

Evaluación de la actividad antinociceptiva e interacción farmacológica del extracto acuoso de *Momordica charantia* con fármacos para el tratamiento del dolor

Alvarez Barajas María José¹, Díaz Villagómez Dulce Guadalupe², Guido Mendoza Angélica Elizabeth³, Hernández Ramírez Rolando Efraín⁴, López Ruiz Ximena⁵, Suarez León Luz Danna⁶, Zapata Morales Juan Ramón⁷

^{1,2,3,4,5,6} Lic. Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato

⁷Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato

mj.alvarezbarajas@ugto.mx¹

dg.diazvillagomez@ugto.mx²

ae.guidomendoza@ugto.mx³

re.hernandezramirez@ugto.mx⁴

x.lopezruiz@ugto.mx⁵

ld.suarezleon@ugto.mx⁶

juan.zapata@ugto.mx⁷

Resumen

Actualmente, el alivio al dolor es lo que más se busca en agentes farmacológicos, sin embargo, el tratamiento que suele usarse son los AINES, este tratamiento presenta efectos adversos conocidos como lo son los daños gastrointestinales, nefrotoxicidad y riesgo de abuso. Por lo que un analgésico seguro y efectivo es de suma importancia en la investigación actual. Es por ello que nos basamos en el uso de un extracto acuoso de *Momordica charantia* como agente analgésico, cuyo efecto antinociceptivo se evaluó con la prueba de formalina en ratones, junto con el uso de naproxeno a diferentes dosis para evaluar una posible interacción. El efecto antinociceptivo se evaluó durante las fases I y II de la prueba en diferentes grupos de ratones, donde el extracto de *M. charantia* supera el 20% de efecto en las dosis evaluadas, en comparación con el Naproxeno a 50 mg/Kg que no supera el 20% en la fase I. Mientras que el % de antinocicepción es dosis dependiente tanto en el extracto de *M. charantia* como en el naproxeno en la fase II. Finalmente se obtuvo una DE50 para *M. charantia* de 72.13 mg/kg. La administración oral de la combinación entre naproxeno y el extracto de *M. charantia* ocasiona una interacción de potenciación (sinergismo) en el efecto antinociceptivo en el modelo empleado por lo que puede resultar en una estrategia terapéutica mucho más efectiva para el tratamiento del dolor agudo, moderado a severo, resultando necesario la elaboración de más ensayos.

Palabras clave: dolor, AINEs, *Momordica charantia*, naproxeno, dosis efectiva 50 (DE₅₀), efecto antinociceptivo, fase I, fase II, isoblograma.

Abstract

Currently, pain relief is what is most sought in pharmacological agents, however the treatment that is usually used are NSAIDs, they present known adverse effects such as gastrointestinal damage, nephrotoxicity and risk of abuse. Therefore, a safe and effective pain reliever is of the utmost importance in current research. That is why we based ourselves on the use of an aqueous extract of *Momordica charantia* as an analgesic agent, whose antinociceptive effect was evaluated with the formalin test in mice, together with the use of naproxen at different doses to evaluate a possible interaction. The antinociceptive effect was evaluated during phases I and II of the test in different groups of mice, where the *M. charantia* extract exceeds 20% antinociceptive at the evaluated doses, compared to Naproxen at 50 mg/Kg which does not exceed 20% in phase I. While the % antinociceptivity is dose-dependent in both the *M. charantia* extract and naproxen in phase II. Finally, an DE50 for *M. charantia* of 72.13 mg/kg was obtained. Oral administration of the combination between naproxen and the extract of *M. charantia* causes a potentiation interaction (synergism) in the antinociceptive effect in the model used, so it may result in a much more effective therapeutic strategy for the treatment of acute, moderate to severe pain, making it necessary to carry out more trials.

Keywords: pain, NSAIDs *Momordica charantia*, naproxen, effective dose 50 (ED₅₀), antinociceptive effect, phase I, phase II, isoblogram.

Introducción

El dolor de acuerdo con la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor se define como una experiencia sensorial aversiva causada por una lesión real o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, desencadena un comportamiento aprendido de evitación y puede modificar comportamientos específicos de la especie, incluyendo los sociales.^[1] Desde esta definición se entiende a los modelos animales de dolor como un medio imprescindible para su estudio donde se valora a la especie animal la dimensión somática de la respuesta nociceptiva a un estímulo nocivo.^[2] En este caso para evaluar el dolor se llevó a cabo como modelo animal “La prueba del formol” diseñado por Dubuisson y Dennis en 1977 y revisado profundamente por Tjolsen y cols.^[3]

Los AINES son fármacos con una estructura química heterogénea que comparten actividad antipirética, antiinflamatoria y analgésica a través de su capacidad para inhibir las actividades de la cox-1 presente en diversos tejidos y que media reacciones fisiológicas, y la cox-2 presente en el tejido lesionado.^[4] Los AINE tradicionales incluyen la aspirina, el ibuprofeno, el naproxeno, entre otros.

En la medicina tradicional se han identificado el uso de plantas como medio alternativo para combatir heridas e inflamaciones causantes de dolor, entre ellas se encuentra *Momordica charantia* que pertenece a la familia *Cucurbitaceae* y generalmente se identifica como calabaza amarga o melón. *Momordica charantia* crece en zonas tropicales y subtropicales y se ha utilizado en la medicina popular en Pakistán, India, China y Sri Lanka durante un largo periodo de tiempo. Se ha descrito ampliamente que la planta tiene efectos antiinflamatorios y aún se estudia el posible efecto analgésico, estas propiedades medicinales se refieren a los frutos, especialmente bajo frutos maduros, semillas, hojas y raíces de la planta.^[5]

Las plantas medicinales se comportan como verdaderos fármacos ya que las sustancias químicas que las componen pueden tener una actividad biológica en humanos. Por esta razón, la administración conjunta con fármacos convencionales puede producir variaciones en la magnitud de su efecto.^[6]

Las combinaciones de diferentes AINEs con herbolaria medicinal pueden resultar en modificaciones del sistema ADME (Administración, Distribución, Metabolismo y Excreción) de cada fármaco, ya sea favoreciendo o dificultando uno o varios de sus procesos. La investigación de estas interacciones ayuda a la predicción de efectos secundarios de los fármacos y al aumento de efectividad de ciertas formulaciones farmacológicas.

