

## EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ANALGÉSICA ENTRE NAPROXENO Y KAEMPFERITRINA

Nambo Arcos, Mónica Esther(1), Muñoz Martínez, Gloria Sarahí (2), Hernández Santiago Andrea Guadalupe (3). Zapata Morales, Juan Ramón(4), Alonso Castro, Ángel Josabad (5) Ruiz Padilla, Alan Joel (6)

1 [Lic. en Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato] | [m.e.nambo.arcos@gmail.com]

2 [Lic. en Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato] | [sarah\_i26@hotmail.com]

3 [Lic. en Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato] | ag.hernandezsantiago@ugto.mx]

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

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

6 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [alan.ruiz@ugto.mx]

### Resumen

La inflamación es un mecanismo de defensa inmunológica que puede ser disparado en respuesta a distintos tipos de daño, el cual usualmente conlleva a la activación de nociceptores a través de mediadores químicos que provocan efectos percibidos como dolor e inflamación; sin embargo éstos pueden convertirse en patologías por sí mismos. El naproxeno es uno de los analgésicos de más amplio uso para dolores de naturaleza músculo-esquelética, sin embargo a altas dosis conlleva un significativo riesgo de presentar reacciones adversas. En el presente trabajo se ha evaluado el efecto analgésico de naproxeno y Kaempferitina, otro fármaco con actividad antinociceptiva, tanto de manera individual como en distintas combinaciones realizadas conforme a la  $DE_{50}$  obtenida para cada fármaco por separado en el modelo de inducción de dolor por formalina en ratones. El análisis isoblográfico de los resultados concluye que la administración conjunta de naproxeno y Kaempferitina presenta una interacción sinérgica de potenciación.

### Abstract

Inflammation is an immunological defense mechanism what can be shooted in response to several types of damages, usually entails activation of nociceptors mediated by chemical agents whose effects are perceived as pain and inflammation; nevertheless, those can turn in pathologies by themselves. Naproxen is one of the analgesics more widely used for muscle-skeletal pain, netherless high doses entails significant risk of adverse reactions. In this present article we evaluated the analgesic effect of naproxen and kaempferitrin, another drug with demonstrated antinociceptive activity, both individually and in different combinations realized by the  $ED_{50}$  obtained for each drug individually in the pain induction model by formalin in mice. The isoblographic analysis of results concludes that the joint administration of naproxen and kaempferitrin presents a synergistic effect of potentiation.

### Palabras Clave

Nocicepción; dolor; naproxeno, Kaempferitina; sinergismo.

## INTRODUCCIÓN

La inflamación es un mecanismo de defensa inmunológica que se origina en respuesta a distintos tipos de daño, como lesiones mecánicas, quemaduras e infecciones. Usualmente, el daño al tejido conlleva a la activación de nociceptores a través de la liberación de mediadores químicos que incluyen ciertos aminoácidos, péptidos, lípidos, citosinas, entre otras, cuyos efectos son percibidos como dolor e inflamación [1]. El dolor forma parte de los sistemas que tiene el organismo para mantener la homeostasis. A pesar de que en principio tiene como objeto una función protectora, el dolor puede convertirse por sí mismo en uno de los síntomas que más agravan a los pacientes.

El naproxeno es un AINE altamente usado en el tratamiento del dolor leve o moderado con potente acción anti-inflamatoria, especialmente de origen osteomuscular en padecimientos tales como artritis reumatoide, osteoartritis y alteraciones músculo-esqueléticas agudas que cursen con dolor e inflamación [2].

Por otro lado, la Kaempferitrina, también conocida como lespenefril o kaempferol 3,7-dirhamnosido, es un flavonoide-7-o-glicósido, es decir, un compuesto fenólico unido a un carbohidrato en la posición del C7, ligeramente soluble en agua que ha sido aislado a partir de extractos de diversas plantas, tales como *Justicia spicigera*, *Hedyotis verticillata*, *Onychium japonicum*, entre otros [3,4,5]. Se ha reportado que Kaempferitrina presenta efecto antinociceptivo, sin demostrarse aún por completo su mecanismo de acción.

Para el tratamiento del dolor también se utiliza la administración simultánea de dos o más fármacos y así modificar el efecto generado por ellos, es decir, puede haber una disminución en la intensidad del efecto, antagonismo farmacológico, o un aumento en la magnitud del mismo, sinergismo farmacológico [6].

El presente trabajo tuvo como objetivo principal la determinación de la interacción analgésica entre Naproxeno y Kaempferitrina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos

- Naproxeno sódico (98.0-102.0%) y Kaempferitrina ( $\geq 97\%$ ) fueron adquiridos de Sigma Aldrich.

