



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Química y evaluación del efecto antinociceptivo de  
*Salvia purpurea* Cav. (Lamiaceae)**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**CRISTIAN CUEVAS MORALES**



**DIRECTORA DE TESIS  
DRA. EVA AGUIRRE HERNÁNDEZ  
CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX,  
2018**



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.



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.

## **DATOS DEL JURADO**

- 1. Datos del alumno**  
Cuevas  
Morales  
Cristian  
87532034  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
413098324
- 2. Datos del tutor**  
Dra.  
Eva  
Aguirre  
Hernández
- 3. Datos del sinodal 1**  
M. en C.  
Francisco Alberto  
Basurto  
Peña
- 4. Datos del sinodal 2**  
Dr.  
Ricardo  
Reyes  
Chilpa
- 5. Datos del sinodal 3**  
M. en C.  
Lizeth  
Mariel  
Zavala  
Ocampo
- 6. Datos del sinodal 4**  
M. en C.  
Agustín  
Carmona  
Castro
- 7.- Datos del trabajo escrito**  
Química y evaluación del efecto antinociceptivo de *Salvia purpurea*  
Cav. (Lamiaceae)  
94 pp  
2018

## **AGRADECIMIENTOS**

Al PAPIIT-DGAPA por el otorgamiento de la beca. Proyecto PAPIIT-IN218418

## DEDICATORIAS

*Para todas las personas vulnerables  
que confían en el poder del mundo que nos rodea.*

## AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Al pueblo de México que con sus contribuciones pagó mi estancia en la Universidad Nacional Autónoma de México y por permitirme formarme como científico. Habría querido haber hecho un poco más, disculpen por todo lo que me faltó. Gracias por todo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de la mayor casa de estudios de nuestro país, de la que estaré siempre orgulloso de pertenecer. A la Facultad de Ciencias por ser mi segunda casa y dejarme conocer a mi familia académica, también agradezco por formarme con conciencia social y ética profesional. A la vocación de los profesores que motivaron día a día mi papel como estudiante. Al laboratorio de fitoquímica de la Facultad de Ciencias en donde realicé el trabajo experimental.

A mi directora de tesis, la Dra. Eva Aguirre Hernández por ser, para mí, un ejemplo de sencillez, dedicación y fortaleza. Agradezco la confianza y el apoyo que desde el principio me brindó para realizar este proyecto y todos los trabajos que surgieron, así como también, en el aspecto personal. Por haberme permitido formar parte de experiencias nuevas, increíbles y enriquecedoras, por siempre ser, el mejor ejemplo de vocación académica y siempre tener el interés de que los alumnos aprendan de cada experiencia. No tengo más palabras para agradecer todo lo que hizo por mí. Muchas gracias.

Doy las gracias a la Unidad de Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo brindado para la realización de este proyecto. Así mismo, agradezco la asesoría técnica proporcionada por el Dr. Enrique Pinzón Estrada y el Dr. Ismael Torres Saldaña.

A la M. en C. Lizeth Mariel Zavala Ocampo por todo el apoyo que me brindó para realizar las técnicas cromatográficas y farmacológicas, como también, en la revisión de mis trabajos para la asistencia a los congresos, agradezco los comentarios que enriquecieron este trabajo y el tiempo que se tomó para las observaciones a este mismo. Por ser parte importante de todo lo logrado, muchas gracias.

Al trabajo etnobotánico que inspiró la realización de esta investigación.

A la Q.A. Verónica Muñoz Ocotero por la asesoría técnica que me brindó para la separación cromatográfica, la revisión y edición de los trabajos para la asistencia a los congresos. Al M. en C. Roberto Enrique Llanos Romero por el apoyo técnico proporcionado para la cuantificación de los metabolitos secundarios por cromatografía de capa fina de alta resolución. Al M. en C. Agustín Carmona Castro y al biólogo Christian Alan Cabello Hernández por la ayuda brindada en el bioterio de la Facultad de Ciencias.

A todas las vidas que me permitieron conocer un poco más lo que es la biología.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi abuela, Alicia Oliva Alday por ser, mi pilar y apoyo incondicional, durante, antes y después a este proyecto. Agradezco por cuidarme como a un hijo. Gracias por confiar en mí. Estoy seguro de que, como dice usted, “el astro estará con nosotros y que siempre debemos creer en la naturaleza.” Mi respeto y cariño estarán siempre con usted.

A mi familia, por ser parte importante e impulsor de este logro. Por confiar en mí y hacerme saber que soy un ejemplo para nuestras futuras generaciones. Gracias.

A mi papá, Hugo Cuevas Oliva por ser, un ejemplo para mí, de esfuerzo, dedicación y perseverancia. A mi mamá, Yulma García Gutierrez, por haber dedicado mucho tiempo, para que un niño, lleno de curiosidad, aprendiera a leer y escribir, por ser un tutor excelente para mi aprendizaje. Gracias a ustedes, pude cumplir muchos sueños, como, entrar a la UNAM, formarme como científico y la experiencia de conocer nuevos lugares. Muchas gracias por todo esto. Esto también es su logro.

A los que ayudaron a cumplir metas. A mi tío Alejandro Mendoza por ser un apoyo incondicional, muchas gracias.

A mi amiga Anabel López Melchor por ser parte importante en mi vida desde el principio y hasta el final de este proyecto. Por creer en mí, por todo lo que hemos compartido, y que compartiremos. Te quiero mucho. Siempre estaré para ti.

A Mariel Sánchez Mejorada Bautista gracias por todos los momentos que compartimos, siempre aprendimos de todo, las prácticas de campo no habrían sido las mismas sin ti, te quiero mucho.

A mis amigos que conocí en la universidad. A Elisa Mendoza, gracias por prestarme tú cajita generadora de recuerdos hermosos para mis proyectos.

A la vida

*“Me enseñaron que el camino del progreso no es ni  
rápido ni fácil”*

*Marie Curie*

En algún rincón del universo centellante  
desparramado en innumerables sistemas solares,  
hubo un astro  
en el que animales inteligentes  
inventaron el conocimiento.

Fue el minuto más altanero y falaz de la “historia  
universal” pero, a fin de cuentas, sólo un minuto.

Friedrich Nietzsche

## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE CUADROS	xiii
RESUMEN	xiv
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES	3
2.1 Plantas medicinales en México	3
2.2 Generalidades del género <i>Salvia</i>	4
2.3 Distribución del género <i>Salvia</i> en México	4
2.4 Metabolitos secundarios aislados del género <i>Salvia</i>	5
2.4.1 Terpenos	5
2.4.2 Compuestos fenólicos	7
2.5 Compuestos con actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del género <i>Salvia</i>	8
2.6 Usos etnobotánicos, fitoquímica y farmacología del género <i>Salvia</i> en México	11
2.7 <i>Salvia purpurea</i> Cav.	17
2.8 Dolor	18
2.9 Clasificación del dolor	19
2.9.1 Según su origen anatómico	19
2.9.2 Según su origen etiológico	20
2.9.3 Según su intensidad	20
2.9.4 Según su duración	20
2.9.5 Según su origen fisiopatológico	21
2.10 Nocicepción	23
2.11 Nociceptores	24
2.12 Dolor visceral	25
2.13 Dolor inflamatorio	26
2.14 Aspectos terapéuticos del dolor	27
2.15 Epidemiología del dolor en México	28
3.- JUSTIFICACIÓN	29
4.- HIPÓTESIS	30
5.- OBJETIVOS	31
5.1 Objetivo general	31
5.2 Objetivos particulares	31
6.- MATERIALES Y MÉTODOS	32

6.1 Material vegetal	32
6.2 Diseño experimental en fitoquímica	32
6.3 Obtención de los extractos de <i>Salvia purpurea</i>	34
6.4 Identificación preliminar de metabolitos presentes en los extractos de <i>S. purpurea</i> por cromatografía en capa fina (CCF)	34
6.4.1 Terpenos	34
6.4.2 Flavonoides	35
6.5 Identificación de metabolitos en los extractos de <i>S. purpurea</i> por cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPTLC)-densitometría	35
6.5.1 Terpenos	36
6.5.2 Flavonoides	36
6.6 Separación cromatográfica por columna del extracto de metanol	37
6.7 Animales	38
6.8 Preparación de los extractos y fármacos	38
6.9 Determinación del margen de seguridad	38
6.10 Evaluación de la actividad antinociceptiva	39
6.10.1 Modelo de estiramientos abdominales “Writting”	39
6.10.2 Modelo de la formalina	40
6.11 Análisis estadístico	41
7.- RESULTADOS	42
7.1 Rendimiento de los extractos de <i>Salvia purpurea</i>	42
7.2 Identificación de los metabolitos secundarios por CCF de los extractos de <i>Salvia purpurea</i>	43
7.2.1 Identificación de terpenos por CCF	43
7.2.2 Identificación de flavonoides por CCF	44
7.3 Identificación y cuantificación de los compuestos en extracto de <i>Salvia purpurea</i> por HPTLC- densitometría	45
7.3.1 Terpenos	45
7.3.2 Flavonoides aglicones	47
7.3.3 Flavonoides glicosilados	49
7.3.4 Cuantificación por HPTLC de los metabolitos secundarios en los extractos de <i>Salvia purpurea</i>	50
7.4 Cromatografía en columna del extracto de metanol	51
7.5 Evaluación antinociceptiva del extracto de acetona	52
7.5.1 Modelo de estiramiento abdominal	52
7.5.2 Modelo de formalina	53
7.6 Evaluación antinociceptiva del extracto de metanol	54
7.6.1 Modelo de estiramiento abdominal	54
7.6.2 Modelo de formalina	56
7.7 Evaluación antinociceptiva del extracto acuoso	56

