



Universidad Nacional Autónoma de México

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y ANALGÉSICA  
DEL NAPROXENO Y 5 ANÁLOGOS ESTRUCTURALES SINTÉTICOS EN  
RATÓN ICR Y PEZ CEBRA**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGA**

P R E S E N T A:

**AGATHA DENISEE TALAMANTES SANTILLAN**



Ciudad Universitaria, CD. MX.

2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Balderas López José Luis  
**VOCAL:** Roa Coria José Eduardo  
**SECRETARIO:** Velázquez Moyado Josué Arturo  
**1er. SUPLENTE:** Hernández León Alberto  
**2° SUPLENTE:** Sánchez Trujillo Luis Arturo

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Conjunto E,  
Departamento de Farmacia, Laboratorio 126

**ASESOR :** Dr. Balderas López José Luis

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE:** Agatha Denisee Talamantes Santillan

\_\_\_\_\_





## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

El presente trabajo fue gracias al financiamiento otorgado por la Dirección General de Asuntos Personales y Académicos (DGAPA) de la UNAM a través del proyecto PAPIIT-IN203122.

A la Facultad de Química a través del proyecto PAIP 5000-9143 y al proyecto CONACYT A1-S-9698.

## ÍNDICE

1. Resumen .....	9
2. Marco teórico .....	10
2.1 Inflamación .....	10
2.2 Dolor.....	11
2.3 Modelos de dolor e inflamación .....	12
2.4 Modelo de edema inducido por $\lambda$ -carragenina .....	13
2.4.1 Pletismómetro Digital .....	14
2.5 Prueba de la Formalina .....	15
2.6 Medicamentos analgésico antiinflamatorios no esteroides (AINE´s)...	15
2.6.1 Mecanismo de acción .....	15
2.7 Naproxeno y análogos .....	17
2.8 <i>Danio rerio</i> .....	19
2.9 Ratón ICR .....	20
3. Justificación .....	21
4. Hipótesis .....	22
5. Objetivos .....	22
5.1 Objetivo general .....	22
5.2 Objetivos específicos .....	22
6. Materiales y métodos .....	23
6.1 Fármacos y reactivos .....	23
6.2 Animales de experimentación .....	23
6.3 Diseño experimental .....	24
6.3.1 Agrupación y administración del fármaco.....	24
6.3.2 Efecto analgésico .....	25
6.3.3 Actividad antiinflamatoria .....	25
6.3.3.1 Edema de la pata en ratón inducida por $\lambda$ -carragenina al 3%.....	25
6.3.3.2 Edema abdominal en pez inducido por $\lambda$ -carragenina al 3%.....	26

7. Resultados .....	27
7.1 Evaluación de la analgesia .....	27
7.2 Evaluación de la actividad antiinflamatoria .....	33
7.2.1 Actividad antiinflamatoria en ratón.....	33
7.2.2 Actividad antiinflamatoria en pez cebra .....	36
8. Discusión .....	39
9. Conclusiones .....	43
10. Referencias .....	45



## Abreviaturas empleadas

AAINE´s	analgésicos antiinflamatorios no esteroideos
COX	ciclooxigenasa
ICR	Institute of Cancer Research / Instituto de investigación de cancer
IL-1 $\beta$	Interleucina 1-beta
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
FDA	Food and Drug Administration / Administración de Alimentos y Medicamentos
PGG2	Prostaglandina G2
PGH2	Prostaglandida H2
FES	Facultad de Estudios Superiores
EEM	Error estándar de la media
ANOVA	Analysis of Variance / Análisis de varianza
SS	Solución salina

## 1. Resumen

Los medicamentos analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AAINE's) han sido ampliamente recetados para aliviar el dolor y reducir la inflamación en pacientes con afecciones crónicas como artritis, gota y migraña. Estos medicamentos inhiben las enzimas ciclooxigenasas (COX), disminuyendo la síntesis de prostaglandinas, que son mediadoras del dolor. Aunque se creía que los beneficios de los AAINE's se relacionaban con la inhibición de COX-2, que reduce la inflamación, sus efectos gastrointestinales adversos han impulsado la búsqueda de alternativas más seguras.

En este estudio, se analizaron análogos estructurales del naproxeno para evaluar su efecto analgésico y antiinflamatorio. Se emplearon ratones ICR y peces cebra para determinar los efectos en nocicepción e inflamación, respectivamente. Se utilizaron modelos específicos para la evaluación, como el dolor inducido por formalina al 2.5% para el efecto analgésico y edema de pata en ratones y edema abdominal en peces cebra inducidos por  $\lambda$ -carragenina al 3% para el efecto antiinflamatorio.

Se administraron 5 análogos del naproxeno a dosis de entre 1 y 100 mg/kg y el naproxeno a una dosis de 32 mg/kg. Los resultados obtenidos en la prueba con formalina al 2.5% revelaron que todos los compuesto mostraron efecto analgésico. Además, los compuesto B y D mostraron efecto antiinflamatorio en el modelo de edema abdominal en pez cebra. Por lo tanto, se puede concluir que los compuestos B y D podrían considerarse como agentes analgésicos y antiinflamatorios, lo que podría contribuir al desarrollo de tratamientos más efectivos y seguros para el alivio del dolor y la inflamación.

## **2. Marco teórico**

### **2.1 Inflamación**

Cuando el cuerpo recibe estímulos dañinos, como patógenos invasores, o heridas, el sistema inmunológico se activará y se desencadena una respuesta inflamatoria. Esta respuesta es inducida por receptores de reconocimiento de patrones (PRR), como los receptores Toll-Like (TLR), que reconocen patrones en moléculas características de microbios, o moléculas liberadas por células dañadas (DAMP). Posteriormente, las células inmunitarias liberan citocinas proinflamatorias, como IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , que a su vez estimulan la síntesis y liberación de mediadores inflamatorios, incluidas quimiocinas y prostaglandinas. Los leucocitos dirigidos por los gradientes de quimiocinas, los leucocitos migran hacia el sitio inflamado para lidiar con el tejido dañado o los microorganismos invasores. Estos cambios a nivel molecular darán lugar a los cinco síntomas clásicos de la inflamación: calor, dolor, enrojecimiento, hinchazón y finalmente, pérdida de la función. Normalmente, los procesos inflamatorios terminan activamente mediante la reprogramación funcional de las células involucradas, lo que da como resultado la restauración de la homeostasis (1).

Considerando que, la inflamación crónica generalmente se caracteriza por una destrucción sustancial y recuperación de los tejidos lesionados de una respuesta inflamatoria. Si no se controla, la inflamación puede provocar numerosos estados patológicos como la artritis reumatoide, la esclerosis múltiple, la enfermedad inflamatoria intestinal, la psoriasis, las enfermedades inmunoinflamatorias y las transformaciones neoplásicas. Además, la inflamación crónica también está relacionada con varios pasos de la tumorigénesis y se reconoce como un factor de riesgo para la aparición de diferentes tipos de cáncer. Muchas enfermedades crónicas se manifiestan por la presencia de inflamación sostenida de bajo grado (2). Por ejemplo, la gente con enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, tiene un riesgo mayor de cáncer de colon (3). El tratamiento de las enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis

reumatoide y las enfermedades inflamatorias del intestino sigue siendo un desafío debido a la falta de fármacos seguros y eficaces (2).

## **2.2 Dolor**

La capacidad de percibir una sensación dolorosa es esencial para la sobrevivencia y bienestar de un organismo (4). La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define al dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con un daño tisular real o potencial, o descrita en términos de dicho daño” (5).

El término «nocicepción» se deriva de *noci* (palabra latina que denota daño o lesión) y es usado para describir sólo la respuesta neural a los estímulos traumáticos o nocivos. El dolor nociceptivo se produce por estimulación de los receptores sensitivos específicos o nociceptores localizados con densidad variable en tejidos como la piel, los músculos, las articulaciones y las vísceras. Es precisamente la variación de la densidad de presentación de la población de estos receptores en los tejidos, lo que marca la diferencia sensorial (6).

Las fibras nociceptoras son las A-δ y las C. Las A-δ son fibras mielínicas de conducción rápida activadas por receptores térmicos, mecanotérmicos y mecanorreceptores de alto umbral. Las fibras C se diferencian de las A-δ en que son amielínicas, de conducción lenta y con un campo de receptividad menor. Las fibras C presentan la mayoría de los nociceptores periféricos, y la mayoría de ellas son neuronas polimodales, es decir, pueden reaccionar ante estímulos mecánicos, térmicos o químicos (6).

El dolor es la principal causa de discapacidad y carga de enfermedad en todo el mundo. Particularmente cuando es crónico, reduce significativamente la salud y la calidad de vida de las personas. Además, predispone al suicidio. Por lo tanto, es un grave y costoso problema de salud pública (7). Hay una amplia gama de medicamentos disponibles contra el dolor, como los antiinflamatorios no esteroideos

(AINE's), los opioides, los esteroides y adyuvantes. Sin embargo, su tratamiento dista mucho de ser adecuado, lo que conduce a un mal control del dolor y al sufrimiento. Debido a la prevalencia del dolor, el uso prolongado y las dosis altas de analgésicos pueden inducir efectos adversos y toxicidad a los pacientes. Además, el paciente puede tener como resultado una capacidad funcional deficiente y una calidad de vida disminuida (7).

## **2.3 Modelos de dolor e inflamación**

### **Prueba Tail Flick**

La prueba de movimiento de cola, donde se aplica un estímulo de calor y se registra la latencia para retirar la cola. La prueba del movimiento de la cola es un reflejo espinal que ocurre en animales espinalizados; sin embargo, la latencia del movimiento de la cola se ve modificada por el tronco del encéfalo y los sitios corticales (8).

### **Prueba Hot-Plate**

La prueba de la placa caliente, que consiste en registrar la latencia para retirar la pata de la placa caliente o para lamerla. Se cree que el acto de elegir qué pata levantar para evitar la placa caliente requiere estructuras supraespinales, lo que indica que la prueba de la placa caliente va más allá de los reflejos nocifensivos y requiere integración en estructuras superiores (8).

### **Prueba Hargreaves**

La prueba de Hargreaves se desarrolló para ofrecer una prueba más localizada de sensibilidad al calor e implica la aplicación de calor a la pata trasera de los roedores. La prueba de Hargreaves presenta un beneficio sobre la prueba de placa caliente en algunos modelos de dolor porque se puede probar una pata de control y una experimental en el mismo animal (8).

