



Análisis de la interacción antinociceptiva entre hesperidina y ketorolaco por medio de la exploración de superficie de interacción sinérgica

Ana Laura Martínez-Martínez,* María Eva González-Trujano,* Francisco Javier López-Muñoz**

* Dirección de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría «Ramón de la Fuente Muñiz».

** Departamento de Farmacobiología, CINVESTAV-Sede Sur.

Solicitud de sobretiros:

Dr. Francisco Javier López-Muñoz
Departamento de Farmacobiología,
CINVESTAV-Sede Sur.
Calz. De los Tenorios Núm. 235,
Col: Granjas Coapa, 14330,
México, D.F. México.
Tel: 52 55 54 83 28 51
Cel: 044 55 10 20 31 85
E-mail: flopez@cinvestav.mx

Recibido para publicación: 06-02-13.

Aceptado para publicación: 30-05-13.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en
<http://www.medigraphic.com/rma>

RESUMEN

Introducción: En la actualidad el número de pacientes que complementa su tratamiento farmacológico a través del uso de la medicina alternativa con fines analgésicos crece exponencialmente y aunque la demostración de efecto supraaditivo o aditivo del efecto se considera beneficiosa, los efectos indeseables también podrían aumentar promoviendo la nula utilidad terapéutica. **Objetivo:** Evaluar el efecto antinociceptivo de diferentes combinaciones del bioflavonoide hesperidina y el fármaco antiinflamatorio no esteroideo ketorolaco en un modelo experimental de artritis gotosa. **Material y métodos:** La nocicepción fue inducida con la inyección intraarticular de ácido úrico al 20%. Cuando la funcionalidad fue 0%, los animales recibieron el tratamiento farmacológico y enseguida se registró la recuperación de la funcionalidad como respuesta antinociceptiva. Los datos fueron interpretados usando el análisis de la «superficie de interacción sinérgica» para establecer la naturaleza de la interacción. **Resultados:** De las diferentes combinaciones analizadas, hesperidina de 562.3 mg/kg y ketorolaco de 0.56 mg/kg produjeron individualmente un efecto antinociceptivo de 43.9 ± 18.8 unidades de área (ua) y 100.8 ± 18.7 unidades de área, respectivamente. Mientras que el efecto antinociceptivo de la combinación de dichas dosis fue significativamente mayor al esperado con la suma de los efectos individuales manifestando un efecto supraaditivo con 228.3 ± 30.8 unidades de área. El daño gástrico que se sabe produce la administración de ketorolaco se redujo significativamente en presencia del bioflavonoide. **Discusión:** Este es el primer estudio que demuestra que la combinación de hesperidina + ketorolaco potencia los efectos antinociceptivos y reduce los efectos adversos. **Conclusiones:** La administración conjunta de ketorolaco + hesperidina promueve el sinergismo en la respuesta antinociceptiva, preferentemente de tipo adición y supraaditiva, sugiriendo su potencial uso en la terapéutica del dolor artrítico gótico.

Palabras clave: Artritis gótica, antinocicepción, hesperidina, ketorolaco.

SUMMARY

Introduction: Nowadays the number of patients that complements its drug treatment through the use of alternative medicine with analgesic purpose grows exponentially; although the presence of supra-additive or additive effect can be positive, the undesirable effects might also be promoted and stays away from the therapeutic utility. **Objective:** The antinociceptive effects of the bioflavonoid hesperidin and the non-steroidal anti-inflammatory drug ketorolac administrated in combination were determined in an experimental

model of gouty arthritis. **Material and methods:** Nociception was induced by the intra-articular injection of uric acid at 20% to induce dysfunction. When the functionality was zero animals received pharmacologic treatment and then the recovery of functionality was assessed as an expression of antinociception. The data were interpreted using the «surface of synergistic interaction» analysis to establish the nature of the interaction. **Results:** Between the tested combinations, hesperidin (562.3 mg/kg) and ketorolac (0.56 mg/kg) produced an antinociceptive effect individually of 43.9 ± 18.8 area units (au) and 100.8 ± 18.7 area units, respectively. Moreover, the antinociceptive effect of the combination of these doses was significantly higher than expected from the sum of individual effects manifesting a supra-additive effect with 228.3 ± 30.8 area units. Gastric damage that is commonly produced during administration of NSAIDs was significantly reduced in presence of the bioflavonoid. **Discussion:** This is the first study to demonstrate that the combination of hesperidin + ketorolac potentiates the antinociceptive effects and reduce adverse effects. **Conclusions:** The combination of hesperidin + ketorolac preferentially promotes additive and supra-additive antinociceptive responses suggesting its therapeutic potential in treatment of gouty arthritis pain.

Key words: Gouty arthritis, antinociception, hesperidin, ketorolac.