Materiales y métodos

Reactivos

Extracto acuoso de *Momordica charantia*, naproxeno y formalina adquirida de Sigma Aldrich.

Animales

Los experimentos se realizaron de acuerdo con lo establecido en la NOM 062-ZOO1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio) y de acuerdo con las recomendaciones de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (Zimmerman, 1983). Se utilizaron ratones de cepa BALB/c de 4-6 semanas de edad con un peso de 25-30 gramos del bioterio de la Universidad de Guanajuato, los animales se mantuvieron en un ambiente con temperatura controlada bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 horas con alimento y agua adecuado.

Evaluación de la actividad antinociceptiva

La prueba de formalina se basa en un estímulo de dolor en la zona administrada con formalina al 3% el cual es un dolor continuo y similar a un dolor clínico.^[3,7]

Antes de la prueba, los ratones se dividieron en grupos según la dosis experimental a probar de extracto, naproxeno o extracto/naproxeno, se colocaron individualmente en cilindros de acrílico durante 30 minutos por 3 días seguidos como periodo de adaptación.

Una hora previa a la administración de formalina, a cuatro grupos experimentales se les administró de forma oral el extracto acuoso de *M. charantia* en dosis de 25, 50, 100 y 200 mg/kg. El naproxeno con las siguientes dosis: 10, 25, 50 y 100 mg/kg, fue administrado vía oral a otros cuatro grupos. A los últimos cuatro grupos se

les administró de manera oral una combinación del extracto acuoso de *M. charantia* con naproxeno con dosis de 6.1, 12.2, 24.4 y 48.8 mg/kg.

Para realizar la prueba de formalina, se inyectó subcutáneamente formalina al 3% en la superficie dorsal de la pata trasera derecha. Inmediatamente después de la inyección cada ratón se colocó en un cilindro de acrílico colocando un espejo por detrás del cilindro para tener una vista completa de todos los ángulos del ratón y su pata inyectada con formalina. La inyección de formalina resultó en una necesidad de lamidas de pata por parte de los ratones. El comportamiento del dolor y evaluación del efecto antinociceptivo fue monitoreado por un período de 60 minutos; el tiempo de lamidas de la pata inyectada se cuantificó en intervalos de 5 minutos comenzando en el tiempo 0. Se observó que la formalina produce una respuesta dolorosa en dos fases, en donde la fase I de corta duración debido a la activación de las fibras C comenzó inmediatamente después de la administración de formalina hasta 10 min después y la fase II dependiente de la reacción inflamatoria y cambios funciones en médula espinal inició a los 10 minutos y terminó hasta los 60 minutos del experimento.^[7]

Análisis de datos

Mediante la regresión lineal, utilizando el programa NCSS, se determinó el valor de la Dosis Efectiva 50 (DE₅₀). La prueba de Dunnett y el ANOVA fueron empleados para el análisis estadístico y los datos se presentan como el promedio ± error estándar de la media (EEM), considerando valores estadísticamente significativos de p<0.05.

Para estimar el efecto analgésico se calculó el % de antinocicepción por medio de la siguiente fórmula:

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

Los resultados del estudio de la combinación del extracto con el naproxeno fueron evaluados mediante un análisis isoblográfico.

Resultados y discusión

Con el propósito de determinar el tipo de interacción farmacológica entre el extracto acuoso de *Momordica charantia* y el naproxeno, uno de los AINEs más utilizados dentro de la farmacoterapia del dolor, se evaluó el efecto antinociceptivo primeramente del extracto de *M. charantia* y del naproxeno por separado, para subsecuentemente evaluar el efecto de la combinación, empleando el modelo de la formalina en ratones.

Evaluación del efecto antinociceptivo

Tanto la administración individual del naproxeno, así como del extracto de *M. charantia* y las combinaciones de ambos; como pretratamientos por vía oral 60 minutos antes del agente nociceptivo (formalina), ocasionó una disminución de la conducta bifásica de lamida/mordisqueo de la extremidad dañada del ratón.

Primeramente, el efecto antinociceptivo tanto del extracto de *M. charantia* como del naproxeno se evaluó empleando cuatro dosis diferentes, en las figuras 1 y 2 se puede observar el perfil típico del modelo, el cual comienza con un aumento nociceptivo en los primeros cinco minutos de evaluación, reflejado en el aumento de tiempo de lamida (fase I); seguido de una disminución del dolor (efecto antinociceptivo) en las concentraciones empleadas (fase II), se puede apreciar que tanto el extracto como el fármaco disminuyen de manera dosis dependiente la conducta nociceptiva.

