

DESARROLLO, EVALUACIÓN Y FORMULACIÓN DE COMBINACIONES DE ANALGÉSICOS

Lizette Ángel López ^a, Claudia Rebeca García Palma ^a, Hedwig Jesús Pérez
Maldonado ^a, Juan Ramón Zapata Morales ^{a,*}.

^aDepartamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria
Alta S/N, 36050, Guanajuato, Guanajuato.juan.zapata@ugto.mx

Resumen

El dolor es una sensación no placentera asociada a diversas patologías, su tratamiento consiste básicamente en analgésicos antiinflamatorios de tipo no esteroideo y de tipo opioide, sin embargo, el uso prolongado de estos se asocia a efectos colaterales que pueden ser graves. Las plantas medicinales, frutos y moléculas extraídos de plantas o frutas presentan propiedades antiinflamatorias y analgésicas. Con este planteamiento, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antinociceptivo de un flavonoide Rutina, de Dexketoprofeno de manera individual y en combinación de las DE₅₀, además de la elaboración de comprimidos de la combinación. Para ello se empleó la prueba de formalina como modelo de inducción de nocicepción. Se seleccionaron grupos de ratones, que fueron tratados previamente con diferentes dosis de Rutina y Dexketoprofeno para obtener la dosis efectiva 50 (DE₅₀) de manera individual y en combinación. Posteriormente, se realizaron comprimidos de la combinación entre Rutina y Dexketoprofeno, y por último se realizaron las pruebas de control de calidad.

Palabras clave: Antinocicepción; Rutina; Dexketoprofeno; Análisis Isobolográfico.

DEVELOPMENT, EVALUATION, AND FORMULATION OF ANALGESIC COMBINATIONS

Abstract

Pain is an unpleasant sensation associated with various pathologies. Its treatment consists primarily of non-steroidal anti-inflammatory drugs and opioid. However, prolonged use of these drugs is associated with potentially serious side effects. Medicinal plants, fruits, and molecules extracted from plants or fruits exhibit anti-inflammatory and analgesic properties. With this approach, the objective of this study was to evaluate the antinociceptive effect of the flavonoid Rutin and Dexketoprofen, both individually and in combination (ED_{50}), in addition to the preparation of tablets containing the combination. For this purpose, the formalin test was used as a nociception induction model. Groups of mice were selected and pretreated with different doses of Rutin and Dexketoprofen to obtain the effective dose 50 (ED_{50}) individually and in combination. Subsequently, tablets containing the combination of rutin and dexketoprofen were prepared, and finally, quality control tests were performed.

Keywords: Antinociception; Rutin; Dexketoprofen; Isobolographic Analysis.

1. Introducción

El organismo cuenta con un sistema especializado cuya función principal es detectar posibles amenazas que puedan alterar su equilibrio, permitiéndole reaccionar de manera protectora frente a estímulos dañinos (Guyton, 1991). Esta capacidad defensiva se manifiesta a través de una experiencia sensorial y emocional desagradable que suele localizarse en una parte específica del cuerpo y está asociada con procesos que lesionan o pueden lesionar los tejidos (Vanderah, 2007). Dicha manifestación representa uno de los síntomas más relevantes en diversas enfermedades y constituye una de las principales razones por las que los pacientes buscan atención médica (Melzack y Katz, 2006).

Dependiendo de su duración, el dolor puede clasificarse en dos tipos principales. El primero es el dolor agudo, que tiene una duración corta y se presenta de manera inmediata tras la activación de los nociceptores; su función es biológicamente protectora. El segundo es el dolor crónico, el cual puede persistir por largos periodos incluso después de que la causa inicial haya desaparecido, y ya no tiene una función protectora, lo que afecta negativamente la

calidad de vida del paciente (Melzack y Katz, 2006).

La detección del dolor implica un proceso en el que un estímulo nocivo activa receptores sensoriales específicos conocidos como nociceptores, lo que genera una respuesta inmediata en el organismo. En algunos casos, esta señal puede desencadenar un proceso inflamatorio o neuropático (Garrido y col., 2007).

El tratamiento del dolor suele incluir dos tipos de medicamentos: los opioides, que actúan sobre el sistema nervioso central mediante receptores μ , y los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), que inhiben las enzimas ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) (Katzung y col., 2013). Aunque son eficaces, estos medicamentos pueden causar efectos adversos importantes, como dependencia en el caso de los opioides, y daño gastrointestinal, como úlceras o hemorragias, en el caso de los AINEs (Mendoza, 2008).