INTRODUCCIÓN

Interacción medicamentosa es la situación en la cual un fármaco o un medicamento ejercen su acción, influenciada por la ingestión simultánea de otro fármaco, de algún tipo de alimento, bebida o sustancia ambiental. No necesariamente esta interacción tiene un carácter negativo, ya que la modificación puede aumentar la acción terapéutica en algún caso o disminuir la toxicidad del fármaco; aunque, en ciertas ocasiones existe la posibilidad de que se originen reacciones adversas. Las interacciones medicamentosas son más frecuentes en aquellos fármacos que tienen un margen terapéutico estrecho, esto es, aquellos medicamentos cuya dosis eficaz, segura, tolerable y no tóxica se mueve en cifras de dosis en un intervalo muy pequeño⁽¹⁾. Cuando administramos conjuntamente dos analgésicos, pueden no interaccionar, produciendo cada uno de ellos el efecto farmacológico que le corresponde de forma independiente (aditividad), o pueden interaccionar provocando un efecto diferente del esperado. Si este efecto es mayor se produce un efecto supraaditivo o de potenciación y si el efecto es menor se produce un efecto subaditivo o de antagonismo. En el tratamiento del dolor, la demostración de efecto supraaditivo o simple aditividad del efecto analgésico se considera beneficiosa; no obstante, si los efectos indeseables también aumentan, la asociación puede carecer de utilidad terapéutica.

El descubrimiento de fármacos a partir de plantas medicinales guio al aislamiento de analgésicos prototípicos tales como la morfina y la aspirina. Sin embargo, hay muchos tipos de dolor, en los cuales los analgésicos tradicionales no son útiles para aliviar el dolor, o bien los efectos adversos limitan su uso. Es por esta razón que el aislamiento y caracterización de compuestos farmacológicamente activos obtenidos a partir de

plantas medicinales utilizadas para el tratamiento del dolor continúa vigente.

La hesperidina es un flavonoide conocido inicialmente como «vitamina P» para indicar que podía disminuir la permeabilidad y la fragilidad capilar⁽²⁾. Además de su efecto en la permeabilidad capilar, este flavonoide exhibe un amplio espectro de actividades farmacológicas tales como, sedante^(3,4), antioxidante^(5,6), anticancerígeno^(5,7), así como también propiedades como antiinflamatorio y analgésico^(5,8,9). Este flavonoide es abundante en frutas cítricas (familia Rutaceae)⁽⁹⁾ y en muchas otras plantas; entre ellas especies que pertenecen a la familia Lamiaceae^(10,11) como *R. officinalis* conocida comúnmente como romero. Esta especie es conocida a nivel mundial y extensamente utilizada en la preparación de alimentos y bebidas, así como ingrediente de productos cosméticos^(12,13); en la medicina tradicional es ampliamente utilizada como antiespasmódico, en el tratamiento de cólicos renales y dismenorrea^(12,14). En México, el romero es preparado en maceración con etanol y usado en administración tópica para aliviar el dolor reumático. Estudios preclínicos con el extracto etanólico de las partes aéreas de romero han mostrado efecto antinociceptivo en diferentes modelos experimentales⁽¹⁵⁾. No se conocen todos los componentes activos responsables de la actividad antinociceptiva de dicho extracto; sin embargo, se sabe de la presencia de flavonoides⁽¹⁶⁾ entre los cuales la hesperidina es uno de los posibles constituyentes activos⁽¹⁷⁾. El presente estudio describe los efectos antinociceptivos de hesperidina y ketorolaco de manera individual y en combinación utilizando un modelo de dolor artístico gótico conocido como «disfunción inducida por dolor en rata» o *PIFIR model* (por sus siglas en inglés, *Pain-induced functional impairment model in the rat*)⁽¹⁸⁾ y realizando el análisis de interacción por medio de la «Superficie de interacción sinérgica»⁽¹⁹⁾.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar [Crl(WI)fBR] con un peso que fluctuó entre 180 y 200 g, las cuales fueron mantenidas bajo condiciones estándar en un ciclo de luz/oscuridad de 12-h/12-h a una temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, con libre acceso al alimento y agua. Doce horas antes de los experimentos, se retiró el alimento y sólo se permitió el acceso al agua. Todos los protocolos experimentales se realizaron siguiendo las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (Norma-062-ZOO-2000); así como, los lineamientos de los «estándares éticos para las investigaciones de dolor experimental en animales»^(20,21) y de acuerdo a los protocolos aprobados por los Comités de Ética locales para manejo de animales en laboratorio. Los animales utilizados en este estudio fueron obtenidos del bioriego del Cinvestav-Sede Sur. El número de animales experimentales fue mantenido al mínimo y éstos fueron utilizados sólo una vez. Cada grupo experimental consistió de seis animales.

La hesperidina (pureza ~80%) y el ketorolaco trometamina (pureza > 99%) se administraron por vía intraperitoneal (i.p.). La hesperidina y el ketorolaco fueron disueltos en s.s. Las soluciones de los fármacos fueron preparadas el día del experimento y administrados en un volumen de 0.1 mL/100 g de peso corporal. Los grupos control recibieron el mismo volumen de vehículo. Todos los compuestos se obtuvieron de Sigma Chemical Company.