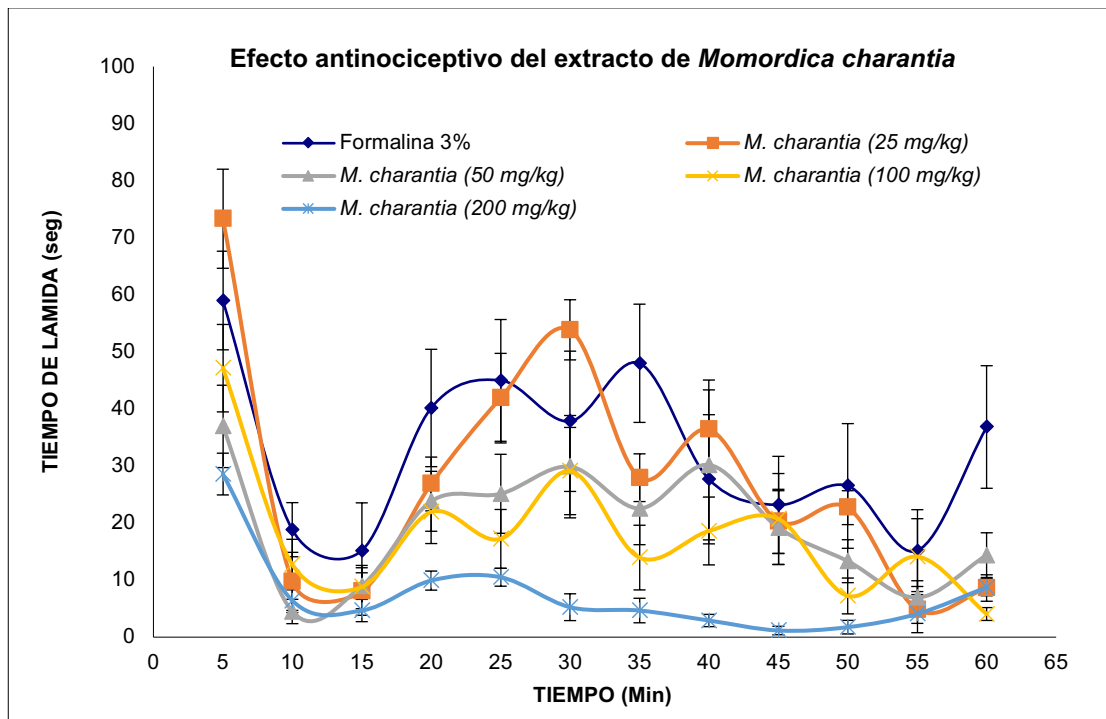


Figura 1. Curso temporal de la conducta nociceptiva del extracto acuoso de *Momordica charantia* en el modelo de formalina.

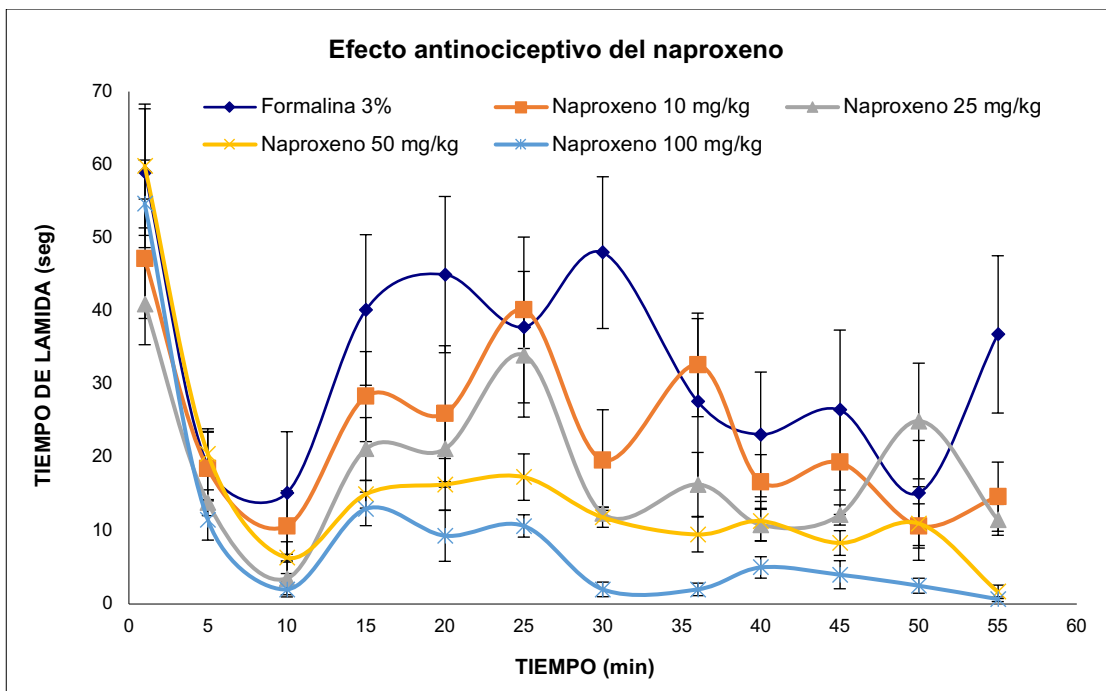


Figura 2. Curso temporal de la conducta nociceptiva del naproxeno en el modelo de formalina.

Tomando los resultados del tiempo de lamida en el modelo empleado, se calculó el porcentaje de antinocicepción para cada dosis en las fases I y II de manera independiente. Para el extracto, en la fase I (Figura 3), correspondiente a la activación de los nociceptores de la pata, las cuatro dosis empleadas del extracto de *M. charantia* mostraron un efecto antinociceptivo mayor al 20%, por su parte para el fármaco la

única dosis que no mostró un efecto antinociceptivo mayor al 20% fue la de 50 mg/Kg, la cual no superó el 10% lo que era de esperarse debido los AINEs como el naproxeno tienen efectos limitados en la primera fase de este tipo de pruebas (Figura 4).