### **Prueba de escape térmico**

La prueba brinda a los roedores la oportunidad de indicar preferencia por escapar de estímulos térmicos. El aparato está construido con una caja de dos cámaras donde se puede manipular la temperatura del piso de cada cámara y se registra la preferencia de lugar o la latencia para retirarse de la plataforma. Esto es diferente de las pruebas con placas calientes, en las que a los animales se les presenta una única temperatura del suelo de la que no pueden escapar (8).

### **Edema de oído inducido por oxazolona en ratones**

El edema de oído inducido por oxazolona en ratones es un modelo de hipersensibilidad por contacto retardado que permite la evaluación cuantitativa de la actividad antiinflamatoria tópica y sistémica de un compuesto después de la administración tópica. La exposición repetida a oxazolona aumentó el nivel de citocinas Th2 y disminuyó el de una citocina Th1 en la piel lesionada. Las citocinas Th2, especialmente la IL-4, desempeñan un papel importante en el desarrollo de la dermatitis en el presente modelo de ratón (9).

#### **2.4 Modelo de edema inducido por $\lambda$ -carragenina**

El modelo de edema inducido por carragenina es ampliamente utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria de compuestos naturales y sintéticos. La carragenina, un agente flogístico no antigénico, no causa efectos sistémicos visibles, pero sus azúcares sulfatados activan el sistema del complemento y mediadores inflamatorios (2). La inflamación se inicia con la estimulación de la fosfolipasa A2 por la carragenina, desencadenando la fase temprana, mientras que los efectos citotóxicos contribuyen al progreso de la inflamación. La dilatación de las vénulas poscapilares debido a la carragenina ocasiona la exudación de líquido y células inflamatorias, involucrando la liberación de varios mediadores proinflamatorios. La inhibición de estos eventos marca el fin del proceso inflamatorio en la fase exudativa temprana. El modelo de carragenina está estrechamente relacionado con la activación de la vía de la ciclooxygenasa. En este contexto, los glucocorticoides y

los antagonistas de las prostaglandinas exhiben actividad antiinflamatoria en este modelo preclínico (2).

### 2.4.1 Pletismómetro Digital

El Pletismómetro Digital LE 7140 (Ugo Basile) es un instrumento utilizado para determinar la variación de volumen de las extremidades de roedores, midiendo la diferencia de nivel de líquido al introducir la extremidad en un depósito. La introducción de un tejido (u objeto) en el recipiente cambia el nivel de líquido y la conductividad entre dos electrodos de platino previamente introducidos en el recipiente. Este cambio se expresa en mililitros con una resolución de 0.01 mL (10).



**Figura 1.** Pletismómetro Digital, modelo 7140 (Ugo Basile)

## **2.5 Prueba de la Formalina**

La prueba de la formalina es un ensayo experimental utilizado para evaluar el comportamiento nociceptivo en ratones. La formalina activa las neuronas sensoriales aferentes primarias a través de una acción específica y directa sobre TRPA1, un miembro de la familia de canales catiónicos de potencial receptor transitorio que se expresa altamente por un subconjunto de nociceptores de fibras C (11). Esta prueba ha sido ampliamente utilizada desde su descripción original en los años setenta y se adapta a diferentes objetivos de estudio. La prueba de formalina es una herramienta poderosa en la investigación preclínica para desarrollar nuevos fármacos analgésicos. Permite cuantificar objetivamente el comportamiento asociado al dolor y estudiar diferentes tipos de dolor, lo que brinda la oportunidad de investigar diversos analgésicos y comprender mejor su mecanismo de acción a lo largo del neuroeje del dolor (12).

## **2.6 Medicamentos analgésico antiinflamatorios no esteroideos (AAINE's)**

Los medicamentos analgésico antiinflamatorios no esteroideos (AAINE's) son una clase de medicamentos aprobados por la FDA para su uso como agentes antipiréticos, antiinflamatorios y analgésicos. Estos efectos hacen que los AAINE's sean útiles para tratar del dolor muscular, la dismenorrea, las afecciones artríticas, la pirexia, la gota, las migrañas y se usan como agentes para reducir el uso de opioides en ciertos casos de trauma agudo (13).

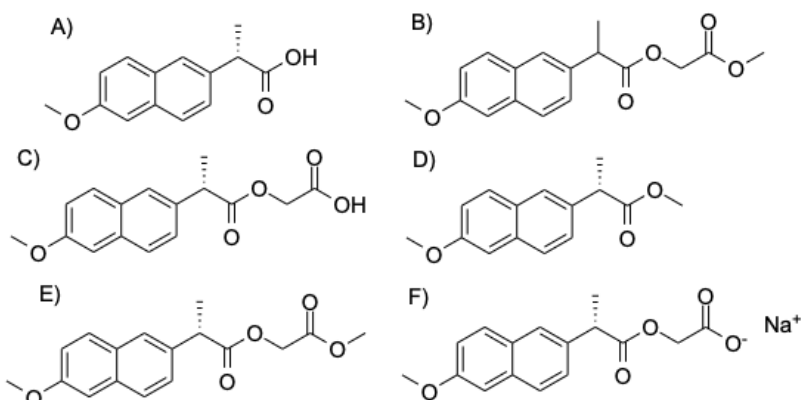
### **2.6.1 Mecanismo de acción**

La principal acción de los AAINE's se basa en la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX), que es fundamental para convertir el ácido araquidónico en tromboxanos, prostaglandinas y prostaciclina. Estos eicosanoides cumplen diversas funciones en el organismo. Por ejemplo, los tromboxanos intervienen en la adhesión plaquetaria, mientras que las prostaglandinas son responsables de la vasodilatación, así como de elevar el punto de referencia de la temperatura en el hipotálamo y desempeñar un papel en la nocicepción (13).



Los AINE's no selectivos como el ibuprofeno, el naproxeno, la nimesulida y el sulindaco causan efectos secundarios graves. El sangrado gastrointestinal, las úlceras pépticas, las úlceras duodenales, la hipertensión, la dispepsia y los accidentes cerebrovasculares son efectos secundarios generalizados que representan desafíos importantes en el manejo del dolor. La COX-1 es constitutiva y se expresa principalmente en las plaquetas, en los riñones, la mucosa gástrica y los pulmones. La COX-2 muestra una expresión constitutiva baja en el cerebro, riñón, tracto GI y timo. La mayor parte de la COX-2 es inducida por estímulos inflamatorios. La expresión elevada de COX-2 reduce el umbral del dolor a través de la producción de PG y, a la larga, allana el camino para las enfermedades relacionadas con la inflamación. Una vía reguladora compleja controla la inflamación, con las dos isoformas (principales) de la COX desempeñando un papel modulador y en parte controvertido. Una reducción de la síntesis de prostaglandinas PGG<sub>2</sub> y PGH<sub>2</sub> a través de la inhibición de COX1/2 por los AINE's no selectivos y la subsiguiente reducción de la función de la mucosa conduce al daño del tracto gastrointestinal. Por otro lado, la COX-2 juega un papel esencial en la regulación de la función renal. Por lo tanto, en pacientes con riesgo de isquemia renal, cirrosis hepática, insuficiencia renal, trastornos cardiovasculares e insuficiencia cardíaca congestiva, los inhibidores de la COX-2 muestran efectos secundarios graves y se requiere vigilancia. Cuando la síntesis de prostaglandinas es bloqueada por la inhibición de la COX, el ácido araquidónico (AA) es metabolizado por la vía alternativa de la lipoxigenasa (LOX). Los leucotrienos generados están asociados con asma y reacciones alérgicas y deben tenerse en cuenta para el perfil de seguridad de los AINE's. Dada la importante situación proinflamatoria en muchos pacientes, los inhibidores selectivos de la COX-2 han estado entre los fármacos más utilizados, lo que indica la gran relevancia de la búsqueda de fármacos seguros y eficaces y la necesidad de un mayor desarrollo de fármacos dirigidos a tratar la inflamación y el dolor (14,15).

## 2.7 Naproxeno y análogos



**Figura 2.** Estructuras químicas del naproxeno y sus análogos utilizados en este estudio. A) naproxeno (ácido (S)-2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanoico), B 2-[(2-(6-metoxinaftalen-2-il)propanoil] oxiacetato de metilo), C (ácido 2-[(S)-2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanoil] oxiacético), D ((S)-2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanoato de metilo), E (2-[(S)-2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanoil] oxiacetato de metilo) y F (2-[(S)-2-(6-metoxinaftalen-2-il) propanoil] oxiacetato de sodio) análogos sintetizados por el Dr. Adelfo Natalio Reyes Ramírez.

El naproxeno es un derivado del ácido propiónico con actividad analgésica y antiinflamatoria (16). El naproxeno se aprobó inicialmente en 1976 para su uso con receta y siguió siendo un medicamento recetado hasta que recibió la aprobación como medicamento de venta libre (OTC) en 1994. Ha sido aprobado por la FDA para tratar gota aguda, espondilitis anquilosante, bursitis, artritis idiopática juvenil polioarticular, osteoartritis, tendinitis, artritis reumatoide, dolor y dismenorrea primaria (17).

Se propone que su acción está relacionada con su inhibición de la ciclooxigenasa (COX), lo que conduce a una reducción de la concentración de prostaglandinas en diferentes tipos de tejidos y fluidos. Se ha informado que el naproxeno y otros ácidos aroil propiónicos causan problemas gastrointestinales debido a la presencia de un grupo carboxílico libre en el compuesto original. Por lo tanto, el enmascaramiento de este grupo ácido puede ser un medio prometedor para disminuir o eliminar la toxicidad gastrointestinal (18).

El término análogo, derivado del latín y griego analogía, se ha utilizado en las ciencias naturales desde 1791 para describir la similitud estructural y funcional. Extendida a los fármacos, esta definición implica que el análogo de una molécula de fármaco existente comparte similitudes químicas y farmacológicas con el compuesto original. Formalmente, esta definición permite establecer tres categorías de análogos de fármacos: análogos que poseen similitudes químicas y farmacológicas (análogos directos); análogos que poseen similitudes estructurales únicamente (análogos estructurales); y compuestos químicamente diferentes que muestran propiedades farmacológicas similares (análogos funcionales) (19).