El efecto antinociceptivo se evaluó utilizando el modelo experimental «disfunción inducida por dolor en ratas» (*PIFIR model*), previamente descrito por López-Muñoz y colaboradores en 1993⁽¹⁸⁾. Este modelo experimental ha sido empleado ampliamente para determinar el efecto de combinaciones de analgésicos⁽²²⁻²⁶⁾ y adyuvantes⁽²⁷⁾. El modelo consistió en anestesiar a las ratas con vapores de éter etílico bajo una campana de extracción. La nocicepción se indujo por la administración de 50 μL de ácido úrico al 20% suspendido en aceite mineral, y administrado en la articulación fémur-tibiotrotular de la extremidad posterior derecha. Inmediatamente, un electrodo se adhirió sobre la superficie plantar de cada extremidad posterior. Después de la recuperación completa de la anestesia, los animales se colocaron en cilindros rotatorios de acero inoxidable de 30 cm de diámetro los cuales rotan a 4 rpm por períodos de dos minutos, forzando a las ratas a caminar. La variable evaluada fue el tiempo de contacto entre cada una de las extremidades posteriores del animal y el cilindro. Cada vez que los electrodos colocados en las extremidades posteriores del animal entran en contacto con el piso del cilindro se cierra un circuito, y el tiempo que el circuito permanece cerrado es registrado. Posteriormente, con estos datos se obtuvieron los índices de funcionalidad en porcentaje (%IF), calculados como el tiempo de contacto de

la extremidad administrada con ácido úrico (posterior derecha) con respecto al tiempo de contacto de la extremidad no administrada (posterior izquierda).

Una vez que las ratas presentan nocicepción, dejan de apoyar la extremidad al caminar, alcanzando un %IF igual o cercano a cero; en este momento, las ratas fueron administradas con vehículo, hesperidina (100, 300, 562.3, 1,000 y 1,778.3 mg/kg) o ketorolaco (0.18, 0.32, 0.56, 1, y 1.78 mg/kg) y se continuó con el registro de funcionalidad por dos minutos cada media hora por un período total de cuatro horas. Para el análisis de la interacción medicamentosa producida por la combinación de hesperidina y ketorolaco, todas las dosis de hesperidina (100, 300, 562.3, 1,000 y 1,778.3 mg/kg) se combinaron con las dosis más pequeñas de ketorolaco (0.18, 0.32 y 0.56 mg/kg), de lo cual se obtuvieron 15 combinaciones en total. Al terminar los experimentos los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y los estómagos fueron extraídos para ser fijados con formaldehído al 10%. Diez minutos después los estómagos se cortaron por la curvatura mayor y se observaron al estereoscopio para el registro de úlceras.

El efecto antinociceptivo se estimó como la recuperación del %IF construyendo entonces los cursos temporales al graficar el tiempo (cuatro horas) contra efecto antinociceptivo (%IF). Las curvas dosis-respuesta (CDR) tanto de hesperidina como de ketorolaco se construyeron a partir de los efectos determinados en los cursos temporales con cada una de las dosis evaluadas de cada compuesto. Primero se determina el efecto antinociceptivo total observado durante el período de cuatro horas en el curso temporal, después se calcula el área bajo la curva (ABC) de dicho curso temporal, por medio del método de los trapezoides. Ya con el efecto como ABC determinado, con las diferentes dosis de cada compuesto se construye la CDR graficando dosis empleadas en incrementos logarítmicos contra los efectos obtenidos como ABC. El efecto antinociceptivo máximo obtenible en el modelo PIFIR bajo las presentes condiciones experimentales, es de 387.5 unidades de área (ua) (15,18,28). Las diferencias estadísticas se determinaron a través de un análisis de varianza (ANADEVA) seguido de la prueba de Dunnett para un nivel de significancia $p < 0.05$.

El tipo de interacción entre hesperidina y ketorolaco se determinó usando el análisis de «superficie de interacción sinérgica» (SIS)⁽¹⁹⁾. El efecto antinociceptivo total o ABC (promedio de seis determinaciones) del efecto individual de cada dosis de fármaco que formaría la combinación, fue sumado para obtener el valor esperado como suma (suma teórica). Si el ABC del efecto antinociceptivo obtenido experimentalmente para las combinaciones era mayor que la suma teórica de los efectos individuales, la interacción fue considerada como una respuesta supraaditiva (potenciación); si el efecto era similar a la suma teórica fue considerado como un efecto antinociceptivo aditivo y finalmente si era menor

a la suma teórica fue considerado como un efecto subaditivo (antagonismo). Los valores de ABC obtenidos para las combinaciones de hesperidina + ketorolaco fueron comparadas contra la suma teórica utilizando la prueba T de Student.