### Animales de experimentación

Para la realización del experimento *in vivo* se emplearon ratones de la cepa Balb-C con un peso entre 25 y 30 g obtenidos del bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato. Los ratones se mantuvieron a temperatura controlada (25°C) con ciclos de luz-oscuridad de 12 x 12 hrs con acceso libre a alimento y agua. Los experimentos se realizaron acorde a la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) y lo estipulado por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) (Zimmerman, 1983).

### Evaluación de la interacción analgésica

Para la evaluación del efecto analgésica del naproxeno, kaempferitrina y la combinación se empleó el modelo de inducción de dolor con formalina. El modelo se llevó a cabo conforme a lo estipulado por Dubuisson y Dennis en 1977 [7], los ratones se dividieron en grupos de 6 para cada dosis de cada compuesto.

Los ratones utilizados se ambientaron en cilindros de acrílico por al menos 1 día antes del experimento. Los tratamientos se administraron por vía oral (v.o.) a las siguientes dosis: Naproxeno (50, 100, 150 y 250 mg/kg), kaempferitrina (1.875, 3.75, 7.5 y 15 mg/kg). El grupo control recibió solución salina. Transcurrida una hora desde la aplicación de los tratamientos se administró 30  $\mu$ l de formalina al 3 % en el espacio intraplantar de la pata derecha de los animales, posteriormente se colocaron en cilindros de acrílico con espejos para su observación. El efecto a cuantificar fue el tiempo de lamida total en dos periodos, correspondientes a las dos distintas fases de dolor, neurálgico (fase 1; 0-15 min) e inflamatorio (fase 2; 15-45 min).

Los resultados obtenidos de la segunda fase se emplearon para el cálculo de la dosis efectiva 50 (ED<sub>50</sub>) de los tratamientos con Naproxeno y Kaempferitrina mediante regresión lineal. Los datos se muestran como la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). Para el análisis estadístico de los datos se realizó un ANOVA y una prueba pos hoc de Dunnett. Se consideraron estadísticamente significativos valores de P < 0.05. Todos los cálculos se realizaron con el programa NCS8 (Hintze, 2012).

La determinación del porcentaje de antinocicepción para cada compuesto y/o combinación en sus diferentes dosis se realizó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ antinocicepción} = \frac{T. \text{ lamida sin fármaco} - T. \text{ lamida con fármaco}}{T. \text{ de lamida sin fármaco}} * 100$$

Finalmente se determinó la interacción de la combinación de los fármacos mediante análisis isoblográfico

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto analgésico de los fármacos administrados, se cuantificó en términos del efecto antinociceptivo de cada dosis en la fase 2 (figuras 1 y 2), que corresponde con la presencia de mediadores químicos como la bradicidina, histamina, prostaglandinas, serotonina, taquicidinas, leucotrienos, entre otros [8]. El efecto encontrado para naproxeno y kaempferitrina fue dosis dependiente, alcanzándose un mayor porcentaje de antinocicepción para las dosis altas de ambos fármacos (NPX 250 mg/kg-74.23% y KM 15 mg/kg 59.08%).

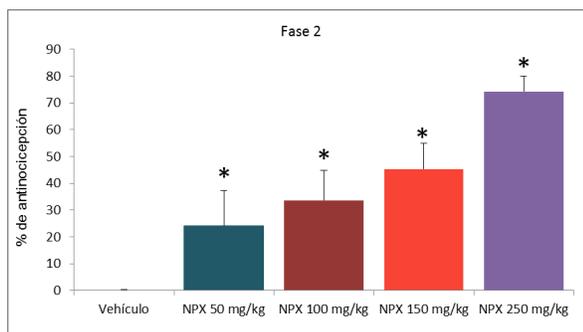


FIGURA 1: Gráfico que muestra el porcentaje de efecto antinociceptivo en fase 2 de Naproxeno (NPX) para distintas dosis en el modelo de formalina en ratones. Las barras representan el promedio  $\pm$  EEM (\*P < 0.05 vs vehículo).