7.7.1 Modelo de estiramiento abdominal	56
7.7.2 Modelo de formalina	58
7.8 Determinación del margen de seguridad	58
8.- DISCUSIÓN	60
9.-CONCLUSIONES	64
10.- BIBLIOGRAFÍA	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Diterpenos bicíclicos y tricíclicos	6
2. Ácido ursólico y ácido oleanólico	6
3. Estructura química de ácidos fenólicos más abundantes en <i>Salvia</i>	7
4. Flavonoides más comunes en <i>Salvia</i>	8
5. <i>Salvia purpurea</i> Cav.	18
6. Clasificación del dolor	19
7. Clasificación fisiopatológica del dolor	22
8. Vías de señalización del dolor	24
9. Vías neuronales eferentes que transmiten estímulos nocivos en órganos viscerales	25
10. Sensibilización de los nociceptores por mediadores inflamatorios	27
11. Diagrama general del diseño experimental para la parte fitoquímica	33
12. Estiramientos abdominales del ratón (conducta nociceptiva)	39
13. Modelo de formalina	40
14. Identificación de terpenos por CCF de <i>S. purpurea</i>	43
15. Identificación de terpenos por CCF de <i>S. purpurea</i>	44
16. Identificación de terpenos por HPTLC de <i>S. purpurea</i>	45
17. Identificación de flavonoides agliconas por HPTLC de <i>S. purpurea</i>	47
18. Identificación de flavonoides glicosilados por HPTLC de <i>S. purpurea</i>	49
19. Curva curso temporal de la actividad nociceptiva (extracto de acetona)	52
20. Porcentaje de la actividad antinociceptiva del extracto de acetona	53
21. Evaluación antinociceptiva del extracto de acetona en la prueba de la formalina	54
22. Curva curso temporal de la actividad nociceptiva (extracto de metanol)	55
23. Porcentaje de la actividad antinociceptiva del extracto de metanol	55
24. Evaluación de la actividad antinociceptiva del extracto de metanol en la prueba de la formalina	56
25. Curva curso temporal de la actividad nociceptiva (extracto acuoso)	57
26. Porcentaje de la actividad antinociceptiva del extracto acuoso	57
27. Evaluación de la actividad antinociceptiva del extracto acuoso en la prueba de la formalina	58
28. Curso temporal de la ganancia de peso de los grupos tratados y el grupo control	59

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Terpenos y flavonoides con actividad antinociceptiva y antiinflamatoria aislados de especies de <i>Salvia</i>	9
2. Etnobotánica, fitoquímica y farmacología de salvias mexicanas	14
3. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto de metanol	37
4. Rendimiento de los extractos obtenidos de la parte aérea de <i>S. purpurea</i>	42
5. Terpenos identificados por HPTLC en los extractos de <i>S. purpurea</i>	46
6. Flavonoides agliconas identificados por HPTLC en los extractos de <i>S. purpurea</i>	48
7. Flavonoides glicosilados identificados por HPTLC en los extractos de <i>S. purpurea</i>	50
8. Cuantificación por HPTLC de terpenos y flavonoides presentes en los extractos de <i>S. purpurea</i>	50
9. Mezcla de los ácidos ursólico y oleanólico aislados del extracto de metanol	51

## RESUMEN

---

*Salvia purpurea* Cav. (Lamiaceae), es una planta medicinal conocida comúnmente como “salvia moradita”, es usada por sus propiedades analgésica, antiinflamatoria y antidiarreica en los estados de Oaxaca, Veracruz y Chiapas. En la actualidad no hay reportes fitoquímicos ni farmacológicos que corroboren su actividad biológica. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar los metabolitos secundarios de los extractos de *Salvia purpurea* y evaluar el efecto antinociceptivo en ratones. Para la obtención de los extractos orgánicos, la parte aérea seca se maceró con acetona y posteriormente con metanol, el disolvente fue separado por destilación a presión reducida. Para el extracto acuoso, se realizó una decocción y posteriormente se liofilizó. La cuantificación de los terpenos y flavonoides presentes en los extractos se realizó por cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC, por sus siglas en inglés)-densitometría. Los extractos se evaluaron en dos modelos de antinocicepción: estiramiento abdominal y formalina. Se utilizaron ratones machos CD1 (25-30 g) y la vía de administración de los tratamientos fue por vía oral. También se determinó la DL<sub>50</sub> siguiendo los protocolos de toxicidad establecidos por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). El perfil cromatográfico mostró semejanzas en la composición de terpenos entre los extractos de acetona y de metanol. Se determinaron como componentes mayoritarios la mezcla de los ácidos ursólico y oleanólico, β-amirina y estigmasterol. Asimismo, los flavonoides identificados fueron canferol y quercetina, siendo el componente mayoritario la quercetina. El extracto acuoso no presentó componentes de naturaleza terpénica, sin embargo, fue el que tuvo un mayor número de flavonoides y el único que se identificó fue la rutina. La valoración farmacológica determinó que todos los extractos en las dosis de 3, 30 y 300 mg/kg producen un efecto antinociceptivo significativo en los dos modelos evaluados, donde las dosis bajas tienen la mayor inhibición en la conducta nociceptiva, sin embargo, cabe resaltar el efecto muy similar que presentó el extracto acuoso en la dosis de 3 mg/kg con el fármaco de referencia (Diclofenaco, 10 mg/kg) en la fase de dolor inflamatorio. La determinación del margen de seguridad de los extractos de *S. purpurea*, sugiere que la Dosis Letal se encuentra por arriba de los 2000 mg/kg ya que a dicha dosis no hubo mortalidad, sin embargo, con el extracto de metanol se observaron en los ratones efectos tóxicos (daño gástrico y hepático). Los resultados obtenidos sustentan el uso de *Salvia purpurea* en la medicina tradicional mexicana por sus propiedades analgésicas y antiinflamatorias, demostrando que tanto terpenos como flavonoides son compuestos activos parcialmente responsables de dichas actividades. Además, nos permite sugerir que la administración oral en concordancia con las indicaciones proporcionadas por los pobladores de las comunidades es segura.

## 1. INTRODUCCIÓN

---

Las plantas medicinales son todas aquellas que contienen en alguno de sus órganos, principios activos, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos. Su origen viene desde la historia de la humanidad y de la cultura de los pueblos, constituye un conocimiento que, aún en nuestros días, se transmite en forma oral de generación en generación (Cosme, 2008).

En México se cuenta con un acervo de conocimientos etnobotánicos muy extenso, especialmente de plantas medicinales, de las cuales, hay referencia de aproximadamente 4,000 de ellas (Ramamoorthy *et al.*, 1998). En este sentido, en el registro de las plantas medicinales que se realizó en Santiago Huaucuililla, Oaxaca, se destacó el género *Salvia* por la diversidad de usos, cuyas especies son utilizadas para tratar enfermedades gastro-intestinales, del corazón, diabetes y dolor (Nambo, 2015), siendo este último padecimiento el interés de este estudio.

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) define dolor como una “experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con un daño tisular ya sea real, potencial o descrito en términos de dicho daño” (IASP, 2017). Se estima que el 15% de la población está afectada por una manifestación de dolor, por lo cual, se considera un problema de salud pública desde la década de los 70’s (Covarrubias- Gómez, 2008). En su tratamiento, los analgésicos más comunes son los opioides y los antiinflamatorios no esteroideos (AINE’s), de los cuales se sabe que, de acuerdo con las experiencias preclínicas y clínicas, su uso indiscriminado ocasiona efectos adversos tales como daño al sistema digestivo, cardiovascular y riñón entre otros. Por tal motivo, se sugiere el uso de plantas medicinales solas y/o en combinación con los fármacos para mejorar la eficacia y disminuir los efectos colaterales (López Muñoz *et al.*, 2004).

En busca de nuevos fármacos útiles en el tratamiento del dolor, las salvias mexicanas ofrecen una buena alternativa de estudio, debido a su amplio espectro

de usos medicinales y a la diversidad de metabolitos secundarios. Desde tiempos ancestrales el género *Salvia* ha sido utilizado en la medicina tradicional alrededor del mundo por sus actividades como antibacterial, espasmódico, antidepresivo, ansiolítico y otras más. Se ha descrito que dichas actividades biológicas están asociados a metabolitos secundarios que el género produce, tales como aceites esenciales, terpenoides, ácidos fenólicos, taninos y flavonoides, siendo los principales los terpenos (Xu *et al.*, 2014). En este sentido, en este proyecto se planteó trabajar con *Salvia purpurea* Cav. por sus usos etnobotánicos como antidiarreico, para aliviar el dolor y como antiinflamatorio (Domínguez-Vázquez y Castro-Ramírez, 2002; Guzmán, 2014; Nambo, 2015) y además, porque no existe literatura científica acerca de su fitoquímica y farmacología, para ello, se evaluaron los extractos de *S. purpurea* para determinar su eficacia, ventana de actividad biológica y el margen de seguridad. Asimismo, los extractos activos fueron analizados químicamente para conocer sus constituyentes.