RESULTADOS

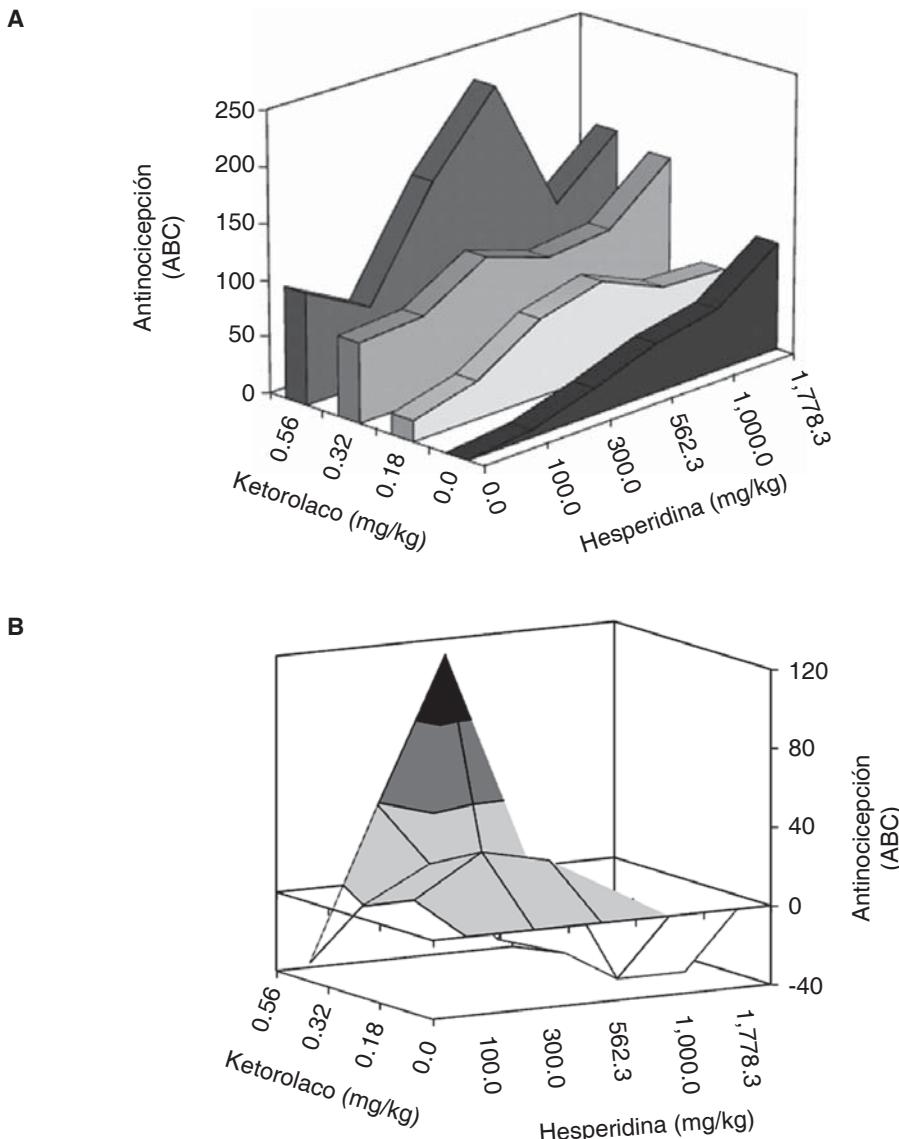
La administración de hesperidina (100-1,778.3 mg/kg) y ketorolaco (0.18-1.78 mg/kg) producen efecto antinociceptivo significativo ($p < 0.001$) y dosis-dependiente a dosis que no producen efecto sedante e incapacidad de las ratas para caminar en los cilindros durante el período de evaluación. El ketorolaco mostró una mayor eficacia al alcanzar un efecto antinociceptivo de $245.8 \pm 29.5\%$, con la dosis de 1.78; mientras que hesperidina mostró una eficacia limitada alcanzando un efecto antinociceptivo de $101.5 \pm 21.3\%$ con la dosis de 1,778.3 mg/kg. La CDR de ketorolaco se presentó a la izquierda comparada con la de hesperidina en el eje de las dosis administradas. A partir de las CDR individuales se calcularon las $DE25 = 0.5$ mg/kg y 1,667 mg/kg para ketorolaco y hesperidina, respectivamente, por lo que ketorolaco fue 3,334 veces más potente que hesperidina en la comparación de efectos al 25% cuando se administran individualmente.

Para realizar el análisis de sinergismo por medio de la «superficie de interacción sinérgica», se construyó una gráfica de tres dimensiones (Figura 1), en donde cada punto graficado es el promedio de efecto antinociceptivo de seis animales empleados para cada dosis de cada fármaco o combinación, por lo que en la figura 1A y B se muestra la respuesta antinociceptiva de cada dosis de los compuestos individuales o en combinación. En la gráfica se puede observar en el eje «Z» las diferentes dosis de hesperidina que fueron empleadas para obtener su CDR; en el eje «X» las dosis empleadas de ketorolaco para ser administradas simultáneamente con hesperidina; mientras que en el eje «Y» el efecto de antinocicepción que fue generado como ABC. En esta figura se puede observar un conjunto de CDR tanto de hesperidina sola como en asociación con diferentes dosis de ketorolaco; también se puede determinar que existen algunas combinaciones que generaron grandes efectos antinociceptivos, y se puede detectar cuál o cuáles son las combinaciones que generan los mejores efectos antinociceptivos o mayor eficacia; por ejemplo, mientras que hesperidina 562.3 mg/kg sola generó un efecto antinociceptivo de 43.9 ± 18.8 ua, y ketorolaco 0.56 mg/kg solo, generó un efecto de 100.8 ± 18.8 ua, la combinación produjo un efecto antinociceptivo de 228.3 ± 30.8 ua.

