

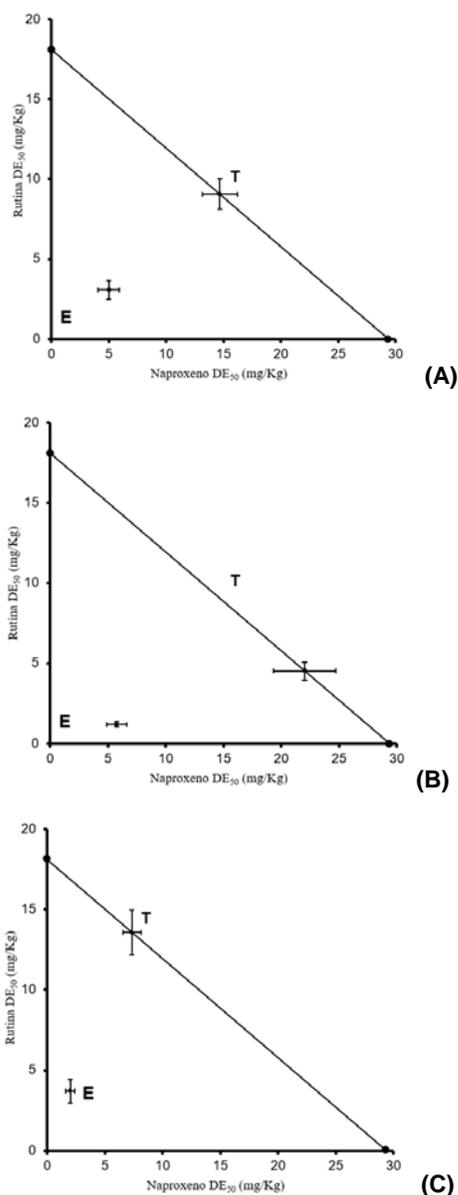


Figura 3. Isoblogramas de las combinaciones rutina-naproxeno en las distintas proporciones(A) 1Rut:1Npx, (B) 1Rut:3Npx, (C) 3Rut:1Npx.

TABLA I. Valores de la DE₅₀ teóricos (Z_{add}) y experimentales (Z_{exp}) e índice de interacción para las diferentes proporciones en combinación de rutina (Rut) y naproxeno (Npx).

	Combinación		
	1Rut:1Npx	1Rut:3Npx	3Rut:1Npx
Z _{add} (mg/kg)	23.74±2.48	26.55±3.27	20.91±2.16
Z _{exp} (mg/kg)	8.06±0.08*	6.94±0.07*	5.70±0.09*
Índice de interacción	0.34	0.26	0.27

*P<0.05 Z_{add} versus Z_{exp}, por el t-test de Student.

De acuerdo a los criterios de evaluación al determinarse el valor del índice de interacción menor a 1, nos indica un interacción sinérgica de potenciación.

En el test de contorsiones abdominales, es la representación de un dolor visceral por estimulación de órganos internos con una sustancia algogénica, este tipo de dolor tiene implicaciones clínicas importantes, sin embargo la mayoría de las investigaciones tiene como objetivo el estudio del dolor somático.

Rutina y naproxeno administrados por separado demostraron tener una alta actividad antinociceptiva así mismo la combinación de rutina y naproxeno en las tres proporciones utilizadas (1:1, 1:3 y 3:1), y sus respectivas diluciones presentan dicha actividad.

El análisis isoblográfico nos revela la presencia de un sinergismo entre rutina y naproxeno ya que la respuesta experimental, estadísticamente, es diferente a la respuesta teórica observada, además el índice de interacción nos habla de una potenciación del efecto. La presencia de sinergismos en las combinaciones analgésicas resulta benéfica ya que con ello se disminuyen las dosis de los fármacos y por consecuencia los efectos colaterales. A nivel farmacológico el sinergismo de potenciación presentado por la combinación de rutina y naproxeno ocurre debido a que cada fármaco administrado está contribuyendo con un mecanismo de acción diferente para que se presente el efecto antinociceptivo, es decir, por su parte el naproxeno actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas mientras que rutina actúa mediante el sistema opioidinérgico.