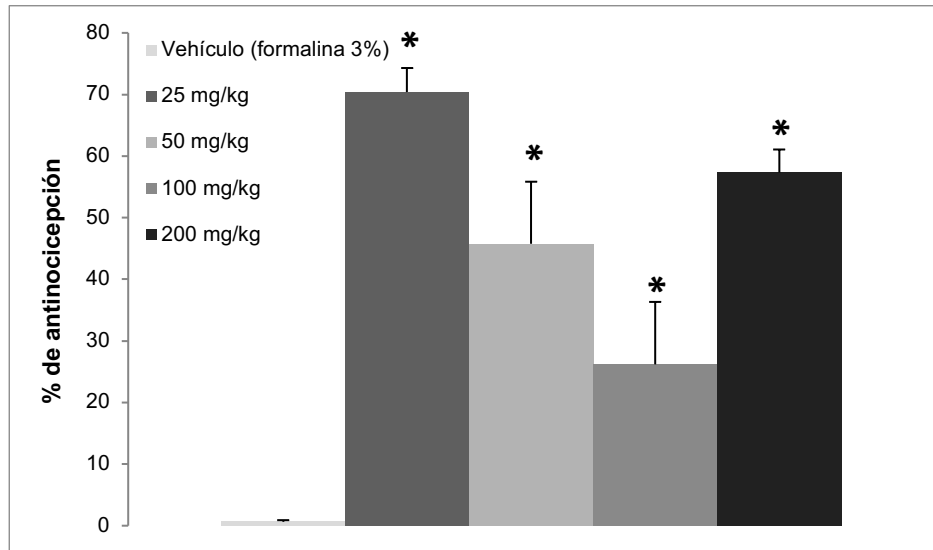


Figura 3. Porcentaje de antinocicepción en la fase I del extracto acuoso de *Momordica charantia* en el modelo de formalina. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; prueba de Dunnett).

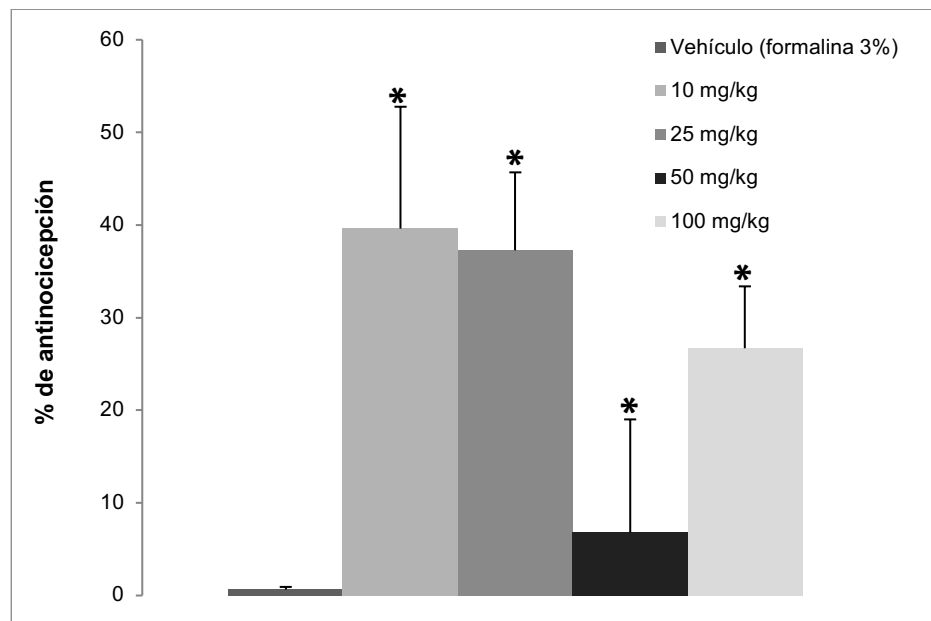


Figura 4. Porcentaje de antinocicepción en la fase I del naproxeno en el modelo de formalina. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; prueba de Dunnett).

Mientras tanto, en la fase II de dolor inflamatorio (fase de interés para este estudio) tanto las cuatro dosis del extracto (figura 5) así como del naproxeno (figura 6) mostraron disminución del dolor, como se puede observar en los gráficos el porcentaje de antinocicepción tuvo un comportamiento dosis dependiente.

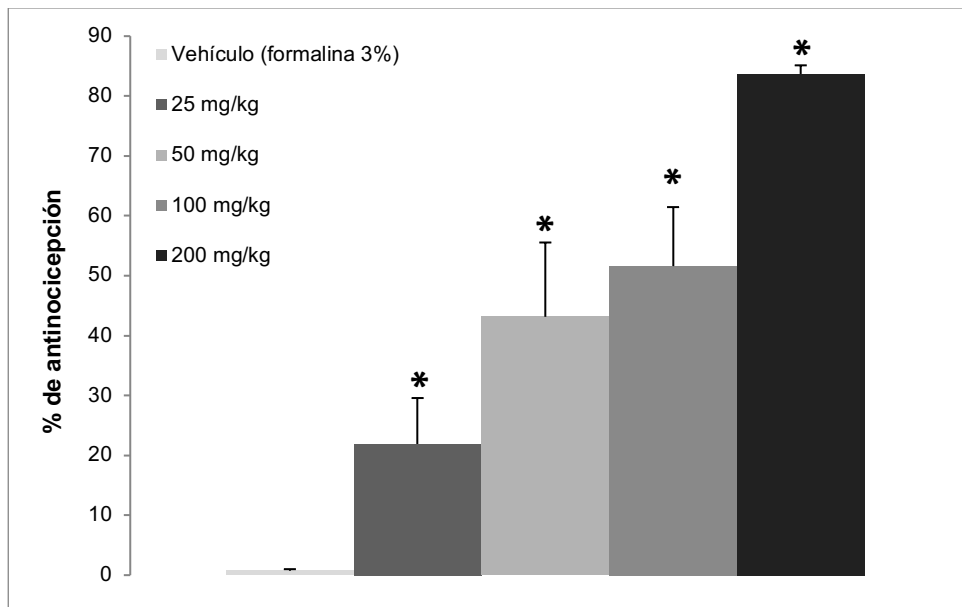


Figura 5. Porcentaje de antinocicepción en la fase II del extracto acuoso de *Momordica charantia* en el modelo de formalina. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; prueba de Dunnett).