Con la finalidad de detectar el tipo de interacción que se genera con cada combinación administrada, al efecto antinociceptivo producido por cada combinación se le restó el efecto producido por cada fármaco cuando es administrado de manera individual. Los resultados mayores a «0» indican interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o de poten-

ciación; aquéllos que fueron no diferentes estadísticamente a «0» son considerados como interacción antinociceptiva de tipo aditivo y los que dieron valores menores a «0» son considerados como subaditivos. Dos combinaciones (hesperidina 300 mg/kg + ketorolaco 0.18 mg/kg y hesperidina 562.3 mg/kg + ketorolaco 0.56 mg/kg) producen un efecto antinociceptivo supraaditivo; es decir, un efecto mayor a la suma teórica de los efectos individuales producidos por cada fármaco ($p < 0.05$). Doce combinaciones mostraron efectos aditivos, es decir la suma de los efectos individuales producidos por cada fármaco. Mientras que una combinación (hesperidina 1,000 mg/kg + ketorolaco 0.18 mg/kg) exhibió interacción de tipo subaditivo con una respuesta menor a la suma de los efectos individuales producidos por cada fármaco. Es decir, se obtuvo una gama de resultados de interacción que iban desde efectos infraaditivos hasta efectos supraaditivos o de potenciación antinociceptiva. Esto puede ser observado en la figura 1B, que tiene los mismos ejes que la figura 1A, pero que representa sólo los datos de sinergismo de las combinaciones. La figura muestra la «superficie de interacción sinérgica» que caracteriza la combinación de hesperidina + ketorolaco por vía intraperitoneal y en dolor de tipo artritis gotosa, y que nos muestra claramente que sí hay interacción entre ambos compuestos. También son señaladas en esta figura las zonas de efectos supraaditivos, aditivos y subaditivos. El efecto antinociceptivo global producido por la combinación de hesperidina 562.3 mg/kg + ketorolaco 0.56 mg/kg, fue de 228.3 ± 30.8 ua, mientras que el efecto antinociceptivo producido por las mismas dosis de los fármacos administrados de manera individual fue de 43.9 ± 18.8 ua para hesperidina y 100.8 ± 18.8 ua para ketorolaco. Esta combinación produce un efecto supraaditivo ya que el efecto global antinociceptivo obtenido es mayor al esperado de acuerdo a la suma teórica de los efectos individuales producidos por cada fármaco.

El curso temporal de la combinación (hesperidina 562.3 mg/kg + ketorolaco 0.56 mg/kg) que produjo el máximo efecto antinociceptivo en el modelo PIFIR se muestra en la figura 2. Los animales que fueron administrados con el vehículo no muestran alguna recuperación de la funcionalidad durante las cuatro horas de observación. En contraste, los animales que recibieron hesperidina, ketorolaco o la combinación de estos fármacos muestran un aumento significativo en el efecto antinociceptivo o en el índice de funcionalidad en los primeros 15-30 minutos de evaluación, es decir presentan diversos grados de efectos antinociceptivos. El análisis de los efectos máximos (Emáx) a partir del curso temporal correspondiente permite determinar que mientras la combinación produjo 15 minutos después de la administración un Emáx de $101.3 \pm 5.2\%$, hesperidina y ketorolaco solos, producen 30 minutos después de la administración un Emáx de $25.1 \pm 8.3\%$ y $39.4 \pm 12.6\%$, respectivamente. También se observa que el Emáx de la combinación se mantiene durante una hora y se reduce

**Figura 1.**

(A) Efecto antinociceptivo producido por ketorolaco (0.18-0.56 mg/kg) y hesperidina (100-1,778.3 mg/kg) administrados de manera individual o en combinación. Cada punto representa el promedio de seis animales. **(B)** Superficie de interacción sinérgica del efecto antinociceptivo producido por las diferentes combinaciones de ketorolaco + hesperidina, construida después de restar al efecto de la combinación los efectos individuales producidos por cada fármaco. Las barras del E.E.M. se omiten para mayor claridad de la gráfica.

a la mitad durante las dos horas siguientes para terminar con un % IF = $27.2 \pm 12.4\%$ después de cuatro horas de la administración, cuando ya ni hesperidina ni ketorolaco presentan efecto antinociceptivo alguno.