## 2. ANTECEDENTES

---

### 2.1 Plantas Medicinales en México

Planta medicinal, es el nombre con que se designa a aquellas plantas que, contienen principios activos, los cuales producen efectos curativos sobre una enfermedad (Cosme, 2008).

Las plantas medicinales son materia prima de muchos fármacos, por ejemplo, la aspirina, fue aislada de la corteza del sauce (*Salix alba*), uno de los AINEs más prescritos alrededor del mundo. Se sabe que un tercio de los fármacos usados en clínica provienen de extractos botánicos o compuestos aislados. Incluso con la aparición de la medicina de farmacia, la población de pueblos indígenas, aisladas o vulnerables usan las plantas medicinales como su principal recurso para aliviar enfermedades. De acuerdo con la OMS, 80% de la población usa plantas medicinales como fuente primaria para cuidar su salud (Cosme, 2008) y en algunos países, toman un papel central en su sistema médico, como en la India y China.

En México, la práctica de la medicina tradicional data de la época prehispánica, y la gran diversidad de plantas medicinales está registrada en diversas obras escritas como el Códice de la Cruz-Badiano (1552), el Códice Florentino (1570) y el trabajo de Francisco Hernández, Historia de las Plantas de la Nueva España (1571-1576) (Andrade-Cetto y Heinrich, 2016). En el presente siglo, destaca la obra de Maximino Martínez, Las Plantas Medicinales de México publicada en 1934, otra contribución importante es El Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana (3 volúmenes) publicada en 1994 (Argueta *et al.*, 1994).

En la actualidad, el estudio de las plantas entra en una etapa con difundido interés en el medio médico y científico nacional, debido a que los remedios herbolarios proveen una alternativa para los pacientes, principalmente para evitar los efectos adversos provocados por los fármacos y el hecho de que en la preparación de un gran número de medicamentos la ciencia no puede prescindir de los principios

activos de la flora medicinal en la elaboración y formulación de los mismos, lo que demuestra claramente las virtudes curativas de ciertas especies (Juscáfresa, 1995).

## 2.2 Generalidades del género *Salvia*

El nombre de salvia proviene de la palabra latín “*salveo*” que significa salvar o curar en referencia a las propiedades curativas atribuidas a algunas plantas del género. *Salvia* (Lamiaceae) representa un ensamble cosmopolita de casi 1000 especies (Walker y Sytsma, 2007). La principal área de diversidad se localiza en Centro y Sudamérica donde se registran cerca de 500 especies, Asia Occidental con casi 200 especies y Asia Oriental con 100 especies (Alziar, 1993).

Las formas de crecimiento de *Salvia* incluyen hierbas anuales y perennes, arbustos y raramente arbustos trepadores; las flores son pediceladas: el cáliz es zigomorfo, bilabiado; con tonalidades blancos, amarillos, púrpuras, rojas, violetas o azules, a menudo aromáticos (Martínez-Gordillos *et al.*, 2013). La característica diagnóstica del género *Salvia* respecto a otros géneros de Lamiaceae es la presencia de 2 estambres, en los cuales la parte estéril del conectivo funciona como una palanca, lo que permite que el polen se adhiera a la cabeza o cuerpo de los polinizadores principalmente abejas o colibríes (Walker y Sytsma, 2007).

## 2.3 Distribución del género *Salvia* en México

México es considerado como una de las áreas con mayor diversidad del género en el mundo, con aproximadamente 300 especies de las cuales un 75% son endémicas (Walker *et al.*, 2004), siendo el segundo género más diverso, superado por el género *Mammillaria* con más de 300 especies (Villaseñor, 2004). De acuerdo con la clasificación de Bentham (1876), el género *Salvia* se divide en 4 subgéneros: *Calosphace*, *Leonia*, *Salvia* y *Sclarea*. Las especies mexicanas del género *Salvia* se incluyen en su mayoría dentro del subgénero *Calosphace* (Bentham, 1876; Walker *et al.*, 2004).

Las zonas con mayor diversidad del género *Salvia* se presenta en las regiones montañosas, principalmente en las del Centro-sur del país. En consecuencia, los bosques templados y en particular los de coníferas y encinares, son los tipos de vegetación que albergan la mayor proporción de especies (Espejo y Ramamoorthy, 1993). No obstante, también se encuentran en los bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios, zonas áridas y desérticas (Davila *et al.*, 1993). En 1998, Ramamoorthy y Elliot indican que los estados con mayor riqueza de salvias son Oaxaca (63 especies), Guerrero (51), Puebla (50), Jalisco (49) y Michoacán (48).

#### *2.4 Metabolitos secundarios aislados del género Salvia*

Los principales grupos de metabolitos secundarios que se han aislado del género *Salvia* son terpenos, esteroides y compuestos fenólicos. Siendo los terpenos, los más diversos.

##### *2.4.1 Terpenos*

Los terpenos y esteroides constituyen el más amplio grupo de productos naturales de los vegetales, con alrededor de 36 000 moléculas, sintetizadas a partir de la vía del acetato-mevalonato y constituidas por un número variable de unidades isoprenicas (C5) y se clasifican de acuerdo con el número de isoprenos: dos unidades isoprenicas (monoterpenos), tres unidades (sesquiterpenos), cuatro (diterpenos), cinco (sesterterpenos), seis (triterpenos) y ocho (tetraterpenos) (Wink, 2010). Los terpenos se distribuyen ampliamente en el género *Salvia*, siendo los diterpenos y triterpenos los más estudiados por sus actividades biológica (Janicsák *et al.*, 2015).

Más de 550 diterpenos han sido aislados de especies de *Salvia*, ampliamente distribuidas en México, Turquía, España y China. Estos diterpenos son de dos categorías. La primera incluye diterpenos monocíclicos y bicíclicos (labdanos, clerodanos, neoclorodanos, seco-clerodanos y otros derivados de los clerodanos). Dentro de la segunda categoría se incluyen los diterpenos tricíclicos y tetracíclicos

(abietanos, nor-abietanos, tachinonas y otros derivados de los abietanos) (**Fig. 1**) (Kabouche *et al.*, 2008). Un gran número de diterpenos exhiben interesantes actividades biológicas, como antituberculosis, antitumorales, antibacteriales, antiparasitarias y antiespasmódicas (Kabouche *et al.*, 2008).

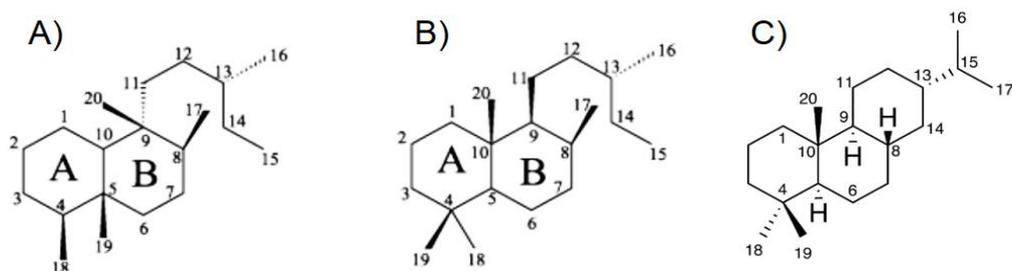


Figura 1. Diterpenos bicíclicos y tricíclicos. Tipo clerodano (A) labdano (B) y abietano (C).

Se han aislado un total de 74 triterpenos y esteroides en las salvias, entre los cuales se encuentran ursanos, oleananos, lapanos, dammaranos y esteroides (Wu *et al.*, 2012). Sin embargo, los más comunes son los ácidos ursólico y oleanólico (**Fig. 2**), ambos triterpenos poseen propiedades antiinflamatorias, hepatoprotectoras, antitumorales, antivirales, antimicrobianas y gastoprotectoras (Janicsák *et al.*, 2015).

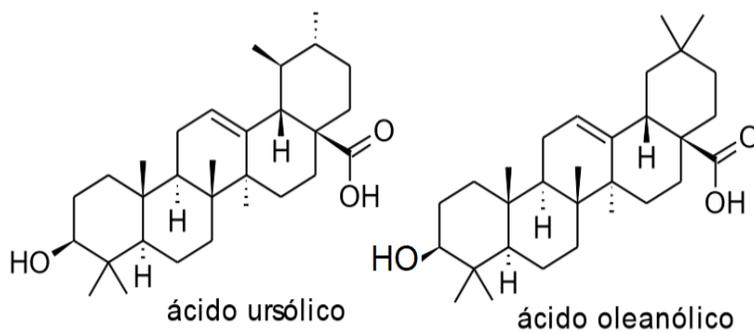


Figura 2. Ácido ursólico y el ácido oleanólico.

