

## Desarrollo, evaluación y formulación farmacéutica sólida a partir de la combinación del flavonoide Rutina con Ibuprofeno.

Development, evaluation and formulation of a solid pharmaceutical product based on the combination of the flavonoid Rutin with Ibuprofen.

Mariana Rosiles Aguilera<sup>1</sup>, Avalos Ayala Ximena<sup>2</sup>, Gabriela Josefina López González<sup>3</sup>, Juan Ramón Zapata Morales<sup>4</sup>

<sup>1, 2, 4</sup> Lic. Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato.

<sup>3, 4</sup> Maestría en Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Guanajuato.

<sup>3</sup>Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

m.rosilesaguilera@ugto.mx<sup>1</sup>

x.avalosayala@ugto.mx<sup>2</sup>

gj.lopezgonzalez@ugto.mx<sup>3</sup>

juan.zapata@ugto.mx<sup>4</sup>

## Resumen

El dolor es un síntoma frecuente que puede ser acompañado en algunos casos con inflamación, se origina con un estímulo nocivo y causa una reacción inmediata de alarma. Para su tratamiento se utilizan antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y opioides, sin embargo, estos compuestos pueden originar efectos colaterales. Por tal motivo es importante continuar buscando moléculas que pudieran tener efecto analgésico y/o antiinflamatorio igual o mejor que los fármacos que se utilizan actualmente, pero con menores efectos colaterales. 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 manera individual y en combinación de Ibuprofeno, 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 e Ibuprofeno para obtener la dosis efectiva 50 (DE<sub>50</sub>) de manera individual y en combinación. Posteriormente, se realizaron comprimidos de la combinación entre Rutina e Ibuprofeno y se realizó las pruebas de control de calidad de producto terminado.

**Palabras clave:** dolor, Rutina, Ibuprofeno, efecto antinociceptivo, Análisis Isobolográfico, DE<sub>50</sub>

## Introducción

El dolor es una experiencia sensorial y emocional compleja asociada a daño tisular real o potencial, que representa uno de los principales motivos de consulta médica a nivel mundial. De acuerdo con la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor,<sup>1</sup> su persistencia o manejo inadecuado puede derivar en una reducción significativa de la calidad de vida de los pacientes, afectando su funcionalidad física, bienestar emocional y desempeño social. La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo considera un problema de salud pública, tanto por su prevalencia como por sus implicaciones clínicas, económicas y sociales.

Desde el punto de vista terapéutico, el tratamiento del dolor se basa principalmente en dos grandes grupos de fármacos: los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los opioides. Los AINEs, como el Ibuprofeno, diclofenaco y naproxeno, actúan mediante la inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2), lo que reduce la síntesis de prostaglandinas responsables del dolor, la fiebre y la inflamación. No obstante, su uso prolongado está asociado con efectos adversos como úlceras gástricas, nefrotoxicidad y riesgo cardiovascular<sup>2</sup>. Por otro lado, los opioides, como la morfina, son utilizados en casos de dolor intenso o crónico; sin embargo, su uso conlleva riesgos elevados de tolerancia, dependencia, depresión respiratoria y abuso.<sup>3, 4</sup>

Estas limitaciones han impulsado la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas que permitan mejorar la eficacia analgésica y reducir los efectos adversos. En este contexto, los compuestos de origen natural han

cochado relevancia. Uno de los más estudiados es la Rutina, un flavonoide presente en plantas como Ruta graveolens, cítricos y Cecropia hololeuca. La Rutina (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona-3-ramnoglucósido) ha demostrado poseer propiedades antinociceptivas, antiinflamatorias y antioxidantes, con un perfil de seguridad favorable frente a los analgésicos convencionales.

Estudios previos han revelado que la Rutina actúa modulando distintas vías de señalización implicadas en la percepción del dolor, incluyendo el sistema opioidérgico y la inhibición de rutas inflamatorias como p38-MAPK, NF- $\kappa$ B, COX-2 y la expresión de iNOS.<sup>5,6,7,8</sup> Además, su combinación con analgésicos convencionales como los AINEs puede generar efectos sinérgicos, lo que permite una reducción en las dosis necesarias de cada agente, disminuyendo así los efectos secundarios.

El presente proyecto, titulado, se enfoca en explorar esta sinergia como una alternativa terapéutica innovadora para el tratamiento del dolor. A través de estudios preclínicos en modelos murinos de dolor inducido por formalina, se evaluó la interacción farmacológica entre Rutina e Ibuprofeno. Se determinaron sus dosis efectivas (DE<sub>50</sub>), y mediante análisis isobolográfico se comprobó que la combinación produjo una inhibición del dolor significativamente mayor al efecto aditivo esperado.