En este orden de ideas, se han obtenido análogos de naproxeno mediante síntesis química en la FES Zaragoza. En cuanto a la estructura (Figura 1) de los compuestos B, C, D, E y F, se observa que todos ellos contienen una cadena lateral similar al naproxeno, que es el grupo (6-metoxinaftalen-2-il), lo que sugiere que podrían mantener la actividad antiinflamatoria característica del naproxeno. Sin embargo, las modificaciones realizadas, como la introducción de grupos éster y la sustitución del grupo metoxi con un átomo de sodio en el compuesto F, pueden alterar las propiedades fisicoquímicas y potencialmente influir en la actividad farmacológica, incluida la interacción con la enzima COX-2.

Como referencia de esta modificación tenemos a la acetaminofén (ácido 2-[2-[1-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metilindol-3-il]acetil]oxiacético) derivado carboxi-metil éster de la indometacina (ácido 2-[1-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metilindol-3-il]acético) mediante cambios en el grupo alfa metilo del ácido indol-3-acético, en el grupo carboxilo (20). La acetaminofén es un débil inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, afecta de manera preferencial la COX-2 y en mucho menor grado la COX-1, esto le confiere la propiedad de inhibir la síntesis de las prostaglandinas relacionadas a la reacción inflamatoria, pero afecta muy poco a las relacionadas con la fisiología celular; además, inhibe serotonina, bradicina e histamina, que son conocidos mediadores de la inflamación. La potente inhibición de COX-2 y la débil inhibición de COX-1, hacen que tenga un perfil de baja toxicidad renal y gástrica, pero potente efecto antiinflamatorio y analgésico (20).

## **2.8 *Danio rerio***

El pez cebra (*Danio rerio*) es una especie de pez de agua dulce perteneciente a la familia de los pececillos en el orden Cypriniformes. Es originario del sudeste asiático y alcanza un tamaño de aproximadamente 2.5 - 4 cm de longitud. Debido a su popularidad como pez de acuario, es fácil de adquirir y es económico (21).

Han demostrado varias ventajas sobre otras especies y puede ser una alternativa al uso de roedores o brindar información adicional cuando se utiliza como modelo para estudios de enfermedades inflamatorias, estudios farmacológicos y toxicológicos e incluso el estudio de nuevos fármacos. Entre las ventajas de utilizar el pez cebra para el desarrollo de fármacos cabe destacar la capacidad reproductiva de estos animales dando como resultado un elevado número de individuos pertenecientes a un mismo desove, embriones transparentes, bajo coste de cría y alta similitud genética que favorecen las respuestas traslacionales, a organismos vertebrados como los humanos. El genoma del pez cebra se ha secuenciado por completo y comparte una gran similitud con el genoma humano (22).

Otra de las ventajas del pez cebra es su capacidad para tolerar agua con bajo contenido de iones. En los últimos años, el pez cebra ha ganado reconocimiento como un modelo experimental destacado, debido a sus múltiples similitudes con los seres humanos, incluyen factores genéticos, orgánicos y celulares. En un entorno en el que surgen técnicas de investigación novedosas pero costosas, resulta necesario desarrollar modelos experimentales accesibles y confiables. El pez cebra ha demostrado ser un excelente modelo para estudiar una variedad de procesos fisiopatológicos, como la organogénesis, embriogénesis y carcinogénesis. Además, su tamaño relativamente pequeño y su apariencia visual llamativa permiten una observación integral del animal (21).

## **2.9 Ratón ICR**

El ratón ICR fue desarrollado en 1948 en el Instituto de Investigación del Cáncer (ICR) en Filadelfia (23). Estos ratones son una de las poblaciones exogámicas más comúnmente disponibles porque tienen un buen rendimiento reproductivo, son económicos, robustos y crecen rápidamente. En particular, se utilizan ampliamente en diversos campos de investigación, como toxicología, cáncer, farmacología, así como en pruebas de seguridad de productos, experimentos de transgénesis y mapeo genético de ratones (24,25).

### **3. Justificación**

Las enfermedades inflamatorias, como las enfermedades reumáticas, son un problema global de salud que afecta a la mayoría de la población. Aunque hay medicamentos disponibles para tratar estas enfermedades, su uso prolongado puede tener efectos adversos graves. Los AAINE´s son utilizados comúnmente para reducir la inflamación al inhibir la COX y la producción de prostaglandinas. Sin embargo, el uso crónico de AAINE´s está asociado con toxicidades cardiovasculares, gastrointestinales y renales, mientras que los corticosteroides pueden causar otros efectos secundarios perjudiciales. Por tanto, existe un interés en desarrollar agentes antiinflamatorios más seguros (2).

Lo anterior abre la posibilidad de estudiar análogos del naproxeno y determinar mediante las metodologías experimentales en pez cebra y ratón ICR, las actividades de analgesia y antiinflamación para posteriormente determinar el posible daño en la mucosa gástrica. De esta manera se pretende encontrar sustancias con actividad analgésica y/o antiinflamatoria con poco o nulo efecto gastrotóxico.

## **4. Hipótesis**

Se propone que los análogos estructurales del naproxeno demuestren efectos antiinflamatorios y analgésicos iguales o superiores al naproxeno en los modelos de nocicepción por formalina en ratones y edema inducido por carragenina en ratones y peces cebra.

## **5. Objetivos**

### **5.1 Objetivo General**

Determinar la actividad antiinflamatoria y analgésica del naproxeno y sus análogos estructurales, en los modelos de nocicepción por formalina y edema inducido por carragenina.

### **5.2 Objetivos específicos**

- Determinar el efecto analgésico del naproxeno y de 5 análogos estructurales en un modelo de nocicepción inducido por formalina al 2.5% en ratón ICR.
- Determinar el efecto antiinflamatorio del naproxeno y de 5 análogos estructurales en un modelo de edema de la pata en ratón ICR inducido por  $\lambda$ -carragenina al 3%.
- Determinar el efecto antiinflamatorio del naproxeno y de 5 análogos estructurales en un modelo de edema abdominal en peces cebra inducido por  $\lambda$ -carragenina al 3%.

## **6. Materiales y métodos**

### **6.1 Fármacos y reactivos**

Los 5 análogos del naproxeno fueron sintetizados y caracterizados por el Dr. Adelfo Natalio Reyes Ramírez de la FES Zaragoza, UNAM. Naproxeno sódico,  $\lambda$ -carragenina y formaldehído adquiridos de Merck México.

### **6.2 Animales de experimentación**

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química, UNAM, Oficio FQ/CICUAL/400/20.

Los experimentos de evaluación del efecto analgésico, mediante el modelo de nocicepción inducido por formalina al 2.5 %, y el efecto antiinflamatorio, mediante el edema inducido con  $\lambda$ -carragenina al 3%, se realizaron en ratón ICR machos con un peso de 25-30 g, los animales se obtuvieron del bioterio de la FES Zaragoza de la UNAM y se mantuvieron a una temperatura constante de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , con ciclos de luz/obscuridad de 12 horas y con acceso *ad libitum*, agua y comida. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Los Peces cebra (*Danio rerio*) empleados, fueron de sexo indistinto con un peso de 0.5 -1.0 g. Los animales se adquirieron del Acuario Medina, Ciudad de México. Se mantuvieron en una pecera de 40 L provista de aereación, control de temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , alimentación cada 12 horas con una dieta comercial y un ciclo de luz/obscuridad de 14/12 horas. La aclimatación se llevó a cabo una semana antes del inicio de la investigación.



## 6.3 Diseño experimental

### 6.3.1 Agrupación y Administración de fármacos

Los ratones fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de al menos 6 individuos. Para el modelo de dolor, se administró solución salina al 0.9% y formalina al 2.5% vía subcutánea como control, y naproxeno a una dosis de 32 mg/kg como testigo (control positivo). Los grupos de prueba recibieron dosis de 3.2 mg/kg, 10 mg/kg, 32 mg/kg y 100 mg/kg de los análogos estructurales del naproxeno, respectivamente. Las dosis fueron seleccionadas logarítmicamente. Todos los fármacos fueron administrados por la vía i.p.

En el modelo de edema de la pata en ratón ICR inducido por  $\lambda$ -carragenina al 3%, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de al menos 6 individuos. El grupo de control recibió solución salina al 0.9% y  $\lambda$ -carragenina al 3% vía subcutánea, mientras que el testigo (control positivo) recibió naproxeno base a una dosis de 32 mg/kg. Los grupos de prueba recibieron dosis de 1 mg/kg, 3.2 mg/kg, 10 mg/kg, 32 mg/kg y 100 mg/kg de los análogos estructurales del naproxeno, respectivamente. La administración de todos los fármacos se realizó por la vía i.p.

En el modelo de edema del abdomen de pez cebra inducido por  $\lambda$ -carragenina al 3%, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de al menos 6 individuos. El grupo de control recibió solución salina al 0.9% y  $\lambda$ -carragenina al 3% vía intraperitoneal. Los grupos de prueba recibieron naproxeno a una dosis de 32 mg/kg y dosis de 10 mg/kg, 32 mg/kg y 100 mg/kg de los análogos estructurales del naproxeno, respectivamente. La administración de todos los fármacos se realizó por vía intraperitoneal. Los fármacos fueron solubilizados en SS con tween 80. La administración se llevó a cabo utilizando una jeringa de insulina de 0.03 mL provista con una aguja 31G de 6mm, con un volumen de administración (20  $\mu$ L por cada gramo de peso), después de la anestesia del animal mediante hipotermia.

### **6.3.2 Efecto analgésico**

#### **Modelo de dolor en ratón ICR inducido por formalina al 2.5%**

Los animales se colocaron individualmente en cámaras de observación abiertas (cilindros de acrílico de 30 cm de diámetro con 40 cm de altura) equipadas con espejos de 40 x 40 cm durante 30 minutos para aclimatarse. A los 30 minutos, se inyectó el tratamiento. Después de 30 minutos se inyectó la formalina al 2.5% de manera subcutánea de la superficie dorsal de la pata trasera derecha usando una microjeringa. El comportamiento nociceptivo se observó inmediatamente después de la administración se cuantificó como el tiempo de lamidas/mordisqueos. Estos fueron registrados por periodos de 5 minutos durante 45 minutos. La disminución de lamida/mordisqueo fue interpretada como un efecto antinociceptivo en este modelo.