### 2.4.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Estos metabolitos secundarios proceden de dos vías biogénicas: 1) vía del ácido shikímico precursor de cumarinas, lignanos, fenilpropanoides, compuestos aromáticos simples, taninos y quinonas y 2) vía del acetato malonato y conduce a la formación de compuestos policíclicos, quinonas, isocumarinas (Peñarrieta *et al.*, 2014). Los compuestos fenólicos, de acuerdo con el número de carbonos en su molécula se clasifican en: fenoles simples (C6), ácidos derivados del ácido benzoico (C6-C1), ácidos fenilacéticos (C6-C2), ácidos derivados del ácido cinámico (C6-C3), flavonoides (C15), biflavonoides (C30), entre otros (Peñarrieta *et al.*, 2014). Los ácidos fenólicos más abundantes en las especies de *Salvia* son el caféico, ferúlico, cumárico y rosmarínico (**Fig. 3**) (Islas, 2013).

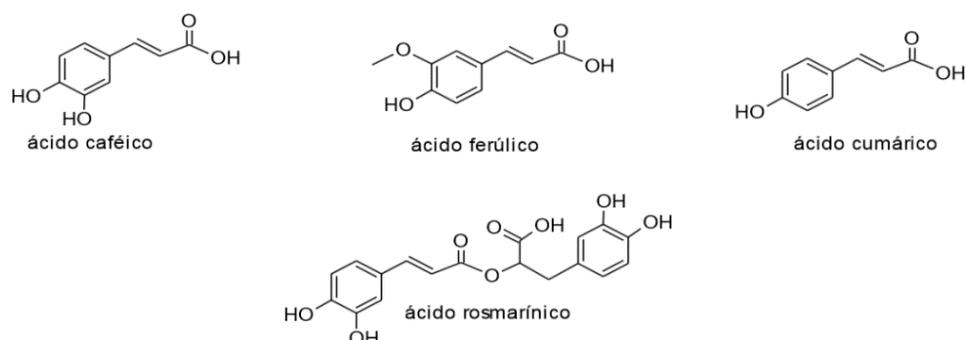


Figura 3. Estructura química de los ácidos fenólicos más abundantes en salvias. Derivados del ácido benzoico y del ácido cinámico.

Los flavonoides también están ampliamente distribuidos en las especies de *Salvia*, los principales son apigenina, luteolina, quercetina, canferol y rutina (**Fig. 4**) (Islas, 2013).

Las actividades biológicas de los compuestos fenólicos se han registrado como antioxidante, antitumoral, antiinflamatoria, antimicrobiana, quimiopreventiva, neuroprotectora, antiinflamatoria (Lázaro, 2009).

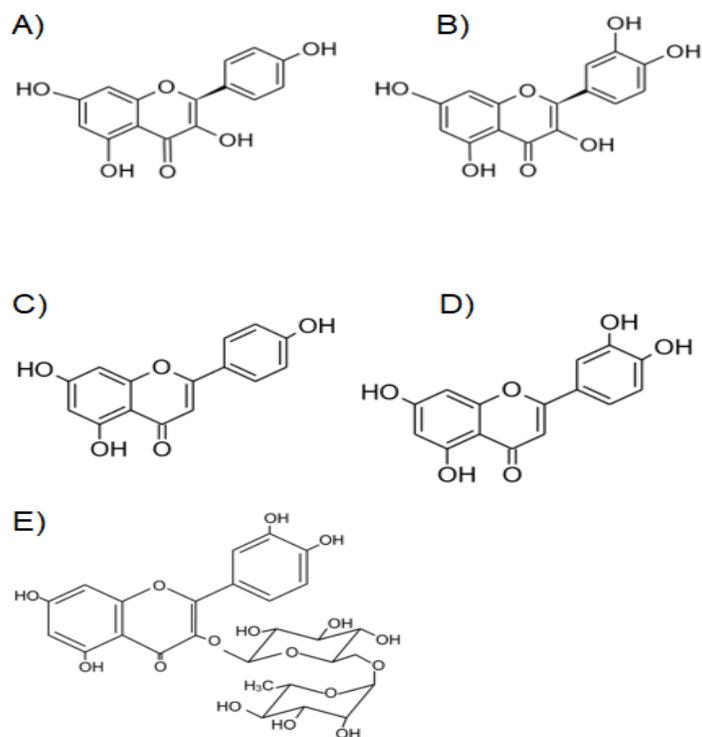
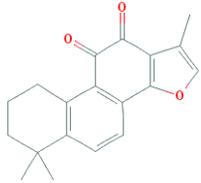
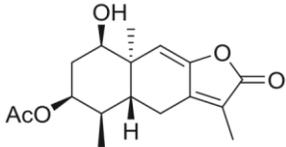
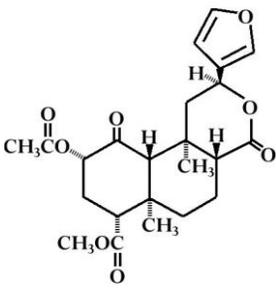
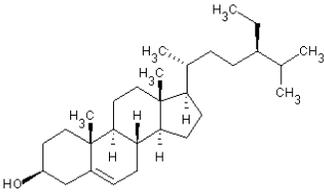
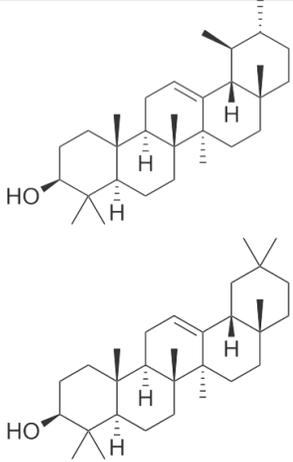


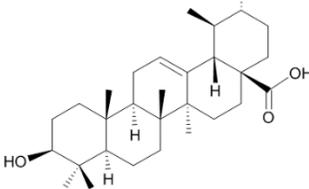
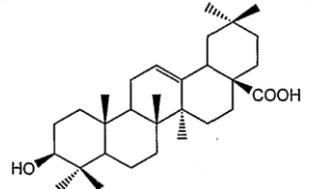
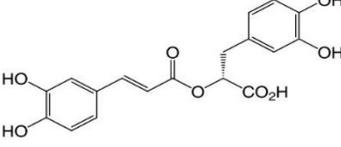
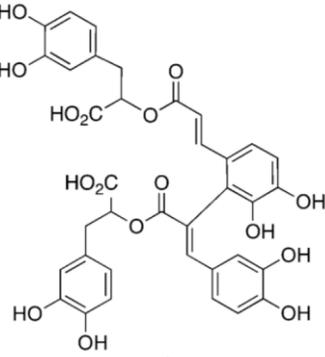
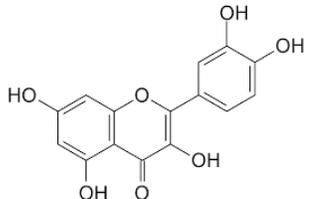
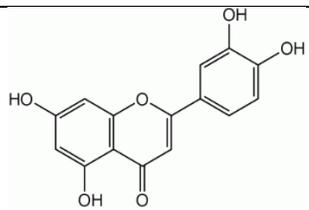
Figura 4. Flavonoides más comunes en salvias. Flavonas como A) camferol, B) quercetina, C) apigenina y D) luteolina. Flavonoide glicosilado E) rutina.

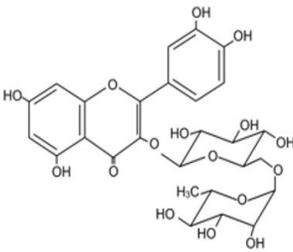
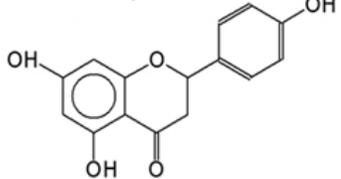
### 2.5 Compuestos con actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del género *Salvia*.

Existen diferentes formas para evaluar la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria de los productos naturales (Le Bars *et al.*, 2001; Barrot, 2012). En el género *Salvia* se han aislado diversos compuestos con actividad antiinflamatoria y antinociceptiva, destacando terpenos y flavonoides como responsables, por ejemplo, se aisló un sesquiterpeno, plebeilide C, de las hojas de *S. plebeia*, que inhibe la producción de óxido nítrico (NO) inducido por lipolisacaridos (LPS) (Liu y Huang, 2014). La salvinatorina A de *S. divinorum* Epling, se ha propuesto como un agonista no alcaloide de los receptores de opioides K, que tienen efecto en las vías de nocicepción centrales (McCurdy *et al.*, 2006). En el **cuadro 1** se enlistan terpenoides y compuestos fenólicos del género *Salvia* que se han reportado por poseer actividad antinociceptiva y antiinflamatoria.