Con base en estos hallazgos, se propone el desarrollo de una formulación sólida oral que combine Rutina e Ibuprofeno, con el objetivo de mejorar la eficacia analgésica, reducir las dosis requeridas y minimizar los efectos adversos asociados al uso crónico de AINEs. La combinación de un flavonoide natural con un fármaco sintético establecido representa un enfoque multifarmacológico con potencial clínico relevante. Los próximos pasos del proyecto incluyen la optimización de la formulación, estudios de estabilidad y evaluación farmacocinética, lo que abre camino hacia tratamientos más seguros, efectivos y accesibles para el manejo del dolor agudo y crónico.

## **Materiales y métodos**

### **Animales de experimentación**

Para la realización de la evaluación antinociceptiva 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).

### **Evaluación de la interacción analgésica**

Para la evaluación del efecto analgésico de la Rutina, Ibuprofeno 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<sup>8</sup>, 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), Ibuprofeno (10, 25, 50 y 100 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 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 (ED<sub>50</sub>) de los tratamientos con Rutina e Ibuprofeno 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 pos 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:

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

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

## 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/Ibuprofeno.

| Componente                     | Función               | Cantidad (g) |
|--------------------------------|-----------------------|--------------|
| Ibuprofeno                     | 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          |

Cantidades pesadas para la elaboración de 100 comprimidos con una dosis aproximada de 200 mg de Ibuprofeno y 100 mg de Rutina.

## Pesado de componentes:

Todos los componentes fueron pesados individualmente con precisión utilizando una balanza analítica.

## Mezclado en seco:

Todos los componentes fueron colocados en un mismo recipiente con tapa. La mezcla se realizó en un mezclador de cubo durante 15 minutos continuos para garantizar una distribución homogénea de todos los componentes. Este tiempo de mezclado extendido aseguró la completa integración de los componentes.

## Compresión

La mezcla final fue comprimida en una máquina de tabletas de un solo punzón, utilizando herramientas de compresión. La presión de compresión fue ajustada mediante pruebas preliminares para obtener tabletas con una dureza óptima entre 3-5 kgf

## 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 disolución 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

## Resultados y discusión

El efecto analgésico de Rutina, Ibuprofeno y la combinación de las  $DE_{50}$ , se cuantificó en términos del efecto antinociceptivo de cada dosis en la fase 2 (figuras 1), que corresponde con la presencia de mediadores químicos como la bradicidina, histamina, prostaglandinas, serotonina, taquicidinas, leucotrienos, entre otros<sup>8</sup>. El efecto encontrado para Rutina e Ibuprofeno fue dosis dependiente, alcanzándose un mayor porcentaje de antinocicepción para las dosis altas de ambos fármacos (Rutina 100 mg/kg-68.14% e Ibuprofeno 100 mg/kg 80.23%).

Las dosis efectivas 50 obtenidas por regresión lineal para Rutina e Ibuprofeno fueron  $DE_{50}$ =39.05 mg/kg y  $DE_{50}$ =36.17 mg/kg, respectivamente.

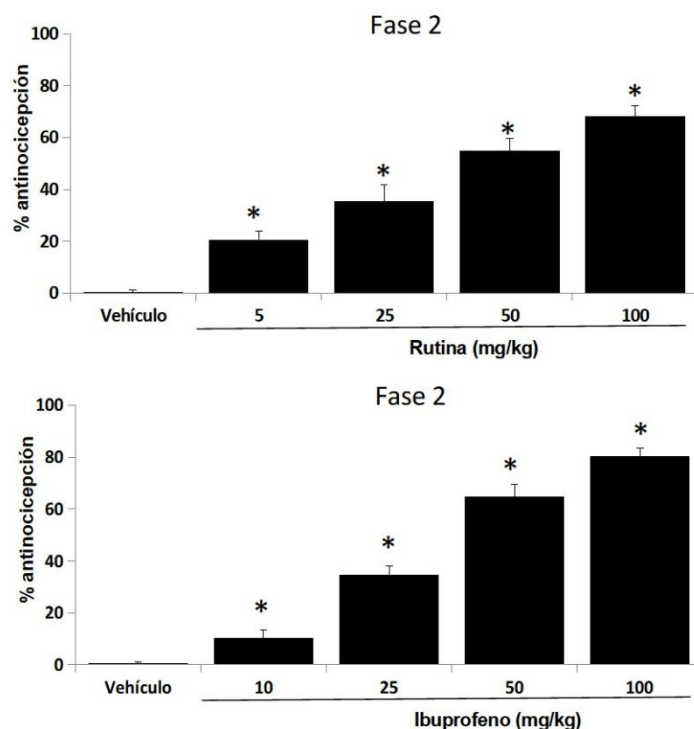


Figura 1. Efecto antinociceptivo en la fase 2 de Rutina e Ibuprofeno para distintas dosis en el modelo de formalina en ratones. Las barras representan el promedio  $\pm$  EEM (\* $P < 0.05$  vs vehículo).