### **6.3.3 Actividad antiinflamatoria**

#### **6.3.3.1 Edema de la pata en ratón ICR inducido por $\lambda$ -carragenina al 3%**

El tratamiento (vehículo, fármaco) se administró vía sc, los animales se colocaron individualmente para aclimatarse. La inflamación se indujo mediante la administración de 20  $\mu$ L de  $\lambda$ -carragenina al 3% de manera subcutánea en la parte palmar de la pata trasera derecha del ratón, cada sustancia de prueba (fármacos y vehículo) se administró media hora antes de la inyección de  $\lambda$ -carragenina al 3%. Se evaluó la intensidad del desarrollo del edema y su duración mediante mediciones del volumen de la pata trasera derecha del ratón utilizando un pletismómetro 7140 (Ugo Basile). Las mediciones se realizaron antes de la inducción del edema (volumen inicial) y 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas después de la inyección de  $\lambda$ -carragenina al 3%. Calculando el porcentaje de aumento en el volumen de la pata, se pudo evaluar la intensidad del edema. El volumen inicial se tomó como el 100%.

### **6.3.3.2 Edema abdominal en pez cebra inducido por $\lambda$ -carragenina al 3%**

La inflamación se indujo mediante la administración intraperitoneal de  $\lambda$ -carragenina al 3% en el abdomen del pez cebra, cada sustancia de prueba ( fármacos y vehículo) se administró media hora antes de la inyección de  $\lambda$ -carragenina al 3%. Se evaluó la intensidad del desarrollo del edema y su duración mediante mediciones del volumen del cuerpo del pez hasta la base de la aleta trasera utilizando un pletismómetro 7140 (Ugo Basile). Las mediciones se realizaron antes de la inducción del edema (volumen inicial) y 1, 2, 3, 4 horas después de la inyección de  $\lambda$ -carragenina al 3% intraperitoneal. Calculando el porcentaje de aumento en el volumen se evaluó la intensidad del edema. El volumen inicial se tomó como el 100%.

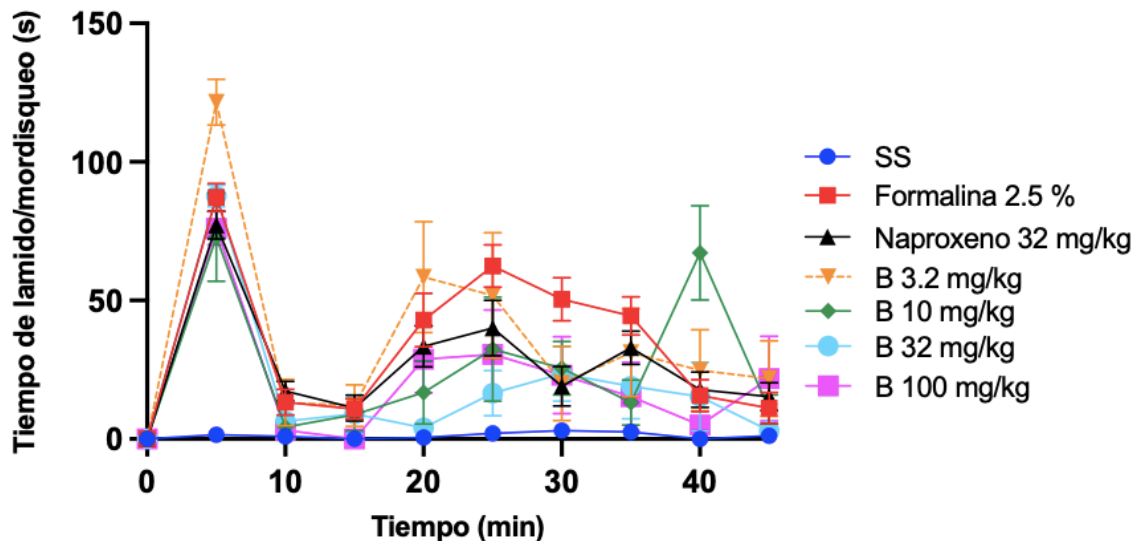
## 7. Resultados

### 7.1 Evaluación de la analgesia

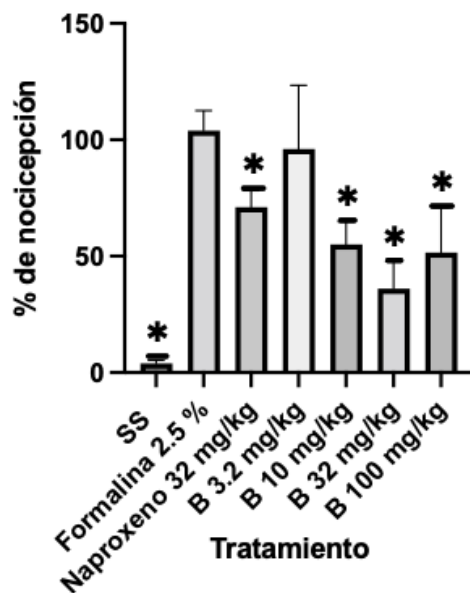
Los resultados obtenidos fueron analizados con relación a la administración de formalina en la superficie dorsal de la pata trasera, lo cual provocó una respuesta de comportamiento caracterizada por lamido/mordisqueo vigoroso en la pata. El comportamiento de lamido se evaluó a lo largo del tiempo después de las inyecciones de formalina al 2.5%, y se compararon con los resultados de los animales de control. Los resultados se presentan en las Figuras 3 - 12.

Se observaron dos períodos distintos de actividad intensa de lamido. El primero se produjo durante los primeros 5 minutos después de la inyección de formalina, mientras que el segundo período ocurrió después de los 10 – 15 minutos y dura entre 30 a 50 minutos posteriores a la inyección. Estos dos períodos se denominan respuesta temprana y tardía, respectivamente (26).

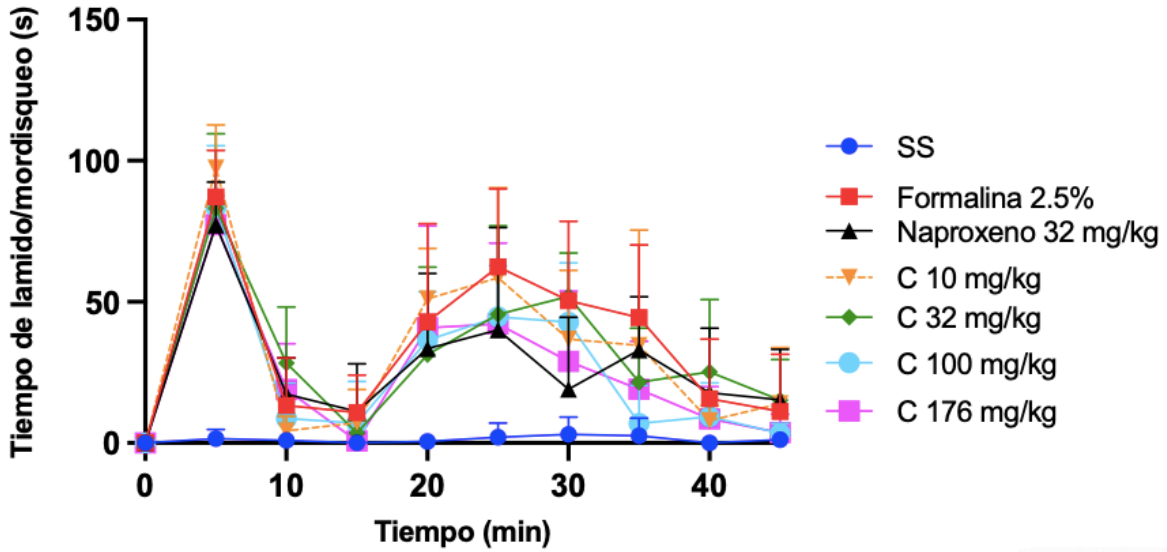
En cuanto al porcentaje de nocicepción obtenido a partir del área bajo la curva en función del tiempo de lamido/mordisqueo, se enfoca especialmente en la segunda fase, la cual representa la persistencia de la sensibilización nociceptiva central en curso. Las dosis 10, 32 y 100 mg/kg del compuesto B demostró diferencia significativa con respecto a la formalina al 2.5% (Figura 4). Del compuesto C, el naproxeno y la dosis de 176 mg/kg demostró diferencia significativa con respecto a la formalina al 2.5% (Figura 6). Del compuesto D, el naproxeno y todas las dosis demostraron diferencia significativa con respecto a la formalina al 2.5% (Figura 8). Del compuesto E, el naproxeno y las dosis de 3.2, 32 y 100 mg/kg demostraron diferencia significativa con respecto a la formalina al 2.5% (Figura 10). Del compuesto F demostraron el naproxeno y las dosis de 3.2 y 100 mg/kg diferencia significativa con respecto a la formalina al 2.5% (Figura 12).



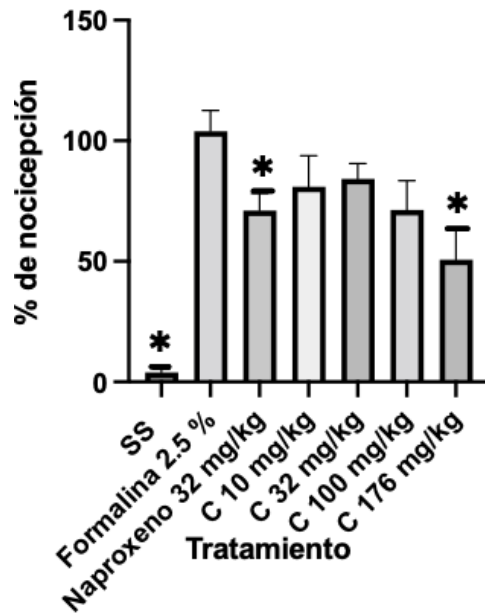
**Figura 3.** Tiempo de lamido/mordisqueo en la evaluación del compuesto B, a la dosis de 3.2, 10, 32 y 100 mg/kg para el efecto analgésico. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción).