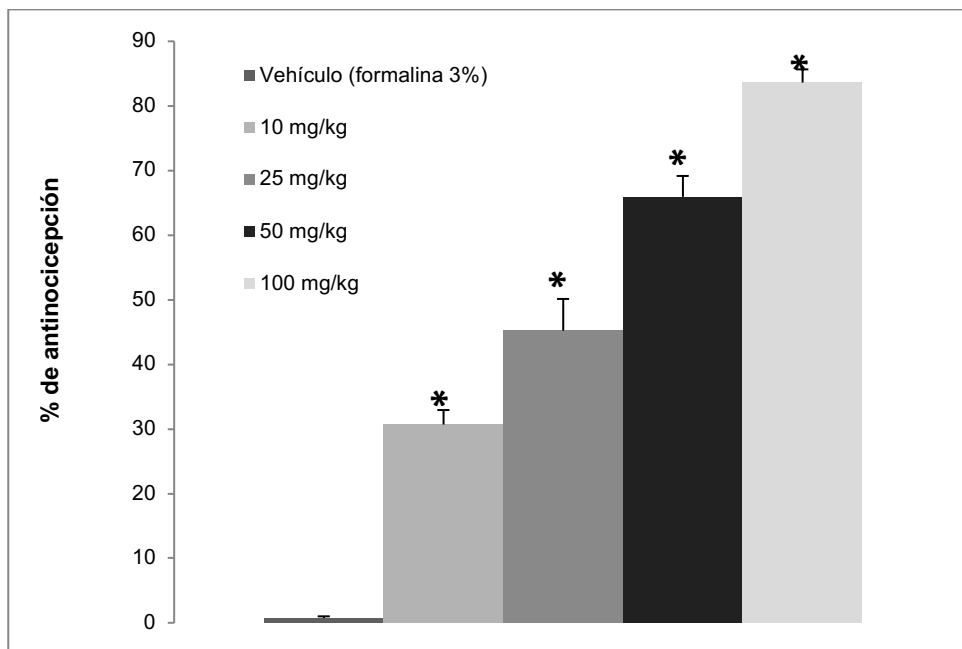


Figura 6. Porcentaje de antinocicepción en la fase II del naproxeno en el modelo de formalina. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; prueba de Dunnett).

Debido a la naturaleza del modelo empleado y a que como se mencionaba con anterioridad, los AINEs como el naproxeno tienen efectos limitados en la primera fase de esta prueba, solo se consideró el efecto tanto del extracto como del fármaco en la segunda fase para efectuar el análisis y determinar así los valores de la dosis efectiva 50 (DE_{50}). El método empleado para calcular la DE_{50} del extracto de *M. charantia* así como del naproxeno administrados individualmente indica que únicamente se deben utilizar los datos de % de efecto en función del logaritmo de las dosis que mejor se ajusten a una ecuación de una línea recta. En este sentido, para este caso se emplearon los datos de todas las dosis utilizadas. Así pues, al evaluar las curvas dosis-efecto del extracto (figura 7) y del fármaco (figura 8) se lograron estimar las DE_{50} , obteniendo un valor de 72.13 mg/kg para el extracto de *M. charantia* y de 25.47 mg/kg para el naproxeno.

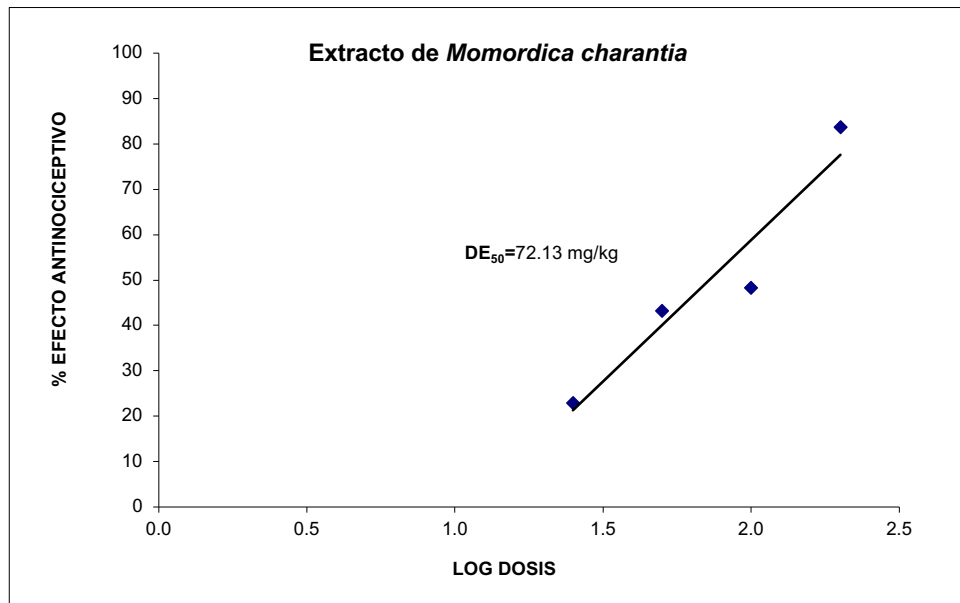


Figura 7. Curva dosis-efecto en la fase II del extracto de *M. charantia* en el modelo de formalina aplicado en ratones.