Debido a estas limitaciones, es importante seguir investigando alternativas terapéuticas que mantengan la eficacia analgésica sin provocar tantos efectos secundarios. Una opción prometedora es el uso de compuestos

de origen natural con propiedades medicinales. Las plantas han demostrado ser una fuente rica en moléculas con efectos analgésicos y antiinflamatorios (Calixto, 2000).

Un compuesto vegetal que ha mostrado potencial es la Rutina, un flavonoide compuesto por quercetina y rutinosa. Se encuentra en diversas especies vegetales como *Ruta graveolens*, *Rheum*, *Asparagus* y varios cítricos (Ensminger, 1993). Tradicionalmente, la Rutina ha sido utilizada como analgésico, antiinflamatorio, antiespasmódico, antiparasitario y ansiolítico, además de ser útil en el tratamiento de enfermedades vasculares como la insuficiencia venosa crónica, várices y trombosis (Lapa y col., 2009).

El dolor está relacionado con diversas patologías y representa un problema de salud pública en México, tanto por el impacto en la calidad de vida como por los altos costos económicos asociados a su tratamiento. Además, los efectos secundarios de los medicamentos convencionales han llevado a buscar nuevas estrategias terapéuticas. Una de estas consiste en la combinación de AINEs con opioides en dosis más bajas, que logra

mantener el efecto analgésico reduciendo los efectos adversos. Otra opción interesante es combinar fármacos convencionales con compuestos naturales como la Rutina (Miño y col., 2002).

Estudios recientes han demostrado que la Rutina puede potenciar el efecto analgésico de medicamentos como el paracetamol y varios AINEs, incluyendo naproxeno, diclofenaco y ketorolaco (Lapa y col., 2009). Estas combinaciones han mostrado una reducción significativa de la producción de óxido nítrico (NO) en modelos celulares, así como una disminución en la respuesta dolorosa en modelos animales, lo que indica una interacción sinérgica entre estos compuestos.

También se ha evaluado la combinación de Rutina con naproxeno, diclofenaco y ketorolaco en un modelo animal de dolor inducido por ácido acético, donde se administraron diferentes dosis de ambos compuestos por vía oral. Se observó que las combinaciones en proporciones 1:1, 1:3 y 3:1 lograron un efecto analgésico mayor que el obtenido con cada compuesto por separado (Alonso Castro y col., 2017; Zapata Morales

y col., 2021), lo que refuerza la idea de una interacción sinérgica (Lapa y col., 2009).

Por todo lo anterior, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto antinociceptivo de la Rutina utilizando el modelo de formalina, con el fin de determinar la dosis efectiva 50 (DE_{50}) de Rutina, Dexketoprofeno y la combinación de las DE_{50} de los dos tratamientos evaluados. Posteriormente, se realizaron comprimidos de la combinación entre Rutina y Dexketoprofeno, y por último se realizaron las pruebas de control de calidad.

2. Materiales y métodos

2.1 Animales de experimentación

Para la evaluación antinociceptiva de Rutina, Dexketoprofeno y la combinación, se utilizaron 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).

3. Evaluación de la interacción analgésica

Para la evaluación del efecto analgésico del Rutina, Dexketoprofeno 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, los ratones se dividieron en grupos de 6 para cada dosis de cada compuesto.

Los ratones utilizados se ambientaron en cilindros de acrílico durante 3 días previos al día del experimento. Los tratamientos se administraron por vía oral (v.o.) a las siguientes dosis: Rutina (5, 25, 50 y 100 mg/kg), Dexketoprofeno (25, 50, 100 y 200 mg/kg). El grupo control recibió solución salina. Transcurrida una hora desde la aplicación de los tratamientos se administró 30 μl de formalina al 3 % en el espacio intraplantar de la pata derecha de los animales, posteriormente se colocaron en los cilindros de acrílico con espejos para su observación. El efecto para cuantificar fue el tiempo de lamida total en dos periodos, correspondientes a las dos distintas fases de

dolor, fase 1 (neurálgico; 0-15 min) e fase 2 (inflamatorio; 15-45 min).