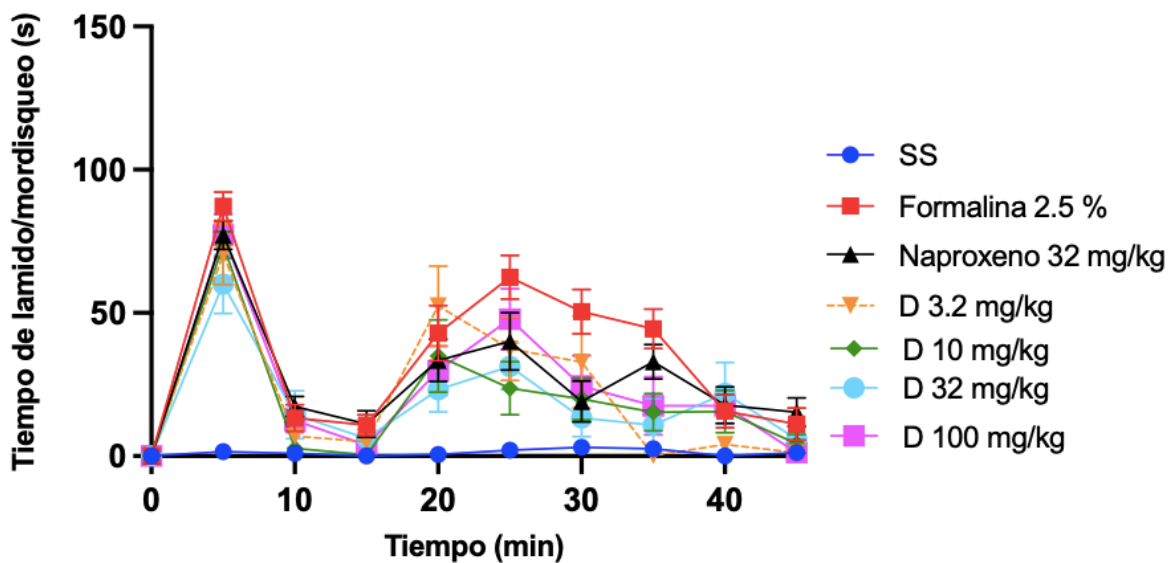
**Figura 4.** Porcentaje del efecto de nocicepción del compuesto B, de la fase II de 15 a 45 minutos del curso temporal. SS (control), formalina 2.5% (estimulante de nocicepción). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett.  $p < 0.05$ ;  $n \geq 6$ . \*con respecto a la formalina al 2.5%.



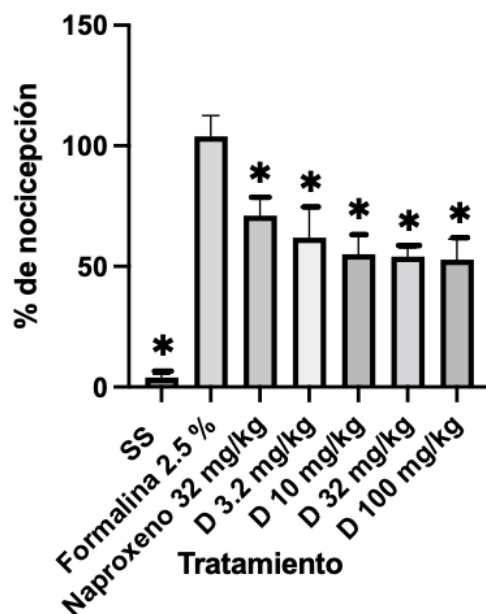
**Figura 5.** Tiempo de lamido/mordisqueo en la evaluación del compuesto C, a la dosis de 10, 32, 100 y 176 mg/kg para el efecto analgésico. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción).



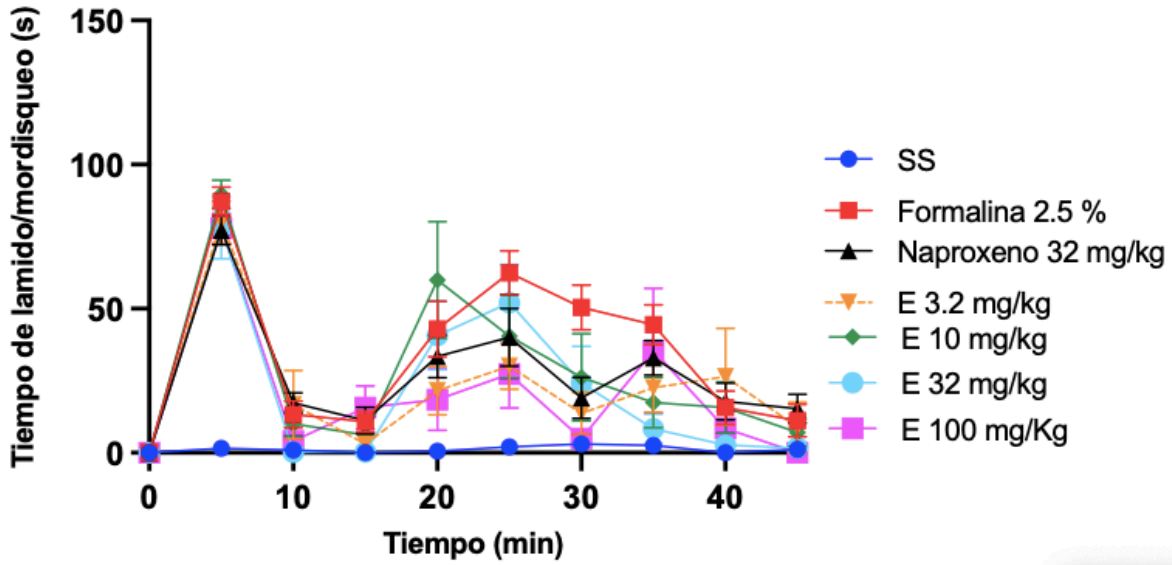
**Figura 6.** Porcentaje del efecto de nocicepción del compuesto C, de la fase II de 15 a 45 minutos del curso temporal. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett.  $p < 0.05$ ;  $n \geq 7$ . \*con respecto a la formalina al 2.5%.



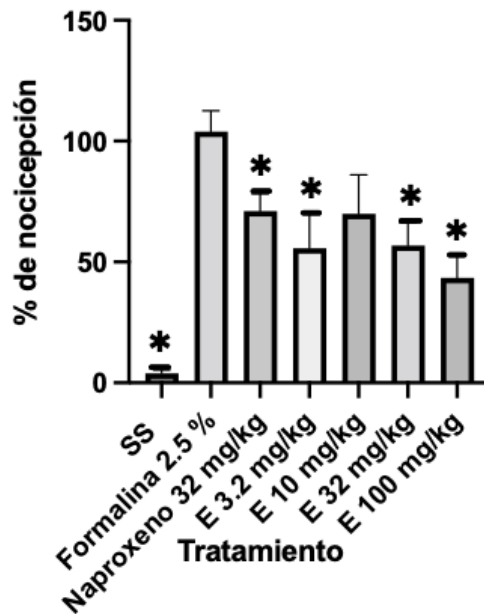
**Figura 7.** Tiempo de lamido/mordisqueo en la evaluación del compuesto D, a la dosis de 3.2, 10, 32 y 100 mg/kg para el efecto analgésico. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción).



**Figura 8.** Porcentaje del efecto de nocicepción del compuesto D, de la fase II de 15 a 45 minutos del curso temporal. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett.  $p < 0.05$ ;  $n \geq 10$ . \*con respecto a la formalina al 2.5%.

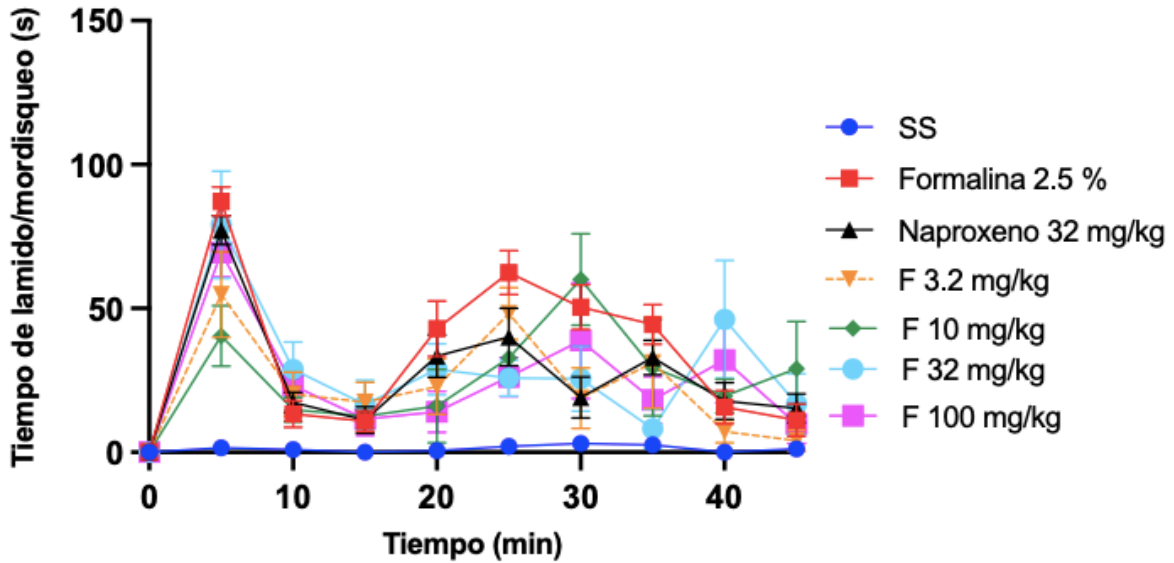


**Figura 9.** Tiempo de lamido/mordisqueo en la evaluación del compuesto E, a la dosis de 3.2, 10, 32 y 100 mg/kg para el efecto analgésico. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción).

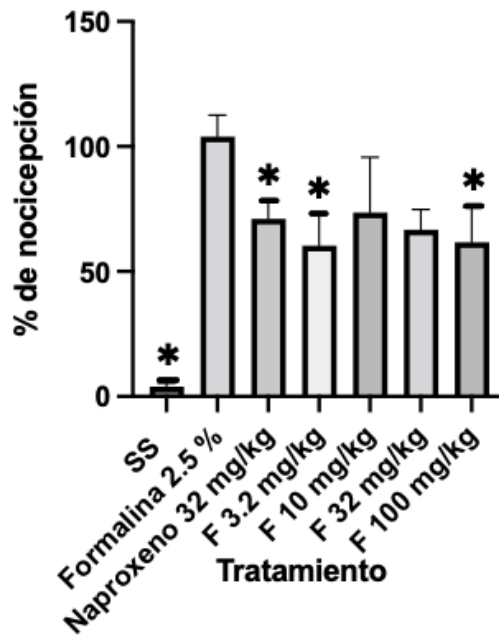


**Figura 10.** Porcentaje del efecto de nocicepción del compuesto E, de la fase II de 15 a 45 minutos del curso temporal. SS (control), formalina 2.5% (estimulante de nocicepción). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett.  $p < 0.05$ ;  $n \geq 6$ . \*con respecto a la formalina al 2.5%.





**Figura 11.** Tiempo de lamido/mordisqueo en la evaluación del compuesto F, a la dosis de 3.2, 10, 32 y 100 mg/kg para el efecto analgésico. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción).