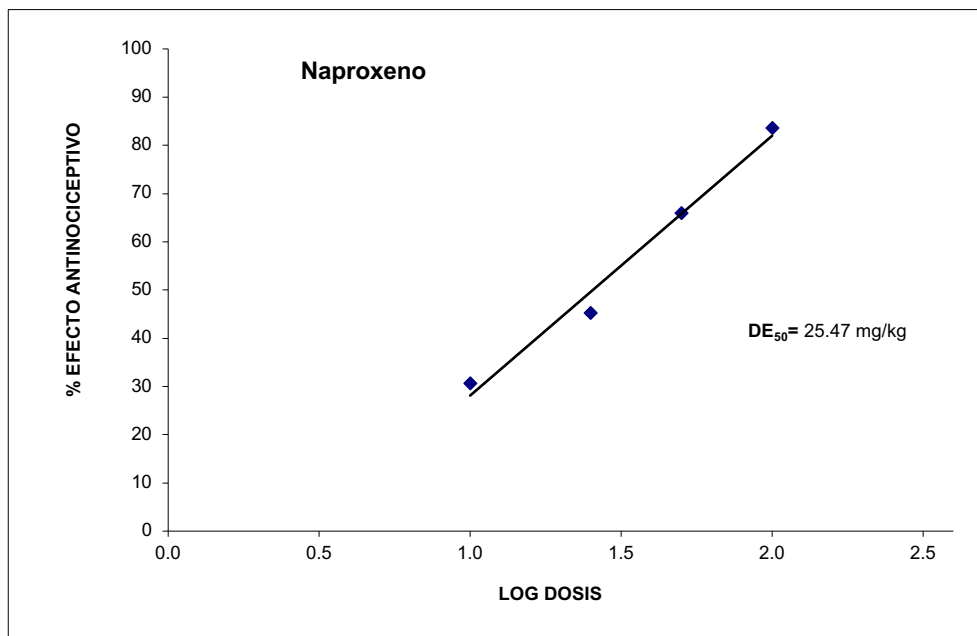


Figura 8. Curva dosis-efecto en la fase II del naproxeno en el modelo de formalina aplicado en ratones.

Interacción analgésica y análisis isoblográfico

Posteriormente, se llevó a cabo la evaluación antinociceptiva de la combinación entre el naproxeno y el extracto de *M. charantia* a través de la administración de cuatro dosis preparadas con diferentes proporciones de ambas sustancias (tabla 1). Para llegar a estos valores fue necesario calcular primero la DE₅₀ teórica de la combinación tomando como referencia los valores la dosis efectiva 50 calculada de forma independiente tanto para el tratamiento farmacológico (naproxeno) como el extracto, el valor obtenido en este caso fue de 48.80 mg/kg (de los cuales el extracto natural aporta aproximadamente el 73.9%, mientras que el naproxeno aporta el 26.1%). Las dosis de la combinación se prepararon manteniendo las proporciones antes mencionadas, tomando como la dosis más alta de prueba el valor estimado para la DE₅₀ teórica.

Tabla 1. Diluciones en proporciones fijas de la combinación de naproxeno y extracto de *M. charantia* preparadas a partir de los valores individuales de las DE_{50} .

Proporción en la combinación	Naproxeno (mg/kg)	Extracto de <i>M. charantia</i> (mg/kg)	Dosis total combinación (mg/kg)
DE_{50} (NAP) + DE_{50} (EXT)/2	12.7	36.1	48.8
DE_{50} (NAP) + DE_{50} (EXT)/4	6.4	18.0	24.4
DE_{50} (NAP) + DE_{50} (EXT)/8	3.2	9.0	12.2
DE_{50} (NAP) + DE_{50} (EXT)/16	1.6	4.5	6.1

NAP=Naproxeno; EXT=Extracto de *Momordica charantia*

La figura 9 muestra el comportamiento de las combinaciones evaluadas de la combinación con respecto a la disminución del dolor, se observa que efectivamente existe una acción antinociceptiva en las cuatro dosis evaluadas.

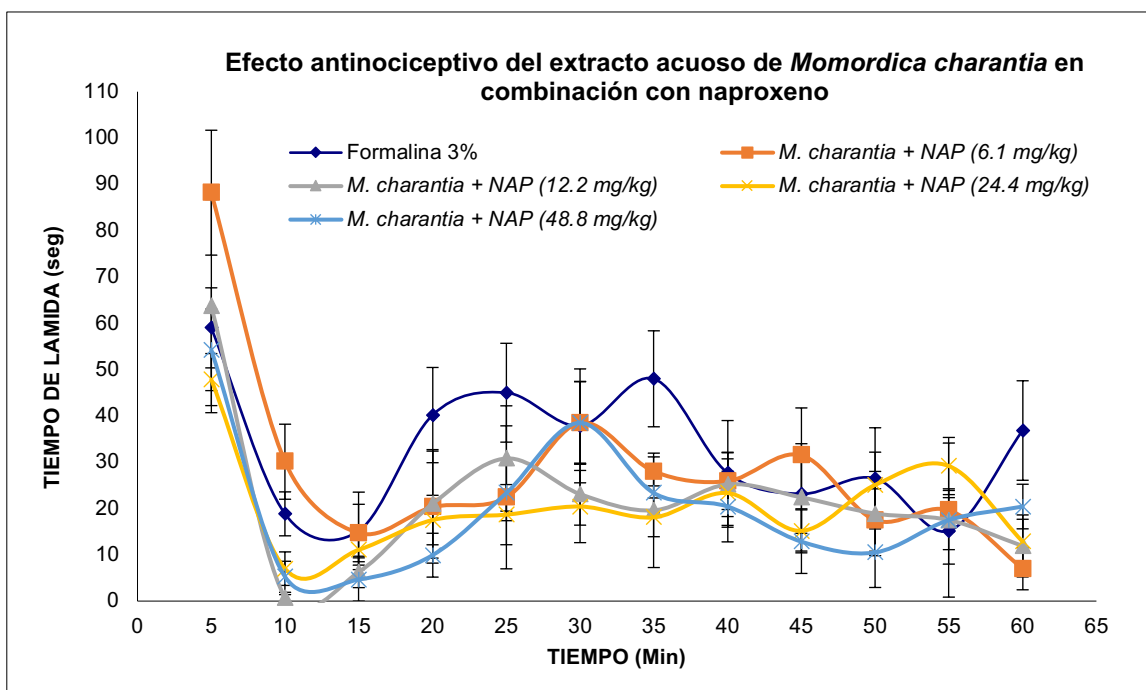


Figura 9. Curso temporal de la conducta nociceptiva de la combinación del extracto acuoso de *Momordica charantia* y naproxeno en el modelo de formalina.