Cabe señalar que la combinación de hesperidina y ketorolaco que produce efectos supraaditivos o de potenciación del efecto antinociceptivo no produce daño gástrico en comparación con indometacina 20 mg/kg ($29.8 \pm 8.9 \text{ mm}^2$) o ketorolaco 0.56 mg/kg ($2.0 \pm 1.1 \text{ mm}^2$) cuando son administrados individualmente en dosis única (Figura 3A y B).

DISCUSIÓN

Actualmente existen diversos fármacos útiles para el tratamiento del dolor; sin embargo, el aumento en la incidencia de

efectos adversos, sobre todo en el tratamiento de dolor crónico es una limitante. Debido a esto, es necesaria la búsqueda de alternativas analgésicas y/o antiinflamatorias. En este sentido el uso de combinaciones de fármacos o alternativas ha dado buenos resultados⁽²²⁻²⁷⁾. El presente estudio demuestra que la administración sistémica del flavonoide hesperidina produce una interacción medicamentosa con el antiinflamatorio no esteroideo ketorolaco: esta interacción es positiva, presentando dos combinaciones con efectos supraaditivos o de potenciación, la mayoría con efectos aditivos (12 combinaciones) y una combinación con efectos subaditivos en el modelo de artritis de tipo gota inducida en ratas, lo cual establece la importancia de detectar adecuadamente las proporciones óptimas de fármacos a combinar para generar o desarrollar los mejores efectos antinociceptivos. Para este estudio fue seleccionado el

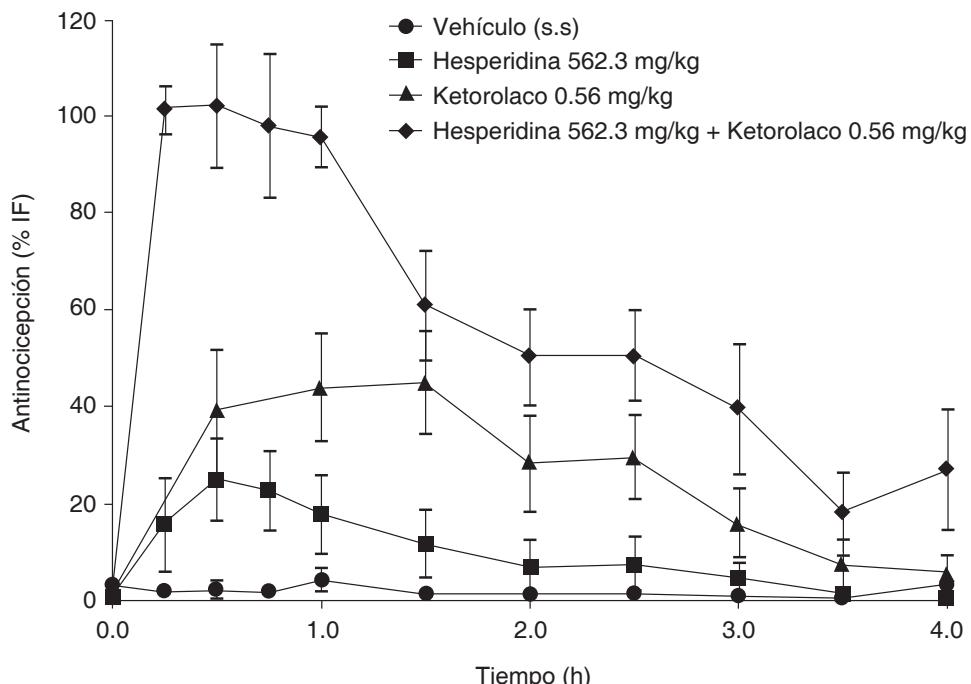


Figura 2.

Curso temporal del efecto antinociceptivo de la combinación que produce el máximo efecto antinociceptivo: vehículo (s.s.) (●), ketorolaco 0.56 mg/kg (▲), hesperidina 562.3 mg/kg (■) y la combinación de ketorolaco + hesperidina (0.56 mg/kg + 562.3 mg/kg) (◆).

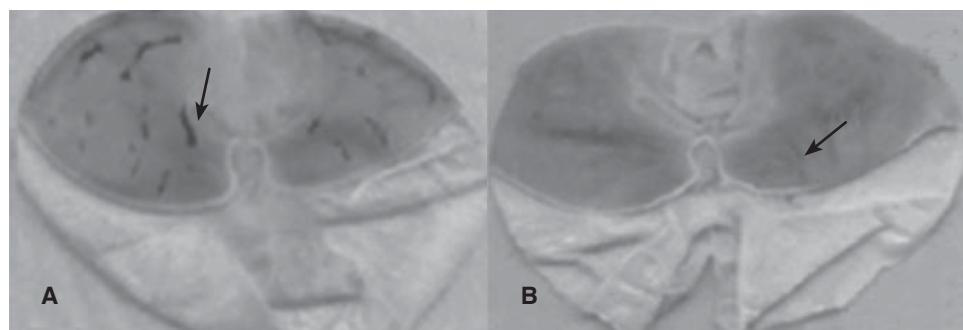


Figura 3.