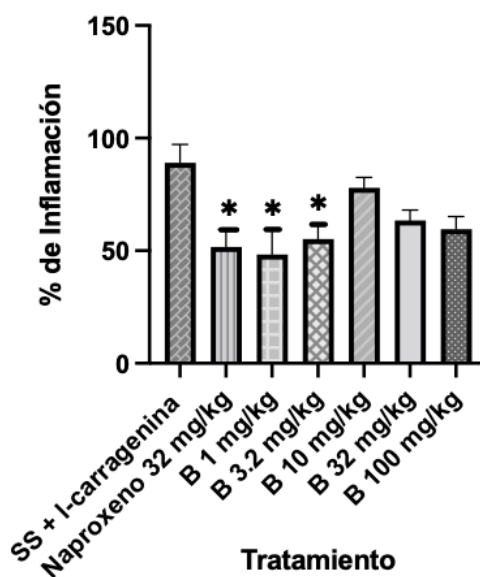
**Figura 12.** Porcentaje del efecto de nocicepción del compuesto F, de la fase II de 15 a 45 minutos del curso temporal. SS (control), formalina al 2.5% (estimulante de nocicepción). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett.  $p < 0.05$ ;  $n \geq 6$ . \*con respecto a la formalina al 2.5%.

## 7.2 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

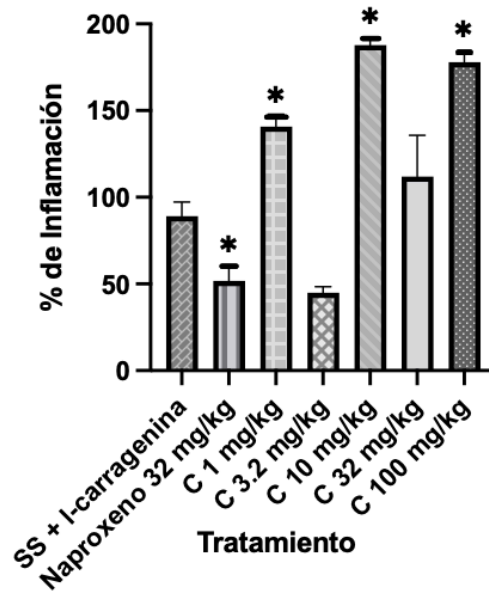
### 7.2.1 Actividad antiinflamatoria en ratón ICR

Los resultados obtenidos se analizaron con base a la inflamación de la pata trasera derecha del ratón, analizada con el pletismómetro 7140 (Ugo Basile).

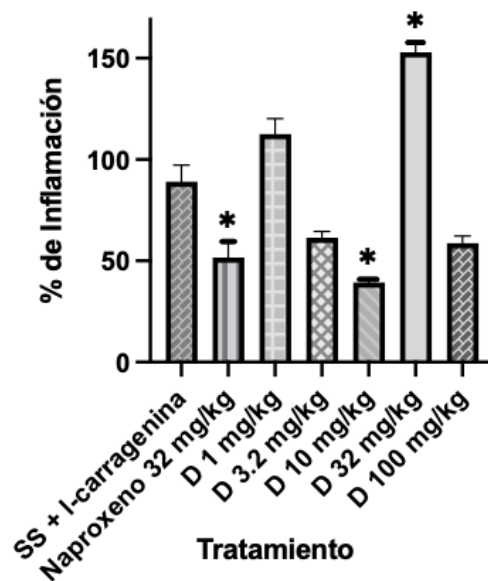
En cuanto al porcentaje de inflamación obtenido a partir del área bajo la curva en función del curso temporal. El naproxeno y las dosis de 1 y 3.2 mg/kg del compuesto B mostraron diferencias significativas en comparación con el grupo control (Figura 13). De manera similar, el naproxeno y las dosis de 1, 10 y 100 mg/kg del compuesto C presentaron diferencias significativas en relación a la SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (Figura 14). Además, el naproxeno y las dosis de 10 y 32 mg/kg del compuesto D exhibieron diferencias significativas en comparación con el grupo control (Figura 15). En cuanto al porcentaje de inflamación, ninguna de las dosis del compuesto E mostró diferencias significativas en comparación con el grupo control (Figura 16), mientras que para el compuesto F, solo el naproxeno y la dosis de 3.2 mg/kg demostraron diferencias significativas con respecto al grupo control (Figura 17).



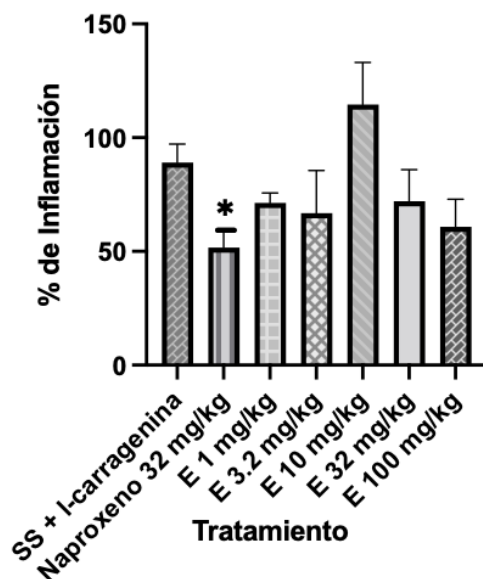
**Figura 13.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto B. SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (control). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett ;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS +  $\lambda$ -carragenina al 3%.



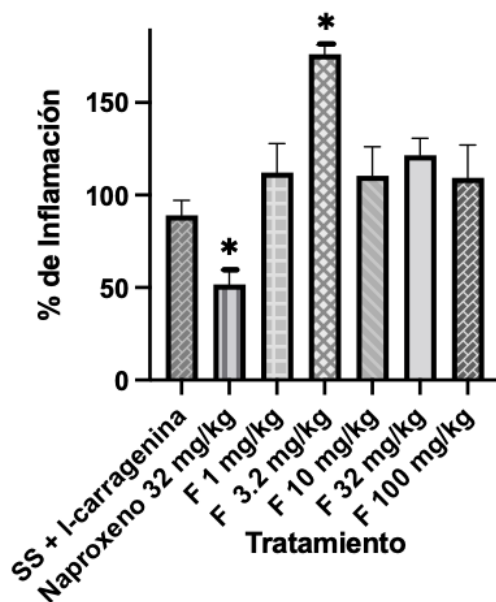
**Figura 14.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto C. SS + λ-carragenina al 3% (control). Se presenta la media ±EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett ;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS + λ-carragenina al 3%.



**Figura 15.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto D. SS + λ-carragenina al 3% (control). Se presenta la media ±EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett ;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS + λ-carragenina al 3%.



**Figura 16.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto E. SS + λ-carragenina al 3% (control). Se presenta la media ±EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett ;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS + λ-carragenina al 3%.

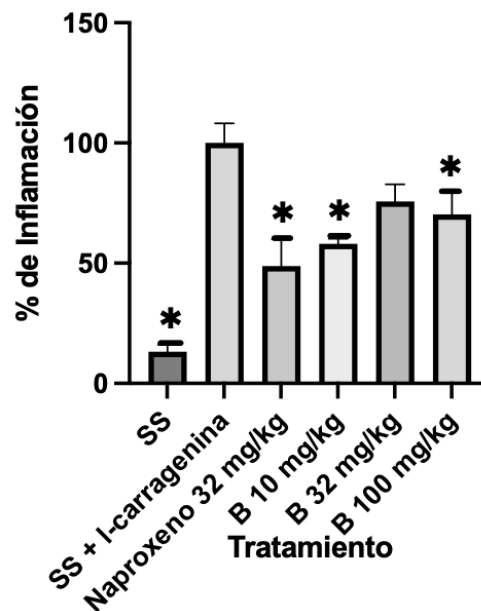


**Figura 17.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto F. SS + λ-carragenina al 3% (control). Se presenta la media ±EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett ;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS + λ-carragenina al 3%.

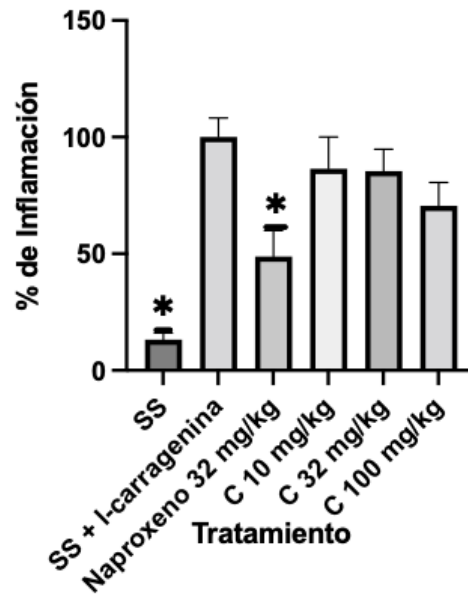
### 7.2.2 Actividad antiinflamatoria en pez cebra

Los resultados obtenidos se analizaron con base a la inflamación del abdomen del pez cebra, analizada con el pletismómetro 7140 (Ugo Basile).

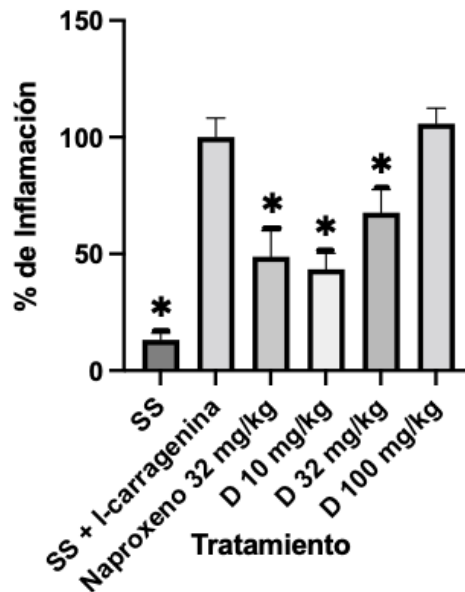
En cuanto al porcentaje de inflamación obtenido a partir del área bajo la curva en función del curso temporal, naproxeno y las dosis de 10 y 100 mg/kg del compuesto B mostró diferencia significativa con respecto al grupo control SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (Figura 18). Sin embargo, en cuanto al % de inflamación, ninguna de las dosis del compuesto C mostro diferencia significativa con respecto a la SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (Figura 19). Por otro lado, en cuanto al % de inflamación, el naproxeno y las dosis de 10 y 32 mg/kg del compuesto D mostro diferencia significativa con respecto al grupo control SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (Figura 20). Asimismo, en relación al % de inflamación, ninguna de las dosis del compuesto E y F demostró diferencia significativa con respecto al grupo control SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (Figura 21-22).