Los gráficos de porcentaje de efecto antinociceptivo de las combinaciones en ambas fases muestran una clara disminución del dolor; en la fase I (figura 10) las cuatro concentraciones de la combinación mostraron valores mayores al 20%. Por su parte, en la fase II el porcentaje de antinocicepción demostró ser dosis-dependiente en el modelo de formalina, presentándose los valores de efecto antinociceptivo de 41.1, 41.7, 49.19 y 57.17% (figura 11).

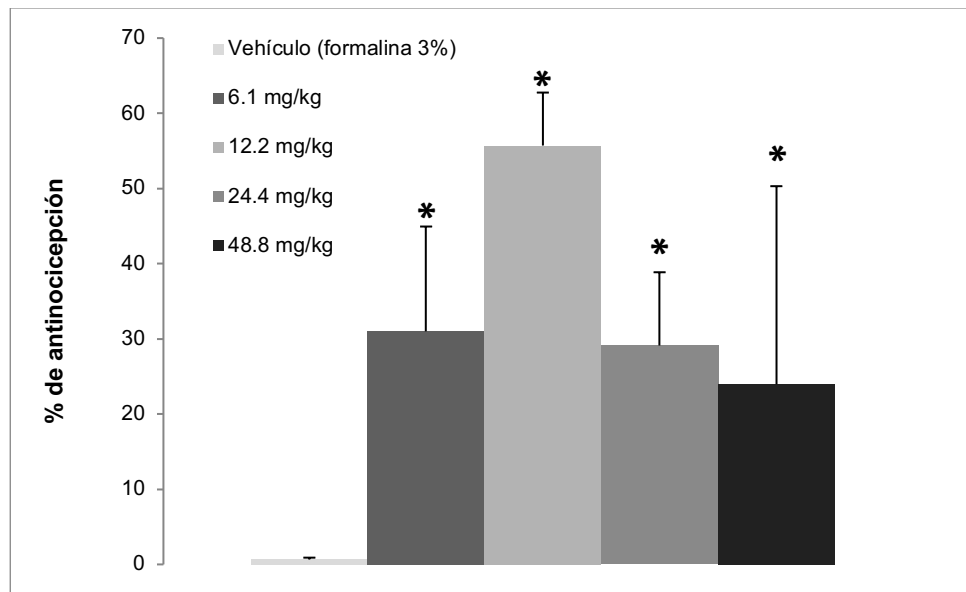


Figura 10. Porcentaje de antinocicepción en la fase I de la combinación del extracto acuoso de *Momordica charantia* y naproxeno en el modelo de formalina. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; prueba de Dunnett).

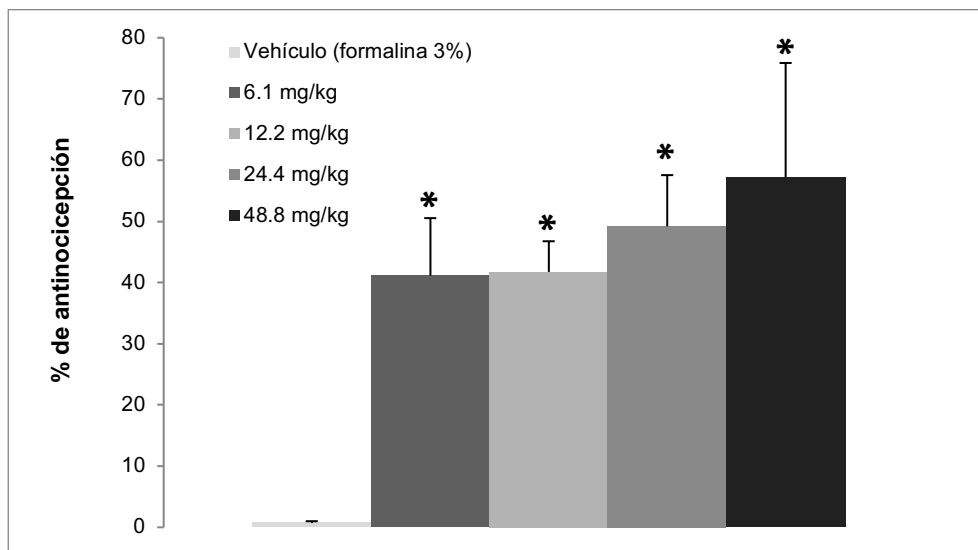


Figura 11. Porcentaje de antinocicepción en la fase II de la combinación del extracto acuoso de *Momordica charantia* y naproxeno en el modelo de formalina. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $p < 0.05$ vs vehículo; prueba de Dunnett).

La curva dosis-efecto en la fase II corroboró que el efecto antinociceptivo es dosis-dependiente en el ensayo con la combinación. Con estos resultados, se calculó la DE_{50} experimental que resultó en un valor de 24.14 mg/kg (figura 12).

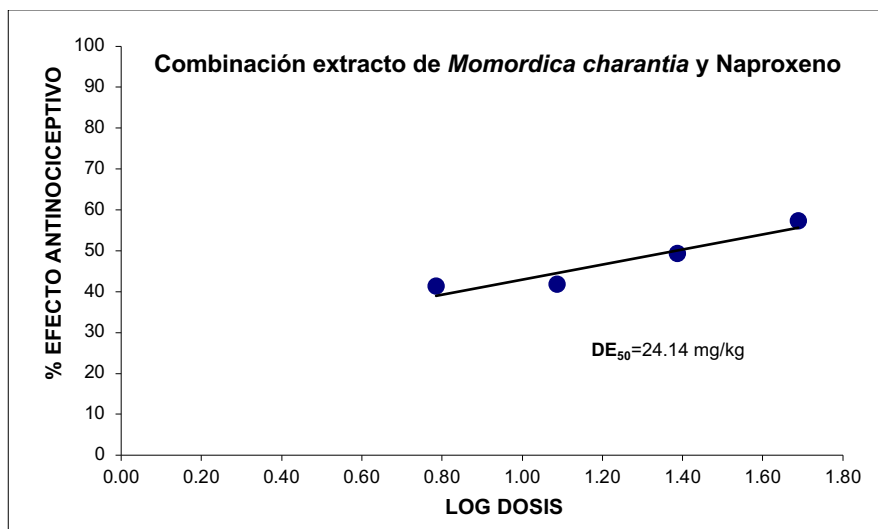


Figura 12. Curva dosis-efecto en la fase II de la combinación del extracto de *M. charantia* y naproxeno en el modelo de formalina aplicado en ratones.