Cuadro1. Terpenos y flavonoides con actividad antinociceptiva y antiinflamatoria aislados de especies de *Salvia*

Compuesto	Estructura química	Actividad	Referencia
Tanchinona II A (Triterpeno)		Antiinflamatorio	Liu y Huang, 2014 Jie <i>et al.</i> , 2014
Plebeiolide C (Diterpeno)		Antiinflamatorio	Dai <i>et al.</i> , 2014 Jang <i>et al.</i> , 2016
Salvinorina A (Diterpeno)		Antinociceptivo- Analgésico	Roach y Shenvi, 2018
$\beta$ -sitosterol (Triterpeno)		Antiinflamatorio	Bustos-Brito 2011 Kim <i>et al.</i> , 2014
$\alpha$ - $\beta$ amirina (Triterpeno)		Antiinflamatorio Antinociceptivo	Nogueira <i>et al.</i> , 2018

<p>Ácido ursólico</p> <p>(Triterpeno)</p>		<p>Antiinflamatorio</p> <p>Antinociceptivo</p>	<p>Pironi <i>et al.</i>, 2018</p> <p>Verano <i>et al.</i>, 2013</p>
<p>Ácido oleanólico</p> <p>(Triterpeno)</p>		<p>Antiinflamatorio</p> <p>Antinociceptivo</p>	<p>Park <i>et al.</i>, 2013</p> <p>Xu <i>et al.</i>, 2014</p>
<p>Ácido rosmarínico</p> <p>(Ácido fenólico)</p>		<p>Antiinflamatorio</p>	<p>Liu <i>et al.</i>, 2018</p>
<p>Ácido salvianólico B</p> <p>(Ácido fenólico)</p>		<p>Antiinflamatorio</p>	<p>Liu <i>et al.</i>, 2018</p>
<p>Quercetina</p> <p>(Flavonoide)</p>		<p>Antiinflamatorio</p>	<p>Liu <i>et al.</i>, 2018</p>
<p>Luteolina</p> <p>(Flavonoide)</p>		<p>Antiinflamatorio</p>	<p>López- Lázaro, 2009</p>

Rutina (Flavonoide)		Antiinflamatorio	Nikfarjam <i>et al.</i> , 2017
Naringenina (Flavonoide)		Antiinflamatorio Antinociceptivo	Pinho-Ribeiro <i>et al.</i> , 2016

## 2.6 Usos etnobotánicos, fitoquímica y farmacología del género *Salvia* en México

En México, desde tiempos ancestrales y debido a su diversidad cultural, se han propiciado diversas formas de usos para las plantas del género *Salvia*, de las cuales destacan por su valor nutrimental (*Salvia hispánica L.*) (Cahill, 2001), actividades relacionadas con la concepción del mundo -rituales espirituales- (*Salvia divinorum* Epling y Játiva-M.) (Jenks y Kim, 2013) y alivio de enfermedades del cuerpo y del alma. En el **cuadro 2** se describen los usos en medicina tradicional, su actividad biológica, fitoquímica y farmacología de las especies de salvias en México.

De las 300 especies de *Salvia* distribuidas en México (Walker *et al.*, 2004), solo 47 (15.6%), cuentan con un registro en la literatura de sus usos tradicionales, su fitoquímica y/o farmacología. Con respecto a la etnobotánica, 23 (7.6%) especies tienen un registro de uso medicinal dentro de los cuales, los más mencionados son para el dolor e inflamación (12 especies), 10 de éstas cuentan con estudios fitoquímicos, y solamente 8 de ellas han sido evaluadas por sus efectos antinociceptivos y antiinflamatorios.

Existe información fitoquímica de 43 especies (14.3%), donde los principales compuestos sintetizados por las salvias son de naturaleza terpenoide, dentro de los cuales, los de mayor diversidad son los diterpenos y los más comunes los triterpenos ursólico y oleanólico. Solo 20 especies (6.6 %) han sido estudiadas biológicamente, dentro de éstas, los efectos más evaluados son antiinflamatorio y antimicrobiano en los extractos de salvias, mientras que, de los compuestos aislados, se estudió su citotoxicidad en líneas celulares de cáncer. Se han registrado en 8 especies (2.6%) estudios farmacológicos que confirman actividad antinociceptiva, y/o antiinflamatoria.

Los estudios realizados para verificar su seguridad y toxicidad son escasos, solo se ha determinado el margen de seguridad de 3 especies (0.66%), *S. ballotiflora*, *S. circinata* y *S. divinorum*, el margen de seguridad de estas especies es mayor a 625 mg/Kg, sin embargo, los estudios a nivel mundial registran que en general son seguras y los estudios sugieren que las dosis tóxicas superan los 2000 mg/kg (Sharifi-Rad et al., 2018).

La revisión realizada de salvias mexicanas nos permitió visualizar que los estudios son escasos, y esto contrasta con los reportes de salvias a nivel mundial, en este sentido, es necesario ampliar las investigaciones al respecto.

Cuadro 2. Etnobotánica, fitoquímica y farmacología de salvias mexicanas

Etnobotánica			Fitoquímica	Farmacología	Referencia
Especie	Nombre común	Usos			
<i>S. adenophora</i> Fernald	s.i.	Diarrea	Diterpenos (parte aérea): Derivados del ácido hardwickii	s.i.	Bisio <i>et al.</i> , 2014 Calzada <i>et. al.</i> , 2015
<i>S. albocaerulea</i> Linden	s.i.	s.i.	Triterpenos (parte aérea): Sugiol, bromo lactona, ácido oleanólico (AO) y maslínico	Extracto de acetona: Antimicrobiano	Pereda <i>et al.</i> , 1992
<i>S. anastomosans</i> Ramamoorthy	s.i.	s.i.	Diterpenos: Roileoanona, horminona, desacetilnemorona, desacetoxinemorona	s.i.	Medina, 1998

<i>S. aspera</i> M.Martens & Galeotti	s.i.	s.i.	Diterpenos (parte aérea): Salviasperanol, sugiol y taxodione. Triterpeno: Ambliol, damarano, semiatrina, $\beta$ - sitostero	s.i.	Guerrero, 1993 Esquivel, B. <i>et al.</i> , 2002 Baldomero <i>et al.</i> , 1995.
<i>S. apiana</i> Jeps	s.i.	Dolor de garganta, tos, resfriado e infecciones de pecho.	Terpenos: rosmadial, carnosol, ferruginol, miltiodiol, criptotansinona, salvicanol. Trterpenos: AO, ácido ursólico (AU). Flavonoides: sageona, cirsimaritina, salvigenina	Extracto de hexano: Antibacterial y antifúngico	Córdoba-Guerrero <i>et al.</i> , 2016.  Srivedavyasasri <i>et al.</i> , 2017.  Dentali <i>et al.</i> , 1990.
<i>S. axillaris</i> Moc.	s.i.	s.i.	Diterpeno: Tanchinona	s.i.	Esquivel <i>et al.</i> , 1997
<i>S. ballotiflora</i> Benth y Labiat	Mejorana	Baños postparto	Diterpenos (parte aérea): Icetexona (ICT), 19- deoxicetexona (DEOX) 19-deoisocetexona (DIC) y conacitona.	DEOX: Antidiarreico y citotóxico DIC: Citotóxico ICT: Antioxídante Conacitona: Antiinflamatorio La DL <sub>50</sub> del extracto acuoso= 625 mg/ Kg	Pérez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2013 Baldomero- Esquivel <i>et al.</i> , 2017 Campos-Xolapa <i>et al.</i> , 2017.
<i>Salvia blepharophylla</i> Brandegge ex Epling	s.i.	s.i.	Terpenos: AU, blefarolide A y B. Flavonoide: Pedalitina	s.i.	Bisio, <i>et al.</i> , 1999.
<i>S. breviflora</i> Moc & Sessé ex Benth	s.i.	s.i.	Diterpeno: Brevifloralactona, AU y AO.	s.i.	Cuevas <i>et al.</i> , 1987.
<i>S. candicans</i> M Martens y Galeotti	s.i.	s.i.	Diterpenos: ICT, 7-O- metilconacitona (7OM), anastomosina Triterpenos: AU y AO	7OM: citotóxico (próstata y leucemia).	Esquivel <i>et al.</i> , 1997 Colin, 2013
<i>S. carduacea</i> Benth	s.i.	s.i.	Triterpenos: AU y AO	s.i.	Ballesta-Acosta, <i>et al.</i> , 2002
<i>S. chamaedryoides</i> Cav e Icon	s.i.	s.i.	Diterpenos (parte aérea): Salvimicrofilina B, 7- $\alpha$ - hidroxibacotricuneatina A, tilifodiolida, esplendidina C.	Extracto de cloroformo: Antimicrobiano e hipoglucémico	Bisio <i>et al.</i> , 2017
<i>S. cinnabarina</i> M. Martens & Galeotti.	s.i.	Tos, bronquitis	Diterpeno: ácido 3,4- secoisopimara- 4(18),7,15-trien-3-oico (STO3), ácido 3,4- seicosopimarano- 4(18),7,15-triene-3-oico (SCB)	STO3: Antiespasmódico SCB: Efecto en la presión sanguínea	Di Sotto <i>et al.</i> , 2009 Bisio <i>et al.</i> , 2007 Romussi <i>et al.</i> , 2001. Argueta <i>et al.</i> , 1994
<i>S. circinnata</i> Cav. e Icon	Hierba del cáncer, Toronjil, Mirto rojo	Dolor de estómago, diabetes	Diterpenos (Parte aérea): Teotihuacanina (TE), amarisolide (AM) dugesina F, infuscatina  Flavonoides: Pedalitina (PE) Apigenina	Extracto acuoso, AM y PE con efecto hipoglucémico TE y AM con efecto citotóxico  La DL <sub>50</sub> del extracto acuoso > 5g/Kg	Nambo, 2015 Flores-Bocanegra <i>et al.</i> , 2017 Bautista <i>et al.</i> , 2017