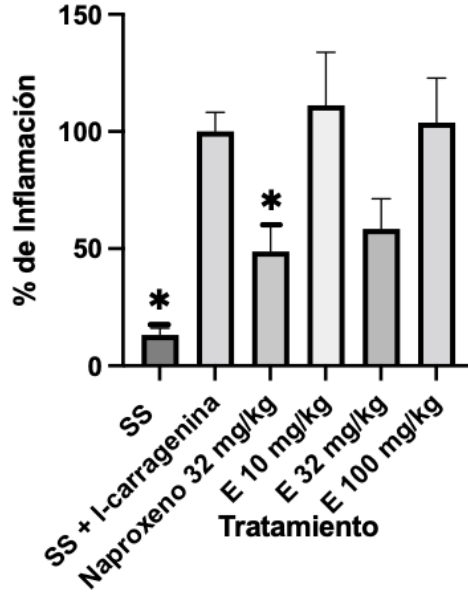
**Figura 18.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto B. SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (control). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS +  $\lambda$ -carragenina al 3%.



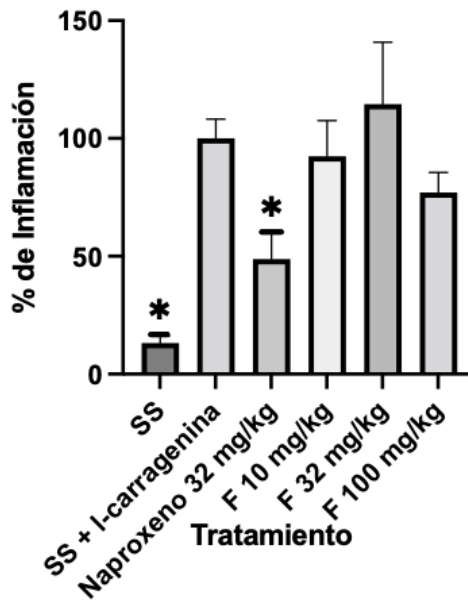
**Figura 19.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto C. SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (control). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS +  $\lambda$ -carragenina al 3%.



**Figura 20.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto D. SS +  $\lambda$ -carragenina al 3% (control). Se presenta la media  $\pm$ EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS +  $\lambda$ -carragenina al 3%.



**Figura 21.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto E. SS + λ-carragenina al 3% (control). Se presenta la media ±EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS + λ-carragenina al 3%.



**Figura 22.** Porcentaje del efecto inflamatorio del compuesto F. SS + λ-carragenina al 3% (control). Se presenta la media ±EEM, se realizó una ANOVA de una vía seguida de una prueba *post-hoc* de Dunnett;  $p < 0.05$ ;  $n \geq 5$ . \*con respecto a la SS + λ-carragenina al 3%.

## 8. Discusión

Los medicamentos analgésicos, antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) son ampliamente utilizados para tratar el dolor y la inflamación. Sin embargo, el uso prolongado de estos medicamentos provoca úlceras gastrointestinales, hemorragias y trastornos renales. Por lo tanto, se busca descubrir nuevos medicamentos antiinflamatorios y analgésicos que no presenten estos efectos secundarios (27).

La evaluación de la analgesia se llevó a cabo mediante la prueba de nocicepción en ratón utilizando una solución al 2.5% de formalina. Esta prueba resulta más confiable para medir el dolor clínico en comparación con las pruebas que emplean estímulos térmicos o mecánicos breves, ya que aborda el dolor continuo y moderado (28). Se empleó esta prueba para seguir las respuestas relacionadas con la nocicepción, incluyendo el comportamiento de lamido/mordisqueo inducido por la solución de formalina al 2.5% en la pata trasera derecha del ratón. La intensidad del dolor se evaluó objetivamente a través de un parámetro único: el tiempo de lamido/mordisqueo de la pata inyectada, en la superficie dorsal, los dedos o la pierna. Los registros de esta conducta se presentan gráficamente (Figuras 3 - 12).

Las gráficas (Figura 3 - 12) indican que con el tiempo, la respuesta al dolor tiende a disminuir gradualmente, sugiriendo una resolución natural del dolor inducida por la formalina. Sin embargo, cuando se administra un analgésico (fármaco), se espera que la respuesta al dolor disminuya considerablemente más rápido que en el grupo sin tratamiento, como se observa en las gráficas.

La formalina presenta una respuesta bifásica (dos fases) distintas en el efecto del dolor o comportamiento de lamido/mordisqueo, que están separadas por un período de reposo. Al analizar los datos, se observó claramente que los compuestos B, C, D, E y F, mostraron modificaciones en las respuestas bifásica después de su administración.



La fase aguda o inicial (fase I), generalmente registrada durante 5 minutos justo después de la administración de formalina, refleja un dolor periférico agudo. Estudios indican que la activación de los nervios sensoriales por la formalina se debe a la acción específica del receptor TRPA1, expresado en una subpoblación de nociceptores de las fibras C. Los antagonistas de bradicinina, serotonina, histamina y trifosfato de adenosina (ATP) pueden inhibir las respuestas en esta fase (26).

La fase II de nocicepción parece depender de la combinación de reacción inflamatoria en el tejido periférico y cambios funcionales en las neuronas del asta dorsal de la médula espinal, las cuales se vuelven sensibilizadas ante estímulos nociceptivos. Esto sugiere que la actividad generada durante la fase I produce una sensibilización central que afecta los procesos durante la fase II (26).

En la fase II, que inicia después del período de reposo (entre 5 y 15 minutos), persiste la inflamación y la sensibilización nociceptiva central en curso (12). Se observa en la fase II que ciertas dosis de los compuestos presentan un efecto analgésico más marcado. Para el compuesto B, la dosis de 32 mg/kg muestra un efecto analgésico mayor que las otras dosis y el naproxeno. El compuesto C, por su parte, demuestra un efecto analgésico favorable en dosis de 176 mg/kg. De manera similar, el compuesto D presenta una respuesta analgésica notoria en dosis de 10, 32 y 100 mg/kg. Respecto al compuesto E, la dosis de 100 mg/kg se destaca por su capacidad analgésica. Finalmente, el compuesto F exhibe un efecto analgésico relevante en la dosis de 3.2 mg/kg.

En la evaluación de la actividad antiinflamatoria con ratón ICR, se empleó la prueba de edema de la pata inducido por  $\lambda$ -carragenina al 3%, esta monitorea las respuestas relacionadas con la inflamación inducida por la solución inflamatoria de  $\lambda$ -carragenina al 3% en la pata trasera derecha en el pletismómetro digital. Las gráficas (Figura 13 - 17) muestran que los compuestos B, C, D, E y F presentan una tendencia antiinflamatoria en ciertas dosis en comparación con la SS y  $\lambda$ -carragenina al 3%. El compuesto B fue el que mostró un efecto antiinflamatorio estadísticamente significativo en comparación con la SS y  $\lambda$ -carragenina al 3%.

En la evaluación de la actividad antiinflamatoria con peces cebra, se utilizó la prueba de edema abdominal inducida por  $\lambda$ -carragenina al 3%, para seguir las respuestas relacionadas con la inflamación, causado por la solución de  $\lambda$ -carragenina al 3% en el abdomen. Las gráficas (Figura 18 - 22) muestran que los compuestos B, C, D, E y F presentan una tendencia antiinflamatorio en ciertas dosis en comparación con la SS y  $\lambda$ -carragenina al 3%. Los compuesto B y D fueron los únicos que mostraron un efecto antiinflamatorio estadísticamente significativo en comparación con la SS y  $\lambda$ -carragenina al 3%, siendo más efectivos en la dosis de 10 mg/kg.

Durante la inflamación, los estímulos inflamatorios, como las lesiones o infecciones, activan la COX-2, lo que lleva a un aumento en la producción de prostaglandinas proinflamatorias. Estas prostaglandinas causan los síntomas típicos de la inflamación, como el enrojecimiento, la hinchazón, la sensibilidad y el dolor (29). En la nocicepción, durante la lesión o daño tisular, las células inflamatorias liberan sustancias químicas, como la bradicinina y el factor de crecimiento nervioso (NGF), que estimulan la producción de prostaglandinas en las células que expresan la COX-2. Estas prostaglandinas actúan en los receptores del dolor, como los receptores de prostaglandina EP1, para sensibilizar las neuronas del dolor, disminuir el umbral del dolor y aumentar la respuesta neuronal al estímulo doloroso (30). Los AINE's, que inhiben la actividad de la COX, pueden disminuir la producción de prostaglandinas y, por lo tanto, reducir la inflamación y la sensibilización del dolor.

Esto se evidencia en las gráficas, donde el naproxeno a una dosis de 32 mg/kg muestra efectos analgésicos y antiinflamatorios. Comparando con los compuestos B y D, que tienen efectos similares, se puede notar que el grupo 6-metoxinaftalen-2-il, compartido por estos compuestos, contribuye a este efecto. Además, se observa que al sustituir el ácido carboxílico por un grupo éster, el efecto aumenta significativamente.

En cuanto a la vía de administración, ya sea intraperitoneal o subcutánea, puede influir en la biodisponibilidad y la velocidad de biotransformación del naproxeno. Sin embargo, es importante destacar que el naproxeno se administra generalmente por vía oral o tópica en la práctica clínica habitual, en lugar de las vías intraperitoneal o subcutánea. La administración intraperitoneal permite una absorción más rápida en comparación con la administración oral, al evitar el proceso de digestión en el estómago e intestinos. Por otro lado, la absorción subcutánea suele ser más lenta que la administración intraperitoneal pero más rápida que la administración oral (31,32).

Se realizaron experimentos para evaluar el efecto antiinflamatorio en ratones ICR y peces cebra. Se encontró que el modelo biológico más eficaz para determinar este efecto fue el pez cebra, posiblemente debido a diferencias biológicas entre las especies. Además, las respuestas inflamatorias varían en duración y sensibilidad entre especies. Por lo tanto, puede ser necesario utilizar un tamaño de muestra más grande en ratones ICR en comparación con peces cebra para obtener resultados más significativos al observar el efecto antiinflamatorio de los fármacos.