De la evaluación de la combinación de las  $DE_{50}$  de Rutina e Ibuprofeno, se encontró un efecto porcentaje de antinocicepción del 62.78%, lo cual es un signo claro de la sinergia existente entre ambos fármacos (Figura 2).

El análisis isoblográfico de la coadministración de Rutina e Ibuprofeno 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 (37.61 mg/kg) y la experimental (23.78 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-Ibuprofeno presenta una interacción farmacológica de sinergismo de potenciación (figura 2). 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.<sup>9</sup>

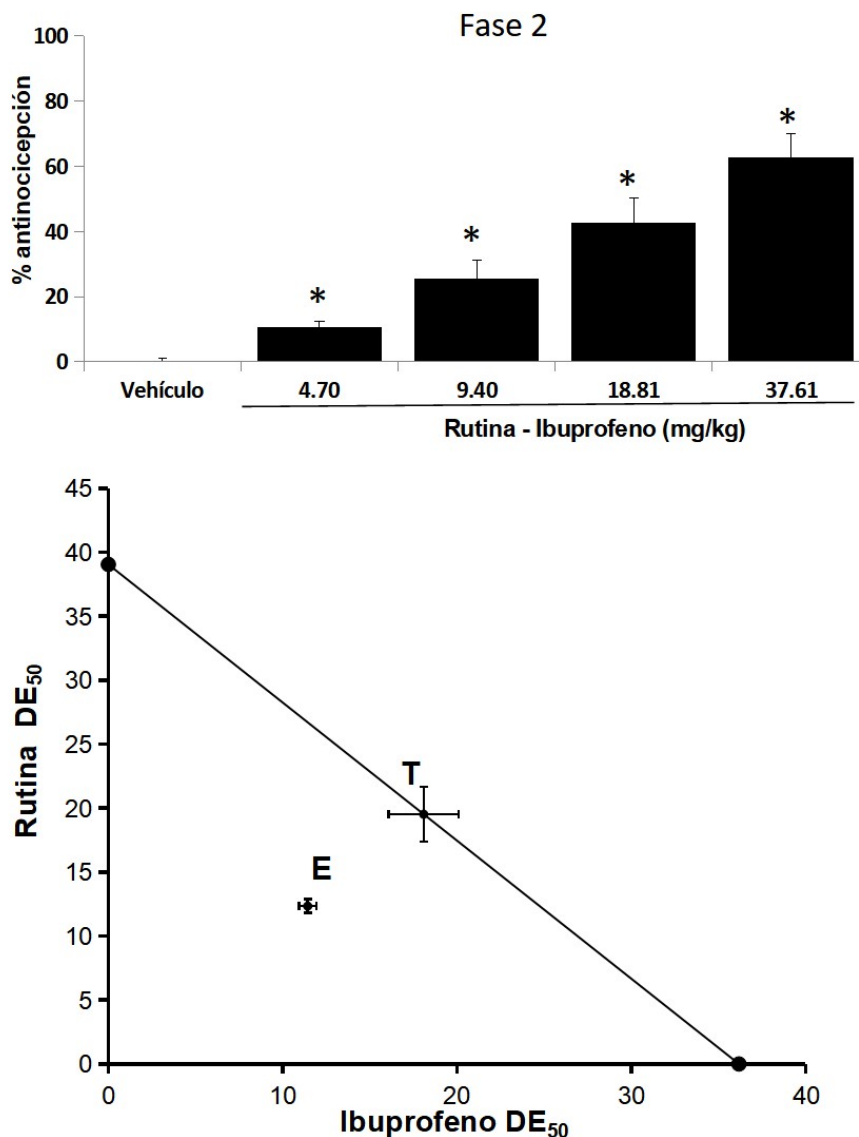


Figura 2 Efecto antinociceptivo en la fase 2 de Rutina e Ibuprofeno para distintas dosis en el modelo de formalina en ratones. Las barras representan el promedio  $\pm$  EEM (\* $P < 0.05$  vs vehículo) Parte superior. Parte inferior, Isoblograma que describe la interacción sinérgica entre Rutina e Ibuprofeno en el modelo de formalina en ratones. E= dosis experimental (23.78) y T= dosis teórica (37.61).