<i>S. clevalandii</i> A.	Salvia de Cleveland, Salvia azul y Salvia jim	s.i.	Diterpenos (raíz): Carnosol, rosmanol, isorosmanol	Isorosmanol: Citotóxico colón y páncreas	Guerrero <i>et al.</i> , 2006
<i>S. coccinea</i> Juss. Ex Murr	Flor de colibrí, Hoja de viento	Disenteria, Aire, espanto, dolor de estómago, diarrea	s.i.	s.i.	Jenks y Kim, 2013 Guzman, 2014 Argueta <i>et al.</i> , 1994
<i>S. columbariae</i> Benth	Chía	Problemas de coagulación.	Diterpenos: Tanchinona, miltionona y criptotanchinona.	s.i.	Adams <i>et al.</i> , 2005
<i>S. connivens</i> Epling,	s.i.	Inflamación de ojos, fiebre, diarrea	Triterpenos (parte aérea): AU y AO	Extracto de metanol: Antiinflamatorio, antidiarreico	González-Chávez, 2013 Pérez-Gutierrez <i>et al.</i> , 2014
<i>S. divinorum</i> Epling y Játiva	Pastora, María, Hojas de María, Hierba de la pastora	Rituales espirituales, alucinógeno, diarrea, dolor de cabeza, reumatismo	Diterpenos (parte aérea): Salvinorina A y B	Extracto de hexano: Antinociceptivo, antiinflamatorio, analgésico, sedante La DL <sub>50</sub> del extracto de metanol >2000 mg/Kg	Valdés <i>et al.</i> , 1983 Simón-Arceo <i>et al.</i> , 2017 González-Trujano <i>et al.</i> , 2016
<i>S. elegans</i> Vahl.	Mirto, Salvia de flor roja, Yerba del burro	Dolor de estómago, espanto, aire, insomnio, dolor de cabeza	Triterpenos (parte aérea): Ácido ursólico Flavonoides: Isosacuranetina-5-O-rutinosido	Extracto de metanol: Antidepresivo, ansiolítico, antihipertensivo	González-Cortázar <i>et al.</i> , 2013 Bautista <i>et al.</i> , 2014 Argueta <i>et al.</i> , 1994
<i>S. farinacea</i> Benth	s.i.	s.i,	Flavonoides (hojas): Rutina y quercetina	s.i.	Popova <i>et al.</i> , 2016
<i>S. filipes</i> Fernald	s.i.	s.i.	Diterpenos: Salvifiline A, B. Triterpenos: AU, AO betulínico Flavonoides: Eupatorina	s.i.	Maldonado <i>et al.</i> , 2016
<i>S. fruticulosa</i> Benth.	s.i.	s.i.	Diterpeno: Fruticulina	s.i.	Rodríguez-Hahn <i>et al.</i> , 1989
<i>S. fulgens</i> Cav	Mirto	Somnífero infantil, limpias, enfermedades estomacales	Diterpenos (parte aérea): Salvigenolide, ácido sandaracopimárico, salvioccidentalín Triterpeno: $\beta$ -sitosterol	s.i.	Baldomero <i>et al.</i> , 1985 Esquivel <i>et al.</i> , 1996 Argueta <i>et al.</i> , 1994
<i>S. gesneriiflora</i> Lindl.	Mirto	Dolor, Diarrea	s.i.	s.i.	Guzmán, 2014
<i>S. greggii</i> A Gray	Salvia de otoño	s.i.	Diterpenos (parte aérea): Salvigresina, salviarina, Ácido isopimárico	s.i.	Kawara <i>et al.</i> , 2003
<i>S. hispanica</i> L.	Chía	Suplemento nutricional, enlechado de los niños	Ácidos grasos. Ácidos fenólicos: Rosmarico, salvianólico, clorogénico, gálico Flavonoides: canferol, quercetina, rutina	Extracto de metanol: Antigenotóxico, antioxidante	Oliveira-Alves <i>et al.</i> , 2017 Vuksan <i>et al.</i> , 2017 Rosa <i>et al.</i> , 2017 De Falco <i>et al.</i> , 2018
<i>S. involucrata</i> Cav.	s.i.	Aire	s.i.	s.i.	Jenks y Kim, 2013
<i>S. laevis</i> Benth.	Salvia real	Parto	s.i.	s.i.	Guzmán, 2014
<i>S. lavanduloides</i> Kunth	Altamiza, alucema, azulilla, cenicilla.	s.i.	Diterpenos: Salviadulinas A, B y C. Triterpenos: AU y AO	s.i.	Maldonado <i>et al.</i> , 1994 Maldonado <i>et al.</i> , 1992

			Flavonoides: Eupatorín, glucoférido		Ortega <i>et al.</i> , 1991
<i>S. leucantha</i> Cav.	Cordón de Jesús, Algodoncillo, Moco de palo	Dolor, abortiva, mal aire, tos, dolor de pulmón	Diterpeno: Salvileucalina B	Salvileucalina B: Citotóxico (cáncer pulmonar) Extracto de metanol: Antioxidante, antiinflamatorio, analgésico y antimicrobiano	Guzmán, 2014 Aoyagi <i>et al.</i> , 2008 Ibrahim, 2012. Argueta <i>et al.</i> , 1994
<i>S. melissodora</i> Lag	s.i.	s.i.	Triterpenos (parte aérea): $\beta$ -sitosterol, ácidos ursólico y oleanólico. ácido melisodórico	s.i.	Baldomero <i>et al.</i> , 1988 Baldomero <i>et al.</i> , 1989
<i>S. mellifera</i> Greene	s.i.	s.i.	Triterpenos: Lupeol, ácido ursólico, carnosol Flavonoides: Rosmanol	s.i.	González <i>et al.</i> , 1989 González <i>et al.</i> , 1992
<i>S. mexicana</i> L	s.i.	Diarrea	Triterpenos: $\beta$ -sitosterol, betulinos, AU-AO y arbutina. Flavonoide: Naringenina	Extracto de acetona y metanol: Antiinflamatorio y antioxidante	Calzada <i>et al.</i> , 2015 Fontana-Uribe <i>et al.</i> , 2011 Argumedo-Delira <i>et al.</i> , 2003
<i>S. microphylla</i> Kunth	Bandera mexicana, Mirto, Mustia	Susto, espanto, mal de ojo, nervios, mal aire, granos y salpullido, sarampión, diarrea, empacho, bilis, dolor de oído, limpias	Triterpenos (parte aérea): $\beta$ -sitosterol, ácido ursólico. Diterpeno: Salviamicrofilina A-D Ácidos fenólicos	Extracto de metanol: Antiinflamatorio	Martínez <i>et al.</i> , 1989; Taylor <i>et al.</i> , 2006 Jenks y Kim, 2013 Bautista <i>et al.</i> , 2014 Argueta <i>et al.</i> , 1994
<i>S. oaxacana</i> Fernald	s.i.	s.i.	Diterpenos (parte aérea): Taxodona, sugiol, 14-deoxicoleona	s.i.	Esquivel <i>et al.</i> , 1996
<i>Salvia occidentalis</i> S.W.	s.i.	s.i.	Salvioccidentalina	s.i.	Jaime-Vasconcelos <i>et al.</i> , 2011
<i>S. pachyphylla</i> Epling ex Munz	s.i.	s.i.	Diterpenos: Carnosol, rosmanol, ácido carnosico, isorosmanol y pachifilona	s.i.	Guerrero <i>et al.</i> , 2006
<i>S. polystachia</i> Ort.	Chía de campo, Salvia compacta	Empacho, purgativo, diurético, hemorragias nasales	Diterpenos: Linerolactona polistachina A-F, salvifaricina, salvifilina A y C	Linerolactona: Antiparasitario	Calzada <i>et al.</i> , 2010 Bautista <i>et al.</i> , 2017
<i>S. purpurea</i> Cav.	Moradita	Dolor de muela, antidiarreico, baños postparto	Triterpenos (parte aérea): Ácidos ursólico y oleanólico, $\beta$ -sitosterol, ácido betulínico	Extracto de metanol: antiinflamatorio	Dominguez-Vazquez y Castro-Ramírez, 2002 Nambo, 2015 Hernández-Ortega, 1989
<i>S. ramosa</i> Brandege	s.i.	s.i.	Terpenos (raíz): Salviarina Flavonoides: jaceodidina, cirsineol	s.i.	Esquivel <i>et al.</i> , 1996

<i>S. reflexa</i> Hornem	Planta de menta	s.i.	Terpenos (parte aérea): Salviarina Ácidos fenólicos: ácido rosmarínico Alcaloide: Colina	Extracto acuoso: Antioxidante  Colina: Citotóxico	William y Hines, 1940 Nieto <i>et al.</i> , 1996 Malencic <i>et al.</i> , 2000
<i>S. regla</i> Cav	s.i.	s.i.	Triterpenos (raíz): Ácidos ursólico y olenólico, seseina, β-sitosterol	s.i.	Ortega <i>et al.</i> , 1995 Hernández <i>et al.</i> , 1987
<i>S. reptans</i> Jacq	Hierba de la golondrina, Romeril	Dolor estomacal, Fiebre	Diterpenos (parte aérea): Salvireptanolide Triterpenos: Ácidos ursólico y oleanólico, β-sitosterol Flavonoides: Diosmetina	Extracto de hexano: Antimicrobiano	Martínez-Vázquez <i>et al.</i> , 1998 Baldomero-Esquivel <i>et al.</i> , 1991
<i>S. semiatrata</i> Zucc.	Mirto morado	Cicatrizante, golpes, dolor de oído y estómago, baños postparto, tensión nerviosa	Diterpenos: Semiatriin y salvifarin		Nambo, 2015 Argueta <i>et al.</i> , 1994
<i>S. tiliifolia</i> Vahl,	Chan de monte	s.i.	Diterpenos: Tilifodiolida, tilidolidiona, ferrugino, tiliofilinas A-E Flavonoides: Isosalipurpol	Extracto de acetona: Neuroprotectivo  Extracto de metanol: Antiinflamatorio y antinociceptivo  Tiliofilina E: Efecto neuronal	Rodríguez <i>et al.</i> , 1990 Adewusi <i>et al.</i> , 2011 Fan <i>et al.</i> , 2017 González-Chávez <i>et al.</i> , 2018
<i>S. xalapensis</i> Benth	s.i.	s.i.	Diterpenos (hojas): Salvixalapadieno, Isosalvixalapadiano, salvixalapoxido	s.i.	Calzada <i>et al.</i> , 2015

Sin información (s.i.)