También es posible que las interacciones entre el compuesto antiinflamatorio y otros sistemas biológicos en el organismo pueden diferir entre las diversas especies, pudiendo tanto potenciar como inhibir los efectos antiinflamatorios, y esto podría explicar las discrepancias en los resultados observados.

Estos resultados sugieren que los análogos B y D presentan una tendencia hacia propiedades analgésicas y antiinflamatorias en ciertas dosis en comparación con el grupo control, aunque algunos resultados no alcanzaron significancia estadística, también podrían tener menor efecto gastrointestinal. No obstante, es importante tener en cuenta que estos hallazgos deben interpretarse en el contexto del estudio y podrían requerir investigaciones y pruebas adicionales para confirmar la eficacia y seguridad de los compuestos evaluados.

## **9. Conclusiones**

Los ensayos experimentales llevados a cabo con ratón ICR y pez cebra, analizando los análogos estructurales del naproxeno, han proporcionado resultados alentadores en términos de efectos antiinflamatorios y analgésicos. Los compuestos B, C, D, E y F demostraron efecto analgésico. En el caso del efecto antiinflamatorio en ratón ICR, el compuesto B mostro efecto antiinflamatorio. Por otro lado, en pez cebra, los compuestos B y D exhibieron efecto antiinflamatorio. Estos resultados sugieren que los compuestos B y D poseen una cualidad dual, siendo capaces de inducir tanto analgesia como efecto antiinflamatorio, también podrían tener menor efecto gastrointestinal. Sin embargo, para validar y considerar estas conclusiones como una alternativa terapéutica viable, segura y efectiva, es imprescindible realizar evaluaciones complementarias mediante otros modelos experimentales y pruebas farmacológicas.

A través de estas evaluaciones adicionales, se podrá obtener una comprensión más exhaustiva de las propiedades de los análogos del naproxeno y establecer su verdadero potencial como alternativa en el tratamiento del dolor e inflamación, presentando un perfil de seguridad optimizado y una mayor eficacia.

## **Perspectiva**

A partir de los resultados obtenidos del presente trabajo, proponemos la siguiente perspectiva:

Después de determinar las actividades de analgesia y antiinflamación, evaluar su efecto gastroprotector, principalmente de los compuestos B y D.

Otros modelos experimentales nos ayudarán a corroborar que el efecto es sobre la inhibición de prostaglandinas y si estos análogos muestran una mayor selectividad hacia la COX-2, la enzima responsable de la inflamación, al mismo tiempo que se minimizan los efectos ulcerosos asociados con la inhibición de la COX-1 mediante pruebas de gastroprotección en ratas.

## 10. Referencias

1. Xie, Y., Meijer, A. H., & Schaaf, M. J. M. (2021). Modeling Inflammation in Zebrafish for the Development of Anti-inflammatory Drugs. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.620984>
2. Patil, K. R., Patil, C. R., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., Ojha, S., & Patil, C. R. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4367. <https://doi.org/10.3390/ijms20184367>
3. *Inflamación crónica*. (s. f.). Instituto Nacional del Cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/inflamacion-cronica>
4. P, G. L., Del Río T, R. E., M, R. A. O., G, M. A. O., & Scior, T. (2011). Preliminary studies on the analgesic effect of leaf extract from *Ageratina glabrata* in two thermal models of acute pain. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 42(1), 45-51. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v42n1/v42n1a5.pdf>
5. International Association for the Study of Pain. (2022, 19 abril). *Terminology | International Association for the Study of Pain*. International Association for the Study of Pain (IASP)
6. Rosa-Díaz, J., Navarrete-Zuazo, V. M., & Díaz-Mendiondo, M. (2014). Aspectos básicos del dolor postoperatorio y la analgesia multimodal preventiva. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 37(1), 18-26. <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2014/cma141c.pdf>
7. Tesfaye, R., Degu, A., Abebe, B., & Ayalew, H. (2020). Evaluation of Analgesic and Anti-inflammatory Potential of 80% Methanol Leaf Extract of *Otostegia integrifolia* Benth (Lamiaceae). *Journal of Inflammation Research*, Volume 13, 1175-1183. <https://doi.org/10.2147/jir.s285932>
8. Gregory, N., Harris, A. L., Robinson, C. R., Dougherty, P. M., Fuchs, P. N., & Sluka, K. A. (2013). An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *The Journal of Pain*, 14(11), 1255-1269. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2013.06.008>
9. Ghanshyam Dhalendra, Trilochan Satapathy, Amit Roy. *Animal Models for Inflammation: A Review*. *Asian J. Pharm. Res.* 3(4): Oct. - Dec.2013; Page 207-212.
10. U. B. *Ugo Basile*. <https://www.ugobasile.com/>
11. McNamara, C. R., Mandel-Brehm, J., Bautista, D. M., Siemens, J., Deranian, K. L., Zhao, M., Hayward, N. J., Chong, J. A., Julius, D., Moran, M. M., & Fanger, C. M. (2007). TRPA1 Mediates Formalin-Induced Pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of*

- the United States of America*, 104(33), 13525–13530.  
<http://www.jstor.org/stable/25436517>
12. López-Cano, M., Fernández-Dueñas, V., Llebaria, A., & Ciruela, F. (2017). Formalin Murine Model of Pain. *Bio-protocol*, 7(23). <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.2628>
  13. Ghlichloo, I. (2023). *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)*. StatPearls-NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/>
  14. Ahmadi, M., Bekeschus, S., Weltmann, K., Von Woedtke, T., & Wende, K. (2022). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors. *RSC medicinal chemistry*, 13(5), 471-496. <https://doi.org/10.1039/d1md00280e>
  15. Chaiamnuay, S., Allison, J. J., & Curtis, J. R. (2006). Risks versus benefits of cyclooxygenase-2-selective nonsteroidal antiinflammatory drugs. *American Journal of Health-system Pharmacy*, 63(19), 1837-1851. <https://doi.org/10.2146/ajhp050519>
  16. Brogden, R. N., Heel, R. C., Speight, T. M., & Avery, G. S. (1979). Naproxen up to Date: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Efficacy and Use in Rheumatic Diseases and Pain States. *Drugs*, 18(4), 241-277. <https://doi.org/10.2165/00003495-197918040-00001>
  17. Brutzkus, J. C. (2023, 8 mayo). *Naproxen*. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525965/>
  18. Elhenawy, A. A., Al-Harbi, L. M., Moustafa, G. O., El-Gazzar, M. A., Abdel-Rahman, R. F., & Salim, A. E. (2019). Synthesis, comparative docking, and pharmacological activity of naproxen amino acid derivatives as possible anti-inflammatory and analgesic agents. *Drug Design Development and Therapy, Volume 13*, 1773-1790. <https://doi.org/10.2147/dddt.s196276>
  19. Wermuth, C. G. (2006). Similarity in drugs: reflections on analogue design. *Drug Discovery Today*, 11(7-8), 348-354. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.02.006>
  20. Guevara-López, U. (2004). Acemetacina: características farmacológicas y clínicas. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 27(1), 33-56. <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2004/cma041g.pdf>
  21. Rai, A. R., Joy, T., Ks, R., Rai, R., Na, V., & Jiji, P. J. (2022). Zebrafish as an experimental model for the simulation of neurological and craniofacial disorders. *Veterinary World*, 22-29. [www.doi.org/10.14202/vetworld.2022.22-29](http://www.doi.org/10.14202/vetworld.2022.22-29)
  22. De Andrade Belo, M. A., Oliveira, M. F., Oliveira, S., Aracati, M. F., Rodrigues, L., Costa, C. R., Conde, G., Gomes, J. A. S., Prata, M. N. L., Barra, A., Valverde, T. M., De Melo, D. O., Eto, S. F., Fernandes, D. C., Romero, M. E., Júnior, J. O. C. A., Silva, J., Barros, A. P. D., Perez, A. R., & Charlie-Silva, I. (2021). Zebrafish as a model to

- study inflammation: A tool for drug discovery. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 144, 112310. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112310>
23. Kim, J. E., Nam, J. H., Cho, J. Y., Kim, K. S., & Hwang, D. Y. (2017). Annual tendency of research papers used ICR mice as experimental animals in biomedical research fields. *Laboratory Animal Research*, 33(2), 171. <https://doi.org/10.5625/lar.2017.33.2.171>
  24. Cui, S., Chesson, C., & Hope, R. M. (1993). Genetic variation within and between strains of outbred Swiss mice. *Laboratory Animals*, 27(2), 116-123. <https://doi.org/10.1258/002367793780810397>
  25. Chia, R., Achilli, F., Festing, M. F. W., & Fisher, E. M. C. (2005). The origins and uses of mouse outbred stocks. *Nature Genetics*, 37(11), 1181-1186. <https://doi.org/10.1038/ng1665>
  26. C.M. Cendán. Estudios experimentales en dolor agudo e inflamatorio: el modelo de la administración intraplantar de formalina en el ratón. Departamento de Farmacología e Instituto de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Granada. <https://www.esteve.org/wp-content/uploads/2017/12/Estudios-experimentales.pdf>
  27. Gupta, A., Parasar, D., Sagar, A., Choudhary, V., Chopra, B. S., Garg, R., Ashish, & Khatri, N. (2015). Analgesic and Anti-Inflammatory properties of gelsolin in acetic acid induced writhing, tail immersion and carrageenan induced paw edema in mice. *PLOS ONE*, 10(8), e0135558. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135558>
  28. Meunier, C., Burton, J., Cumps, J., & Verbeeck, R. K. (1998). Evaluation of the formalin test to assess the analgesic activity of diflunisal in the rat. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 307-312. [https://doi.org/10.1016/s0928-0987\(97\)10020-3](https://doi.org/10.1016/s0928-0987(97)10020-3)
  29. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):986-1000. doi:10.1161/ATVBAHA.110.207449
  30. Zhang X, et al.(2007) Inflammation-induced upregulation of prostaglandin E2 and substance P receptors in cultured dorsal root ganglion neurons. *Exp Neurol*. 204(1):279-286.
  31. Mulkiewicz, E., Wolecki, D., Świacka, K., Kumirska, J., Stepnowski, P., & Caban, M. (2021). Metabolism of non-steroidal anti-inflammatory drugs by non-target wild-living organisms. *Science of The Total Environment*, 791, 148251. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148251>
  32. *Repositorio de Tesis DGBSDI: Aspectos farmacologicos y metodos de obtencion del acido (+)-6-metoxi-alfa-metil-2-naftalen acetico.* (s. f.). <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000122277>