Una vez conocidos los valores de la DE₅₀ teórica y experimental, se realizó un análisis isoblográfico para determinar la posible interacción entre los componentes de la combinación analizada. El gráfico se presenta en la figura 13 y en él se puede observar el punto T que corresponde a la DE₅₀ teórica de la combinación, la línea recta que une las DE₅₀ del naproxeno y el extracto indica las posibles combinaciones entre ambas sustancias y que producen un efecto sumatorio. Por su parte, el punto E corresponde a la DE₅₀ experimental y que, al estar por debajo de la línea recta, nos está indicando que esta presenta una interacción de potenciación (sinergismo) entre el naproxeno y el extracto de *Momordica charantia*.

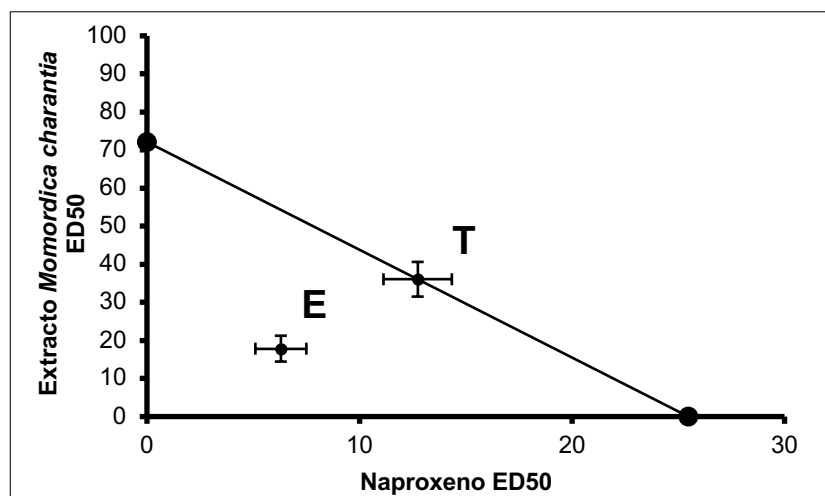


Figura 13. Isoblograma de la interacción entre el extracto acuoso de *Momordica charantia* y naproxeno en el efecto antinociceptivo en el modelo de formalina.

Conclusión

El extracto acuoso de *M. charantia* mostró tener una actividad antinociceptiva en las cuatro dosis evaluadas en la segunda fase del modelo de la formalina en ratones, con una DE₅₀ de 72.13 mg/kg. Además, la administración oral de la combinación entre uno de los fármacos más utilizados para el tratamiento del dolor (naproxeno) y el extracto de *M. charantia* ocasiona una interacción de potenciación (sinergismo) en el efecto antinociceptivo en el modelo empleado. Estos resultados indican que una posible incorporación del extracto o metabolitos específicos y propios del mismo a formulaciones en combinación con fármacos como los AINEs

puede resultar en una estrategia terapéutica mucho más efectiva para el tratamiento del dolor agudo, moderado a severo, resultando necesario la elaboración de más ensayos, como el realizado que reafirmen la evidencia experimental encontrada en este estudio.

Bibliografía/Referencias

- [1] Pérez Fuentes, J. (2020). Versión actualizada de la definición de dolor de la IASP: un paso adelante o un paso atrás. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 27 (4), 232-233. Epub 13 de octubre de 2020. <https://dx.doi.org/10.20986/resed.2020.3839/2020>
- [2] Garrido, B., Bosch, F., Garrido, G., Hernández-Balmaseda, I., & Delgado-Hernández, R.. (2007). Modelos animales de dolor y electroacupuntura. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 14(4), 296-306. Recuperado en 14 de julio de 2023, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-80462007000400007&lng=es&tlng=es.
- [3] Dubuisson, D., & Dennis, S. G. (1977). The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4(2), 161-174. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(77\)90130-0](https://doi.org/10.1016/0304-3959(77)90130-0)
- [4] Pérez Ruiz, Andrés A., López Mantecón, Ana Marta, & Grau León, Ileana. (2002). Antiinflamatorios no esteroideos (AINES): Consideraciones para su uso estomatológico. *Revista Cubana de Estomatología*, 39(2), 119-138. Recuperado en 14 de julio de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200004&lng=es&tlng=es.
- [5] Maneenin, Chanwit, Burawat, Jaturon, Maneenin, Naowarat, Nualkaew, Somsak, Arun, Supatcharee, Sampannang, Apichakan, & Iamsaard, Sitthichai. (2018). Antioxidant Capacity of Momordica charantia Extract and its Protective Effect on Testicular Damage in Valproic Acid-Induced Rats. *International Journal of Morphology*, 36(2), 447-453. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022018000200447>
- [6] Tres, J. (s. f.). Interacción entre fármacos y plantas medicinales. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272006000300007
- [7] Arne Tjølsen, Odd-Geir Berge, Steinar Hunskaar, Jan Henrik Rosland, Kjell Hole, (1992) The formalin test: an evaluation of the method, *Pain*, Volume 51, Issue 1, Pages 5-17, ISSN 0304-3959, [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90003-T](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90003-T).