(A) Fotografías representativas del daño gástrico observado en presencia de indometacina (20 mg/kg, i.p.) (B) en administración individual y de la combinación ketorolaco (0.56 mg/kg i.p.) + hesperidina (562.3 mg/kg i.p.) en ratas.

ketorolaco debido a que es un fármaco ampliamente utilizado en la clínica para el tratamiento del dolor moderado-severo⁽²⁹⁾.

El modelo experimental PIFIR, es un modelo experimental que reproduce nocicepción similar a la producida en el dolor que se presenta en pacientes con artritis gotosa⁽¹⁸⁾. Es un modelo validado para la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas para el tratamiento del dolor agudo y crónico de diversas intensidades, en el cual se produce inflamación aguda, nocicepción y disfunción de la extremidad administrada con ácido úrico⁽¹⁸⁾.

El análisis de «superficie de interacción sinérgica» es una herramienta de gran utilidad en farmacología para conocer a partir de una gama de diferentes proporciones de combinaciones, el tipo de interacción que se puede presentar entre dos compuestos. Además, permite detectar la o las combinaciones que son más útiles o eficaces, por el grado de efecto que se genera, para mostrar los diferentes grados de poten-

ciación o antagonismo de las combinaciones, identificando así aquella combinación con mayor grado de potenciación o mayor desarrollo de efecto antinociceptivo, es decir la combinación óptima por su grado de potenciación o por la eficacia antinociceptiva desarrollada⁽¹⁹⁾. Las dosis probadas en el análisis de interacción de la combinación del producto natural (hesperidina) y del analgésico seleccionado permitieron obtener un panorama completo del tipo de interacciones medicamentosas de estos compuestos, así como detectar la combinación más eficaz y la que genera el mayor grado de potenciación antinociceptiva (en este estudio coincidieron), de esta manera podemos valorar el potencial de estos compuestos en combinación en la terapéutica del dolor artrítico gotoso. Además el análisis de los efectos adversos gastrointestinales (úlceras) de la combinación que produjo los mejores efectos antinociceptivos, mostró que no aumenta el daño gástrico, es más, que disminuye, en relación al daño gastrointestinal que

genera ketorolaco solo. La administración de hesperidina en este estudio no produjo daño gástrico. Esto es muy importante ya que se pudo detectar la combinación que genera una interacción de potenciación de efectos antinociceptivos sin aumentar los efectos adversos.

El propósito de la combinación de fármacos analgésicos es optimizar los regímenes de dosificación para aumentar el efecto analgésico mientras los efectos adversos son disminuidos⁽²⁶⁾. Nuestros resultados están de acuerdo con lo reportado previamente por López-Muñoz y su grupo (2004), que demuestran que 1 mg/kg de ketorolaco produce 27% de daño gástrico como efecto adverso en ratas. En este estudio, sólo se observó una lesión gástrica de 2 mm² en una de seis ratas que fueron administradas con 0.56 mg/kg de ketorolaco. Sin embargo, en los animales que fueron administrados con la combinación más eficaz en producir efectos antinociceptivos, no se observó ningún daño gástrico. Estos resultados

corroboran la utilidad del análisis de superficie de interacción sinérgica para conocer el rango de dosis que poseen actividad antinociceptiva; así como las dosis de fármacos analgésicos que producirán el máximo efecto antinociceptivo (eficacia) o la potenciación óptima (alcanzando niveles de efectos antinociceptivos adecuados)⁽²⁶⁾. Este es el primer paso en el conocimiento de las interacciones de estos compuestos. Durante la realización de este estudio no se llevó a cabo ningún diseño experimental orientado a detectar los mecanismos que expliquen la potenciación antinociceptiva, o la disminución de los efectos adversos, estos estudios son necesarios y se llevarán a cabo más adelante.

En conclusión, la administración conjunta de hesperidina + ketorolaco promueve una respuesta antinociceptiva preferentemente de tipo adición y supraaditiva sin producir un aumento en los efectos adversos gastrointestinales, lo cual sugiere su potencial en la terapéutica del dolor artístico gótico.