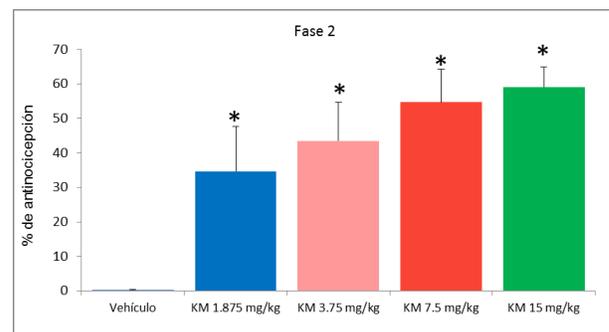
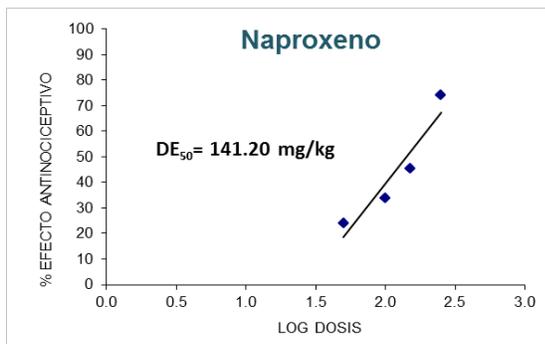
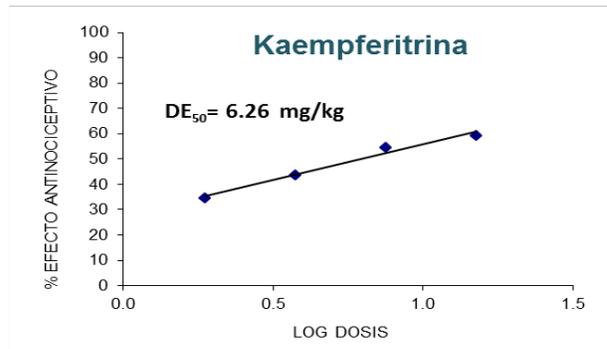


FIGURA 2: Gráfico que muestra el porcentaje de efecto antinociceptivo en fase 2 de Kaempferitrina (KM) para distintas dosis en el modelo de formalina en ratones. Las barras representan el promedio  $\pm$  EEM (\* P < 0.05 vs vehículo).

Las dosis efectivas 50 obtenidas por regresión lineal para naproxeno y kaempferitrina fueron  $DE_{50}=141.20$  mg/kg y  $DE_{50}=6.26$  mg/kg, respectivamente (figuras 3 y 4).



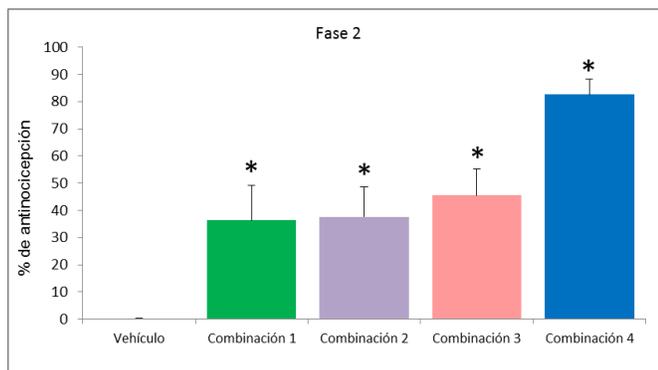
**FIGURA 3:** Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de Naproxeno en la fase de dolor inflamatorio empleando el modelo de formalina en ratones.



**FIGURA 4:** Curva dosis-respuesta del efecto antinociceptivo de Kaempferitrina en la fase de dolor inflamatorio empleando el modelo de formalina en ratones.

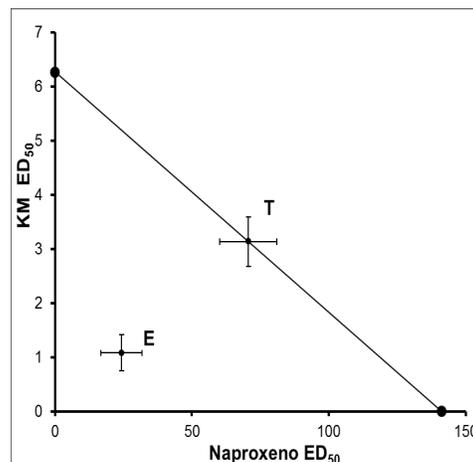
De las combinaciones tratadas cabe destacar la combinación 4 que presenta un porcentaje de antinocicepción superior al de las dosis más altas de sus fármacos por separado (figura 5), alcanzando un porcentaje del 82.64%, lo cual es un signo claro de la sinergia existente entre ambos fármacos.