Los resultados obtenidos de la segunda fase se emplearon para el cálculo de la dosis efectiva 50 (DE₅₀) de los tratamientos con Rutina e Dexketoprofeno mediante regresión lineal. Los datos se presentan 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 post hoc de Dunnett. Se considero estadísticamente significativos valores de $P < 0.05$. Todos los cálculos se realizaron con el programa NCSS8.

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

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

Finalmente, se determinó la interacción de la combinación de los fármacos mediante análisis isobolográfico.

4. Formulación

Para la realización de la formulación del comprimido se utilizaron las dosis a partir de los resultados obtenidos en el presente estudio y en base a la dosis que se utiliza actualmente en el tratamiento del dolor, la

composición de la formulación se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Composición de la formulación del comprimido Rutina/Dexketoprofeno.

Componente	Función	g
Dexketoprofeno	Principio Activo (PA)	20
Rutina	Principio Activo (PA)	10
Celulosa Microcristalina (CMC)	Aglutinante	75
Estearato de Magnesio	Lubricante	3.0
Talco	Deslizante	6.0
Carboximetilcelulosa Sódica	Disgregante	2.4

Los comprimidos se prepararon por el método de compresión directa, de acuerdo con el esquema mostrado en la Figura 1. Una vez preparados los comprimidos, se realizaron pruebas de calidad correspondientes a dureza, dimensiones y uniformidad de peso.

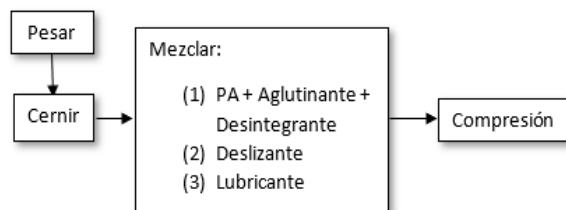


Figura 1. Pasos para la elaboración del comprimido.

Se preparó un lote de placebo con el propósito de evaluar si los excipientes seleccionados eran adecuados para su uso en la formulación (figura 2).



Figura 2. Comprimidos placebo.

5. Control de calidad

Se realizó una evaluación de 4 parámetros de calidad, los cuales fueron dureza, tiempo de desintegración, friabilidad y uniformidad de peso.

Para la dureza se determinó utilizando un durómetro tipo Stokes, aplicando fuerza gradual hasta observar la fractura de la tableta. Se evaluaron 10 tabletas seleccionadas aleatoriamente y los resultados se expresaron como promedio \pm desviación estándar.

Para la evaluación de uniformidad de peso, se pesaron individualmente 20 tabletas utilizando una balanza analítica con precisión de 0.0001 g. Se calcularon el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación para evaluar la consistencia en el peso de las unidades.

En cuanto a friabilidad, se evaluó sometiendo 20 tabletas a 20 rpm. Se calculó el porcentaje de pérdida de peso comparando el peso inicial y final del conjunto de tabletas.

El estudio de desintegración se llevó a cabo con el equipo de desintegración previamente acondicionado a 37°C, simulando las condiciones del tracto gastrointestinal. Se colocaron 6 tabletas en cada tubo canastillo del equipo y se sumergieron en 900mL de HCl 0.1N. El ensayo se llevó en un tiempo programado

de 10 minutos, observando visualmente la desintegración completa de cada tableta.

6. Resultados y discusión

El efecto analgésico de Rutina, Dexketoprofeno y la combinación de las DE₅₀, se cuantificó en términos del efecto antinociceptivo de cada dosis administrada en la fase 2 (figura 3), que corresponde con la presencia de mediadores químicos como la bradicidina, histamina, prostaglandinas, serotonina, taquicidinas, leucotrienos, entre otros (Hernández-León y col., 2016). El efecto encontrado para Rutina y Dexketoprofeno fue dosis dependiente, alcanzándose un mayor porcentaje de antinocicepción para las dosis altas de ambos fármacos (Rutina 100 mg/kg-68.14% y Dexketoprofeno 200 mg/kg 81.69%).

Las dosis efectivas 50 obtenidas por regresión lineal para Rutina e Dexketoprofeno fueron DE₅₀=39.05 mg/kg y DE₅₀=72.88 mg/kg, respectivamente.