REFERENCIAS

1. Linares-Borges A, Millán-Vázquez PM, Jiménez-Fernández L, Chala-Tandrón JM, Alermán-Aguilar H, Betancourt-Rodríguez BY et al. Interacciones medicamentosas. *Acta Farm Bonaerense*. 2002;21:139-148.
2. Morii S. Research for vitamin. *P J Biochem Tokyo*. 1939;29:487-501.
3. Fernández SP, Wasowski C, Paladini AC, Marder M. Synergistic interaction between hesperidin, a natural flavonoid, and diazepam. *Eur J Pharmacol*. 2005;512:189-198.
4. Guzmán-Gutiérrez SL, Navarrete A. Pharmacological exploration of the sedative mechanism of hesperidin identified as the active principle of *Citrus sinensis* flowers. *Planta Med*. 2009;75:295-301.
5. Hirata A, Murakami Y, Shoji M, Kadoma Y, Fujisawa S. Kinetics of radical-scavenging activity of hesperetin and hesperidin and their inhibitory activity on COX-2 expression. *Anticancer Res*. 2005;25:3367-3374.
6. Zhang YQ, Gao X, Ji GC, Huang YL, Wu GC, Zhao ZQ. Expression of 5-HT1A receptors mRNA in rat lumbar spinal dorsal horn neurons after peripheral inflammation. *Pain*. 2002;98:287-295.
7. Tanaka T, Makita H, Ohnishi M. Chemoprevention of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced oral carcinogenesis in rats by flavonoids diosmin and hesperidin, each alone and in combination. *Cancer Res*. 1997;57:246-252.
8. Galati EM, Monforte MT, Kirjavainen S, Forertier AM, Tripodo MM. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (note I): anti-inflammatory and analgesic activity. *Farmaco*. 1994;49:709-712.
9. Benavente-García O, Castillo J. Update and uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *J Agric Food Chem*. 2008;56:6185-6205.
10. Garg A, Garg S, Zaneveld LJD, Singla AK. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother Res*. 2001;15:655-669.
11. Kokkalou E, Kapetanidis I. Flavonoids of the aerial parts of *acinos suaveolens*. *Pharm Acta Helv*. 1988;63:170-173.
12. Al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn) and its therapeutic potentials. *Indian J Exp Biol*. 1999;3:124-130.
13. Altinier G, Sosa S, Aquino RP, Mencherini T, Della Loggia R, Tubaro A. Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* Linn. *J Agric Food Chem*. 2007;55:1718-1723.
14. Peng CH, Su JD, Chyau CC, Sung TY, Ho SS, Peng CC et al. Supercritical fluid extracts of rosemary leaves exhibit potent anti-inflammation and anti-tumor effects. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2007;71:2223-2232.
15. González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M et al. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* Linn: using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*. 2007;111:476-482.
16. Okamura N, Haraguchi H, Hashimoto K, Yagi A. Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochem*. 1994;37:1463-1466.
17. Martínez AL, González-Trujano ME, Chávez M, Pellicer F, Moreno J, López-Muñoz FJ. Hesperidin produces antinociceptive response and synergistic interaction with ketorolac in an arthritic gout-type pain in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2011;97:683-689.
18. López-Muñoz FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villarreal JE. A new model to assess analgesic activity: pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Dev Res*. 1993;28:169-175.
19. López-Muñoz FJ. Surface of synergistic interaction between dipyrone and morphine in the PIFIR model. *Drug Dev Res*. 1994;33:26-32.
20. Covino BG, Dubner R, Gybels J, Kosterlitz HW, Liebeskind JC, Sternbach RA et al. Ethical standards for investigation of experimental pain in animals. *Pain*. 1980;9:141-143.
21. Zimmermann M. The guidelines on ethical standards for investigation of experimental pain in animals. *Pain*. 1983;16:109-110.
22. Hernández-Delgadillo GP, López-Muñoz FJ, Salazar LA, Cruz SL. Morphine and dipyrone co-administration delays tolerance development and potentiates antinociception. *Eur J Pharmacol*. 2003;469:71-79.
23. Déciga-Campos M, Guevara U, Díaz MI, López-Muñoz FJ. Enhancement of antinociception by co-administration of an opioid drug (morphine) and a preferential cyclooxygenase-2 inhibitor (rofecoxib) in rats. *Eur J Pharmacol*. 2003;460:99-107.
24. López-Muñoz FJ, Godínez-Chaparro B, Huerta-Cruz JC, Guevara-López U, Domínguez-Ramírez AM, Cortés-Arroyo AR. The antinociceptive efficacy of morphine, metamizol, or their combination in an experimental rat model with different levels of inflammatory pain. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008;91:196-201.
25. De la O-Arciniega M, Díaz-Reval MI, Cortés-Arroyo AR, Domínguez-Ramírez AM, López-Muñoz FJ. Anti-nociceptive synergism of morphine and gabapentin in neuropathic pain induced by chronic constriction injury. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009;92:457-464.

26. López-Muñoz FJ, Díaz-Reval MI, Terrón JA, Déciga-Campos M. Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat. *Eur J Pharmacol.* 2004;484:157-165.
27. López JR, Domínguez-Ramírez AM, Cook HJ, Bravo G, Díaz-Reval MI, Déciga-Campos M et al. Enhancement of antinociception by co-administration of ibuprofen and caffeine in arthritic rats. *Eur J Pharmacol.* 2006;544:31-38.
28. Martínez AL, González-Trujano ME, Aguirre-Hernández E, Moreno J, Soto-Hernández M, López-Muñoz FJ. Antinociceptive activity of *Tilia americana* var. *mexicana* inflorescences and quercetin in the formalin test and in an arthritic pain model in rats. *Neuropharmacol.* 2009;56:564-571.
29. Forrest JB, Camu F, Geer IA, Kehlet H, Abdalla M, Bonnet F et al. Ketorolac, diclofenac, and ketoprofen are equally safe for pain relief after surgery. *Br J Anaesth.* 2002;88:227-233.