El análisis isoblográfico de la co-administración de naproxeno y kaempferitrina demostró un significativo aumento del efecto antinociceptivo empleando dosis bajas de ambos fármacos respecto a lo obtenido para los mismos de forma individual a dosis mayores. Así mismo, es posible observar que existe gran diferencia entre la  $DE_{50}$  teórica (73.73 mg/kg) y la experimental (25.43 mg/kg), encontrándose esta última por debajo de la línea indicativa de efecto sinérgico de tipo aditivo, por lo cual es posible aseverar que la combinación naproxeno-kaempferitrina presenta una interacción farmacológica de sinergismo de potenciación (figura 6). El mecanismo no se ha esclarecido, pudiendo corresponder a dos escenarios: una interacción farmacodinámica donde los dos fármacos ejercen sus acciones en distintos sitios de una o más vías fisiológicas que convergen en el mismo efecto terapéutico o una interacción farmacocinética, donde algunos de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación pudiera verse modificado [9].



**naproxeno:kaempferitrina (N:K) en relación a sus correspondientes  $DE_{50}$  en el modelo de formalina en ratones. Combinación 1 (N1:K1), combinación 2 (N1/2:K1/2), combinación 3 (N1/4:K1/4) y combinación 4 (N1/8:K1/8)**

Las barras verticales representan el promedio  $\pm$  EEM (\*  $P < 0.05$  vs vehículo).



**FIGURA 6:** Isoblograma que describe la interacción sinérgica entre Naproxeno y kaempferitrina en el modelo de formalina en ratones. E= dosis experimental (25.43) y T= dosis teórica (73.73)

**KM:** Kaempferitrina

Los resultados obtenidos tienen relevancia en el sentido de la necesidad apremiante de la población que consume AINEs como primera elección en el dolor nociceptivo, especialmente cuando existe un componente inflamatorio, respecto al empleo de las dosis más bajas que sean suficientes para eliminar el dolor, debido a que a medida que la dosis aumenta el riesgo de presentar reacciones adversas se ve incrementado en la misma manera, principalmente cuando su uso es prolongado [10].

## CONCLUSIONES

La combinación farmacológica de Naproxeno y Kaempferitrina demostró una disminución de la nocicepción en el modelo de la formalina; además presentó una interacción sinérgica de tipo potenciación.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se llevó a cabo con fondos del proyecto de Investigación Científica Básica 2015 de CONACYT en su segundo año con número 257872 otorgados al Dr. Juan Ramón Zapata Morales. A la Universidad de Guanajuato y en particular a la Dirección de Apoyo a la Investigación y Posgrado por brindar la oportunidad a los autores de realizar esta instancia de investigación, así como la beca recibida a través del Programa “Veranos de Investigación 2018”. Al Sr. Juan Pedro Galván Chía, encargado del bioterio de la DCNE de la Universidad de Guanajuato por el apoyo prestado en el transcurso del desarrollo del proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] Ortega A., Roca A., Micó J.A. (2002) Modelos animales de dolor. Una visión crítica. Sociedad Española del Dolor, Vol. 9 (7), pp. 447-453
- [2] Ficha técnica Lundiran 250 mg Naproxeno. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios. Recuperado de [https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/54246/FT\\_54246.html#4-2-posolog-a-y-forma-de-administraci-n](https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/54246/FT_54246.html#4-2-posolog-a-y-forma-de-administraci-n) consultado:22/06/18
- [3] National Center for Biotechnology Information (2005).PubChemCompoundDatabase; Lespedin CID=5486199, Recuperado de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5486199> (21/06/ 2018).
- [4] Baqueiro P. I, Guerrero B J. (2014) Uses of *Justicia spicigera* in medicine and as a source of pigments. Functional Foods in Health and disease Vol.4 (9) pp. 401-414
- [5] Zapata-Morales, J., Alonso-Castro, A., Domínguez, F., CarranzaÁlvarez, C., Castellanos, L., Martínez-Medina, R. and Pérez-Urizar, J. (2016). Antinociceptive Activity of an Ethanol Extract of *Justicia spicigera*. Drug Development Research, 77(4), pp.180-186.
- [6] Jaramillo F., Cardona E.G, Rincón A. R. (2013) Farmacología general. (pp.218-222) Aguascalientes:Textosuniversitarios
- [7] Dubuisson, D. and Dennis, S. (1977). The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain, 4 (Supp C), pp.161-174.
- [8] Del Arco J. (2015) Curso básico sobre dolor. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. Elvier, Farmacia Comunitaria. Vol. 29 (1), pp. 36-43.
- [9]Op. Cit. Jaramillo
- [10] Op. Cit. Del Arco.