## 2.7 *Salvia purpurea* Cav.

Es una hierba perenne que llega a medir 2.5 m, los tallos algunas veces tornándose púrpura, glabrescentes a pelosos con tricomas simples multicelulares (**Fig. 5**). Con floración en los meses de marzo, septiembre, octubre y noviembre. Se distribuye ampliamente desde Jalisco, centro y sur de México hasta Costa Rica. Habita en Bosques montañosos húmedos y bosques de *Quercus-Pinus*. Es una especie muy visitada por colibríes. Es conocida con el nombre común de “moradita” en Oaxaca y santomexochitl en Veracruz (Guzman, 2014). Se reconocen como sinónimos: *Salvia affinis* Schtdl. & Cham., *Salvia farinosa* M Martens & Galeotti, *Salvia graciliflora* M. Martens & Galeotti, *Salvia iodanta* Fernald, *Salvia michoacana* Fernald, *Salvia oxyphylla* Brandegees, *Salvia purpurea* var. *pubens* A. Gray. (Instituto de Biología, 2010; Tropicós, 2018).

*Salvia purpurea* es una especie utilizada en la comunidad de Santiago Huaucuililla, Oaxaca para aliviar el dolor de muela, se usan las hojas en fresco de forma oral (Nambo, 2015). En el municipio de Xalapa, Veracruz la usan para dar baños postparto y hemorragias nasales, emplean la parte aérea (Guzmán, 2014). En Chiapas se emplea principalmente para los malestares estomacales (diarrea y disentería), se aprovecha la parte aérea en infusiones de forma oral (Domínguez-Vázquez y Castro-Ramírez, 2002). Hernández-Ortega en 1989 realizó un estudio fitoquímico y reportó triterpenos y esteroides como ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido betulínico y  $\beta$ - sitosterol en el extracto de metanol.



**Figura 5. *Salvia purpurea***

### *2.8 Dolor*

La IASP, define dolor como una “sensación no placentera y experiencia emocional asociada con un actual o potencial daño tisular o descritas en términos de dicho daño” (Merskey y Bugduk, 1994). Dolor es una experiencia subjetiva, que no puede ser fácilmente medible. Describiendo dolor como una “experiencia” separa dolor de “nocicepción”. Nocicepción es el proceso neural que envuelve procesos de transducción y transmisión del estímulo nocivo hacia el cerebro. Dolor es el resultado de una compleja interacción entre sistemas de señalización, modulación de centros y la única percepción del individuo (Steeds, 2016).

## 2.9 Clasificación del dolor

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se clasifica el dolor de acuerdo con su origen anatómico, por su relación con otras enfermedades (etiológico), a la intensidad de la experiencia, la duración del dolor y por sus mecanismos fisiopatológicos (**Fig. 6**), sin embargo, ésta clasificación no es excluyente en sus categorías, pero es importante en la clínica diferenciarlas para su óptimo tratamiento (Montgomery *et al.*, 2017).

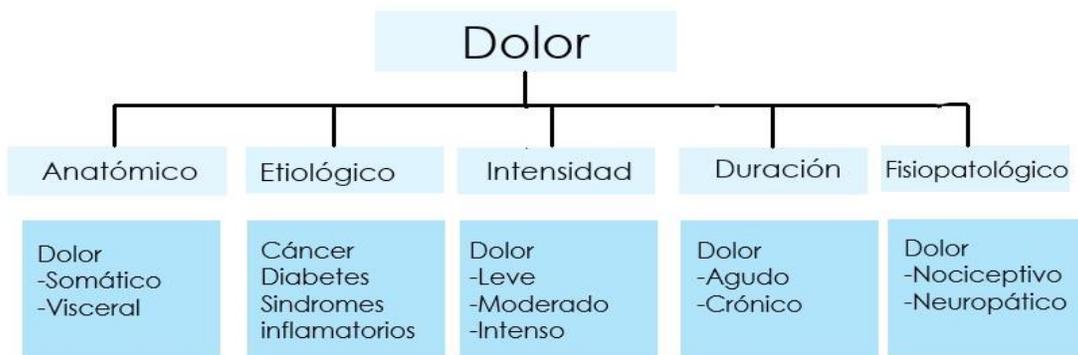


Figura 6. Clasificación del dolor

### 2.9.1 Según su origen anatómico

Se puede clasificar el dolor de acuerdo con el área en el cuerpo donde se experimenta el dolor (Montgomery *et al.*, 2017), así se puede dividir como:

*Dolor somático:* El dolor ocurre en la piel, músculos, articulaciones, ligamentos o huesos. Se trata de un dolor bien localizado, circunscrito a la zona dañada y caracterizado por sensaciones claras y precisas (López *et al.*, 2007).

*Dolor visceral:* Se produce sobre órganos internos, por lo que es la forma de dolor que aparece más frecuentemente como consecuencia de enfermedades. Una de

las características que tiene es que se puede presentar, aunque no exista una lesión en el órgano (López *et al.*, 2007).

### *2.9.2 Según su origen etiológico*

Se refiere al factor causal que origina el dolor. Este dolor debe su origen a las enfermedades como cáncer, diabetes, enfermedades inmunes, insomnio y desordenes neuropáticos entre otros, por lo cual, en algunas condiciones el dolor puede llegar a ser crónico y es necesario el implemento de los tratamientos para cada condición (Cole, 2017).

### *2.9.3 Según su intensidad*

Puede describirse como dolor leve, moderado o intenso y las personas usan escalas para describir la sensación (IASP, 2017).

### *2.9.4 Según su duración*

Representa el tiempo en el cual se experimenta dolor. Se reconocen principalmente el agudo y el crónico (Montgomery *et al.*, 2017):

*Dolor agudo:* Se reconoce como dolor agudo aquel que tiene una duración aproximada de 3 a 6 meses. Es la consecuencia inmediata de una señal de alarma en los sistemas protectores del organismo, está asociado con traumas en daño tisular o visceral por lo cual el dolor deja de percibirse en cuanto el trauma sea reparado (López *et al.*, 2007; Montgomery *et al.*, 2017).

*Dolor crónico:* Se reconoce como dolor agudo aquel que persiste por más de 6 meses (Porche, 2010). Puede ocurrir de forma intermitente y otras veces continua. Es comúnmente asociado con varias enfermedades como cáncer, artritis, SIDA y desordenes neuropáticos (Montgomery *et al.*, 2017).

### 2.9.5 Según sus mecanismos fisiopatológicos

Se basa en los mecanismos fisiopatológicos que originan dolor. Se describen tres vías importantes, la nociceptiva, la inflamatoria y la neuropática (**Fig. 7**) (Woolf, 2010).

*Dolor nociceptivo:* Forma parte del repertorio de sensaciones normales, como la visión o el tacto. Este tipo de dolor aparece en todos los individuos como consecuencia de la aplicación de estímulos que producen daño o lesión en órganos somáticos o viscerales. El dolor nociceptivo es la consecuencia de la activación del sistema neurofisiológico constituido por nociceptores periféricos, vías centrales de la sensación dolorosa y, finalmente corteza cerebral (López, *et al.*, 2007).

*Dolor inflamatorio:* Comparte características adaptativas y de protección con el dolor nociceptivo. Es activado por el sistema inmune por daño tisular o infección en el cual se secretan mediadores que sensibilizan la vía del dolor nociceptivo al igual que promueven la recuperación, éstos mediadores son las citocinas (Woolf, 2010).

*Dolor neuropático:* Este tipo de dolor no genera protección, es un dolor anormal, patológico, aparece como resultado de una enfermedad o lesión en el sistema nervioso central (SNC) o periférico (López *et al.*, 2007).