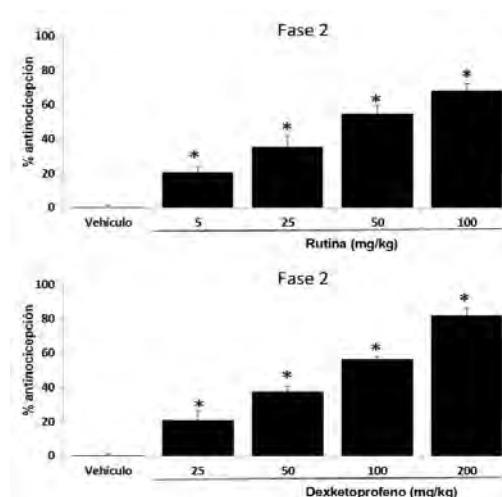


Figura 3. Efecto antinociceptivo en la fase 2 de Rutina y Dexketoprofeno para distintas dosis en el modelo de formalina en ratones. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $P < 0.05$ vs vehículo).

De la evaluación de la combinación de las DE₅₀ de Rutina y Dexketoprofeno, se encontró un efecto en porcentaje de antinocicepción del 77.04%, lo cual es un signo claro de la sinergia existente entre Rutina y Dexketoprofeno (Figura 4).

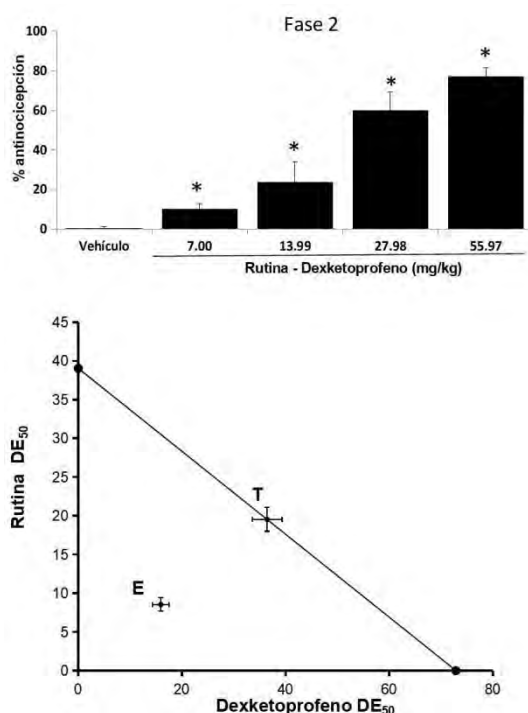


Figura 4. Efecto antinociceptivo en la fase 2 de Rutina y Dexketoprofeno para distintas dosis en el modelo de formalina en ratones. Las barras representan el promedio \pm EEM (* $P < 0.05$ vs vehículo) Parte superior. Parte inferior, Isoblograma que describe la interacción sinérgica entre Rutina y Dexketoprofeno en el modelo de formalina en ratones. E= dosis experimental (24.45 mg/kg) y T= dosis teórica (55.97 mg/kg).

El análisis isoblográfico de la coadministración de Rutina y Dexketoprofeno demostró un significativo aumento en el 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 DE₅₀ teórica (55.97 mg/kg) y la experimental (24.45 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 Rutina-Dexketoprofeno presenta una interacción farmacológica de sinergismo de potenciación (figura 4). 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 (Alonso Castro y col., 2017; Zapata Morales y col., 2021).

Una vez que se analizó la actividad antinociceptiva de la combinación

Rutina/Dexketoprofeno, y se determinó si las características de los excipientes utilizados eran viables para la formulación. En la figura 5 se muestra una imagen demostrativa de las tabletas del lote formulado de la combinación de Rutina/Dexketoprofeno y utilizado para la realización de las pruebas de calidad.

Los parámetros de calidad evaluados fueron uniformidad de peso, tiempo de desintegración, dureza y friabilidad; se llevaron a análisis de calidad de 20 comprimidos en friabilidad y 10 en dureza, 20 comprimidos para uniformidad de peso.

Los resultados se muestran en la tabla 2.



Figura 5. Comprimidos de Rutina y Dexketoprofeno.

Tabla 2. Parámetros de calidad de los comprimidos elaborados de Dexketoprofeno/Rutina.

Parámetro	Valor Promedio	Desviación Estándar
Dureza (kgf)	5.9	-
Uniformidad de peso (g)	0.518	± 0.02
Friabilidad (%)	0.20	-
Tiempo de desintegración	< 1 minuto	-

Los parámetros evaluados en las tabletas de Dexketoprofeno-Rutina muestran características farmacotécnicas adecuadas para su uso como forma farmacéutica sólida.