Una vez que se analizó la actividad antinociceptiva de la combinación Rutina/Ibuprofeno, se determinó si las características de los excipientes utilizados eran viables para la formulación. En la figura 3 se muestra una imagen demostrativa de las tabletas de el lote formulado 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 20 comprimidos en friabilidad y 10 en dureza, 20 comprimidos para uniformidad de peso. Los resultados se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** *Parámetros de calidad de los comprimidos en Ibuprofeno/Rutina.*

| Parámetro                | Valor Promedio                          | Desviación Estándar |
|--------------------------|-----------------------------------------|---------------------|
| Dureza (kgf)             | 6.56                                    | ± 2.16              |
| Uniformidad de peso (g)  | 0.492                                   | ± 0.029             |
| Friabilidad (%)          | 0.57                                    | -                   |
| Tiempo de desintegración | 3 Menos de 5 min.<br>3 Menos de 10 min. | -                   |



*Figura 3. Comprimidos de la combinación de Rutina/buprofeno*

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

La dureza promedio de  $6.56 \pm 2.16$  kgf indica que las tabletas poseen suficiente resistencia mecánica para su manipulación. La variabilidad observada podría estar relacionada con el proceso manual de compresión utilizado.

La uniformidad de peso (RSD 5.89%) 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 disolución completos (<10 minutos en todas las tabletas) son relevantes, ya que se trata de una formulación de liberación rápida.

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 e Ibuprofeno 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.

## Conclusiones

La combinación farmacológica de las dosis efectivas 50 de Rutina e Ibuprofeno demostró una disminución de la nocicepción en el modelo de la formalina; además dicha combinación presentó una interacción sinérgica de tipo potenciación, por lo cual podría ser utilizada a futuro como una nueva alternativa para el tratamiento del dolor con la utilización de un AINE (Ibuprofeno) y un flavonoide (Rutina).

En el presente proyecto se realizaron unos comprimidos de la combinación de Rutina con Ibuprofeno, los resultados obtenidos en el control de calidad de los comprimidos de la combinación de Ibuprofeno y Rutina demostraron que la formulación desarrollada cumple con los requerimientos farmacéuticos mínimos establecidos para este tipo de forma farmacéutica. La evaluación de las propiedades físicas mostró una dureza promedio de  $6.56 \pm 2.16$  kgf, indicando una resistencia mecánica un poco elevada para su manipulación y distribución. La uniformidad de peso presentó un coeficiente de variación del 5.89%, confirmando la homogeneidad en la dosificación de los principios activos, por lo que estos resultados servirían de base para realizar nuevas formas farmacéuticas de la combinación de Rutina con Ibuprofeno, o con otro tipo de AINE.

## Bibliografía/Referencias

1. Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, Keefe FJ, Mogil JS, Ringkamp M, Sluka KA, Song XJ, Stevens B, Sullivan MD, Tutelman PR, Ushida T, Vader K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*. 161(9):1976-1982. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001939. PMID: 32694387; PMCID: PMC7680716.
2. Alorfi NM.(2023). Pharmacological Methods of Pain Management: Narrative Review of Medication Used. *Int J Gen Med*. 16:3247-3256. doi: 10.2147/IJGM.S419239. PMID: 37546242; PMCID: PMC10402723.
3. Atkinson, T. J., & Fudin, J. (2020). Nonsteroidal antiinflammatory drugs for acute and chronic pain. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics*, \*31\*(2), 219–231. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2020.01.001>
4. Cao B, Xu Q, Shi Y, Zhao R, Li H, Zheng J, Liu F, Wan Y, Wei B. (2024). Pathology of pain and its implications for therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther*. 9(1):155. doi: 10.1038/s41392-024-01845-w. PMID: 38851750; PMCID: PMC11162504.
5. Zapata-Morales, J. R., Alonso-Castro, A. J., Muñoz-Martínez, G. S., Martínez-Rodríguez, M. M., Nambo-Arcos, M. E., Brennan-Bourdon, L. M., Aragón-Martínez, O. H., & Martínez-Morales, J. F. (2021). In vitro and in vivo synergistic interactions between the flavonoid rutin with paracetamol and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Archives of Medical Research*, 52 (6), Pages 611-619. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2021.03.007>
6. Rangel-Velázquez, J. E., Zapata-Morales, J. R., & Alonso-Contreras, Á. J. (2015). Evaluación del efecto antinociceptivo de Rutina para la determinación de la DE50 en 2 modelos preclínicos. *Jóvenes Investigadores*, 1(3), 1-5
7. Gervasi, T., Calderaro, A., Barreca, D., Tellone, E., Trombetta, D., Ficarra, S., Smeriglio, A., Mandalari, G., & Gattuso, G. (2020). Rutin: A flavonoid as an effective sensitizer for anticancer therapy; insights into multifaceted mechanisms and applicability for combination therapy. *Biomolecules*, 10(10), 1384. <https://doi.org/10.3390/biom10101384>
8. Hernández-León, A., Fernández-Guasti, A., & González-Trujano, M. E. (2016). Rutin antinociception involves opioidergic 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>
9. Jalali,F. , Alami,K. and Azizi,H. (2024). Assessing Inflammatory Pain in Animal Studies: An Overview of the Formalin Test. *Pathobiology Reserach*, 27(4), 7-14.