Las combinaciones de analgésicos ofrecen ventajas clínicas y económicas, rutina y naproxeno, administrados de manera conjunta vía oral, son una nueva alternativa para el tratamiento del dolor.

Como perspectiva del presente trabajo, se tiene planeado evaluar la combinación de rutina y naproxeno en un modelo de dolor tipo crónico además se evaluará la posible interacción a nivel farmacocinético de dicha combinación, se pretende realizar la búsqueda de una adecuada formulación y forma farmacéutica.

CONCLUSIONES

Rutina demuestra tener actividad antinociceptiva al ser administrada por vía oral en el modelo pre-clínico de dolor visceral empleado.

La combinación entre rutina y naproxeno por ser fármacos de diferente naturaleza y con una farmacodinamia distinta presentan una interacción sinérgica de tipo potenciación, lo cual trae consigo beneficios para la terapéutica del dolor.

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis se llevó a cabo con fondos del proyecto de Investigadores Jóvenes 2016 convenio 90/2016 UG (otorgado al Dr. Ángel Josabad Alonso Castro) y el proyecto de apoyo a la incorporación de nuevos PTC UGTO-PTC-507, DSA/103.5/15/10902 por el Programa para el Desarrollo Profesional Docente (PRODEP) y de CONACYT 257872 (Investigación Científica Básica 2015) (otorgados al Dr. Juan Ramón Zapata Morales).

Al Sr. Juan Pedro Galván Chía por su apoyo técnico en el desarrollo de este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] IASP, Pain terms; a current list with definitions and notes on usage. Pain Suppl., 1986, 3: S2155221.
- [2] RAFFA R.B, Pharmacology of oral combination analgesics; rational therapy of pain, J. Clinical pharmacy and therapeutics 2001, 26:257-264
- [3] TALLARIDA R.J, Drug synergism; its detection and applications, j pharmacol exp the, 2001, 298:865-872

- [4] POZOS G.A.J, AGUIRRE B.P, ARELLANO G.A, CASTAÑEDA H.G, HOYO V.D, PEREZ U.J, Isobolographic analysis of the dual site synergism in the antinociceptive response of tramadol in the formalin test in rats, life sci 2006, 79:2275-2282
- [5] KATZUNG B.G, MASTERS S.B, TREVOR A.J, Farmacología básica y clínica, McGrawHill-Lange, 11 edición, Cap 31, 531-553, Cap. 36. 641-643
- [6] VELAZQUEZ P.L, ET. AL. Farmacología básica y clínica, Medica panamericana, 18 edición, 2008, Cap. 12, 213-228, Cap. 31, 513-537
- GANESHPURKAR A., SALUJA K.A, The pharmacological potential of rutin, Saudi pharmaceutical journal, 2016 Review.
- [7] HERNANDEZ L.A, FERNANEZ G.A, GONZALEZ T.M.E, Rutin antinociception involves opioidergic mechanism and descending modulation of ventrolateral periaqueductal grey matter in rats, European Journal of Pain, 2015
- [8] LOTANKAR AR, WANKHEDE S, SHARMA BJ, MOMIN, JA. Anti-stress activity of flavonoids rutin and quercetin isolated from the leaves of ficus benghalensis, International journal of pharmacy & pharmaceutical research, 2016, 5(4) 5-19
- [9] ISIODIA E.M.A, ZAPATA M.J.R, CASTAÑEDA S.D.I, DE LA ROSA C.M, ARAGON MOH, Synergism between tramadol and parecoxib in the orofacial formalin test, Drug Dev. Res., 2015,
- [10] PADI S.V.S, NAVEEN K.J, AMARJIT S, SHRINIVAS K.K, Isobolographic analysis of interaction between cyclooxygenase inhibitors and tramadol in acetic-induced writhing in mice, progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry, 2004, 28:641-649