La dureza promedio de 5.9 kgf indica que las tabletas poseen suficiente resistencia mecánica para su manipulación. La variabilidad observada podría estar relacionada con el proceso de compresión utilizado.

La uniformidad de peso (0.518 g) demuestra una buena reproducibilidad en el proceso de fabricación, lo que confirma la efectividad del método de mezcla empleado. Esto sugiere que la distribución de los componentes fue

homogénea, a pesar de no haberse realizado el proceso por etapas.

Los tiempos de desintegración completos (<1 minuto en todas las tabletas) son relevantes, ya que se trata de una formulación de liberación rápida o inmediata.

La baja friabilidad corrobora la integridad estructural de las tabletas, indicando que mantendrán sus propiedades físicas durante el manejo y la distribución.

Con todo lo anterior es importante destacar que en este trabajo se pudo evaluar la interacción farmacodinámica de la combinación entre Rutina y Dexketoprofeno en un modelo de dolor inflamatorio, demostrando tener una interacción de tipo potenciación, con los resultados obtenidos se pudo realizar un lote piloto de dicha combinación y aunque los resultados de las pruebas de calidad son buenos, es necesario realizar algunas pruebas más de calidad como lo es la uniformidad de contenido de principio activo y en su caso poder realizar un lote de mayor cantidad de comprimidos para verificar la reproducibilidad en el proceso de elaboración.

7. Conclusiones

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

Los resultados obtenidos en el control de calidad de los comprimidos de Dexketoprofeno/Rutina demostraron que la formulación desarrollada cumple con los requerimientos farmacéuticos mínimos de calidad. Por lo que es importante realizar las pruebas que demuestren la calidad de nuestra formulación.

Referencias bibliográficas

Alonso-Castro AJ, Rangel-Velázquez JE, Isiordia-Espinoza MA, Villanueva-Solís LE, Aragon-Martinez OH, Zapata-Morales JR (2017). Synergism between Naproxen and Rutin in a Mouse Model of Visceral Pain. *Drug Dev Res.* 78(5):184-188. doi: 10.1002/ddr.21391.

Calixto, J. B. (2000). Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33, 179–189.

Ensminger, H. A. (1993). Food & nutrition encyclopedia (Vol. 1, 2^a ed.). CRC Press.

Garrido, B., Bosch, F., Hernández, I., & Delgado, R. (2007). Pain animal models. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 14, 296–306.

Guyton, A. C. (1991). Somatic sensations. II. Pain, headache, and thermal sensations. En A. C. Guyton (Ed.), *Textbook of medical physiology* (8^a ed., p. 520). WB Saunders Company.

Hernández-León, A., Fernández-Guasti, A., & González-Trujano, M. E. (2016). Rutin antinociception involves opiodergic mechanism and descending modulation of ventrolateral periaqueductal grey matter in rats. *European Journal of Pain*, 20(2), 274–283. <https://doi.org/10.1002/ejp.719>

Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2013). *Farmacología básica y clínica* (12^a ed.). McGraw-Hill.

Lapa, R. F., Gadotti, M. V., Misau, C. F., Pizzolatti, G. M., & Márquez, A. M. C. (2009). Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and the flavonoid rutin obtained from *Polygala paniculata* L. in mice.

Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 104, 306–315.

Melzack, R., & Katz, J. (2006). Pain assessment in adult patients. En P. D. Wall & R. Melzack (Eds.), *Textbook of pain* (5^a ed., pp. 291–304). Elsevier Churchill Livingstone.

Mendoza, P. N. (2008). *Farmacología médica* (1^a ed.). Editorial Médica Panamericana.

Miño, J., Gorzalczany, S., Moscatelli, V., Ferraro, G., Acevedo, C., & Hnatyszyn, O. (2002). Actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de *Erythrina crista-galli* L. ("Ceibo"). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 21(2), 93–98.

Vanderah, T. W. (2007). Pathophysiology of pain. *Medical Clinics of North America*, 91, 1–12.

Zapata-Morales JR, Alonso-Castro AJ, Muñoz-Martínez GS, Martínez-Rodríguez MM, Nambo-Arcos ME, Brennan-Bourdon LM, Aragón-Martínez OH, Martínez-Morales JF (2021). In vitro and In vivo Synergistic Interactions of the Flavonoid Rutin with Paracetamol and with Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Arch*

Med Res. 52(6):611-619. doi:

10.1016/j.arcmed.2021.03.007.