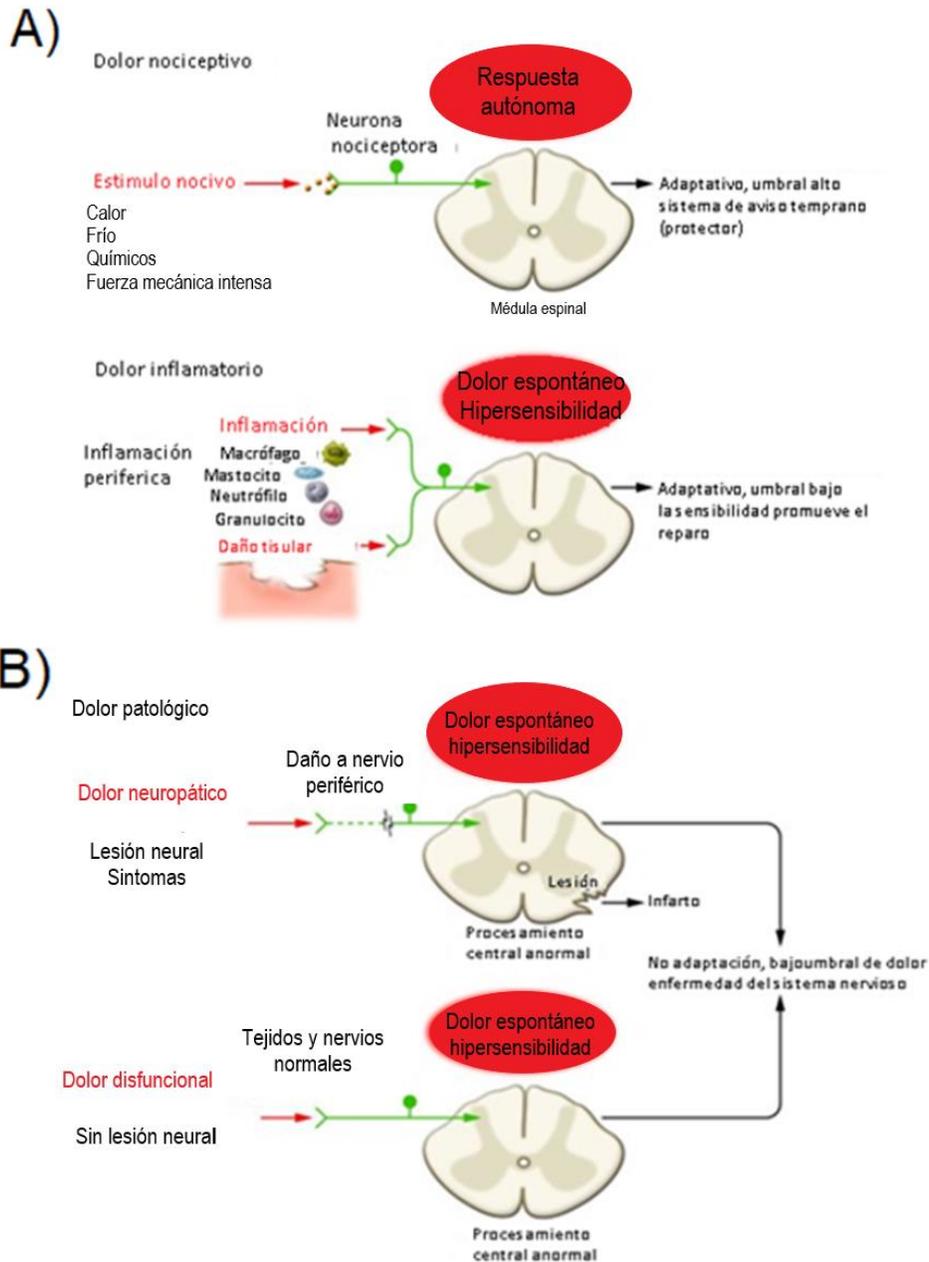


Figura 7. Clasificación fisiopatológica del dolor. (A) Dolor nociceptivo representado por el estímulo nocivo y la respuesta adaptativa de protección. (B) Dolor inflamatorio representado por los mediadores secretados por el sistema inmune que sensibilizan la vía nociceptiva. (C) Dolor neuropático representado por el daño en tejidos del sistema nervioso. Editado de Woolf, 2010.

## 2.10 Nocicepción

Nocicepción (*noci* deriva del latín *nocere*, “herir”) es un mecanismo sensorial que permite a los animales sentir y evitar un daño potencial, es crítico para la supervivencia (Tracey, 2017). Este proceso se lleva a cabo por los nociceptores, que son neuronas especializadas para detectar y responder a un daño que puede ser provocado por la temperatura, mecánico y químico (Tominaga, 2007; Tracey, 2017; Bell, 2018). El proceso nociceptivo envuelve señales desde la periferia hacia el cerebro donde el dolor es percibido. La vía se describe con cuatro procesos típicos (**Fig. 8**) (Steeds, 2016):

- a) *Transducción*: La conversión de la energía desde un núcleo sensorial ya sea térmico, mecánico o químico hacia energía eléctrica por receptores llamados nociceptivos.
- b) *Transmisión*: La transmisión de un sitio de transducción periférico hacia la espina dorsal y el cerebro.
- c) *Modulación*: El estímulo eléctrico sea suficiente para generar una respuesta por la espina dorsal o el cerebro.
- d) *Percepción*: La apreciación de la señal de dolor en las estructuras.

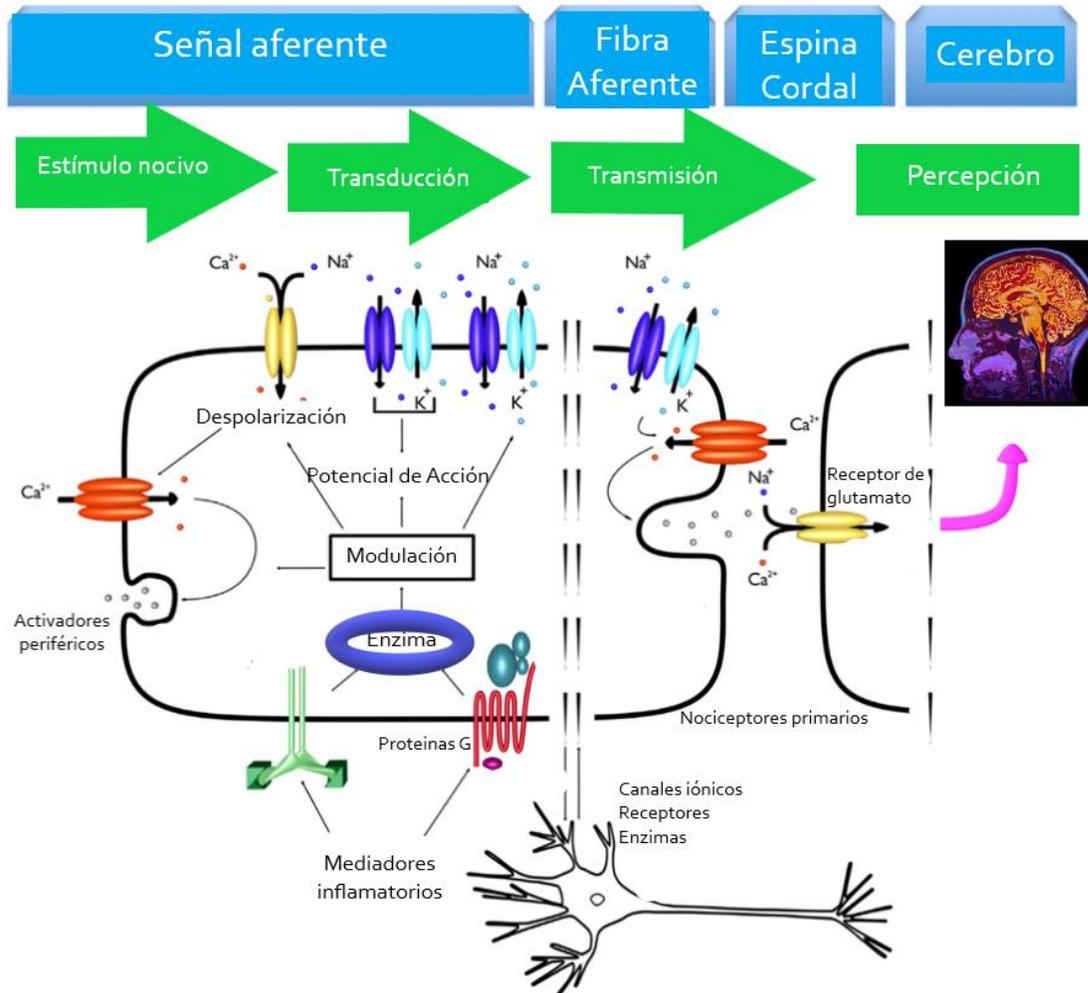


Figura 8. Vías de señalización del dolor. Desde el estímulo nocivo hasta la percepción del cerebro. . Modificado de Bell, 2018.

### 2.11 Nociceptores

Se conocen como nociceptores a las neuronas aferentes que se proyectan en los tejidos incluyendo piel, musculo y vísceras (Basbaum *et al.*, 2009), éstos constantemente reconocen el ambiente detectando cualquier señal de alarma y responden a estímulos que sean suficientemente intensos, que podrían indicar un posible daño (Mertens *et al.*, 2015). Los nociceptores están localizados en el ganglio de la raíz dorsal adyacente a la médula espinal o en el ganglio trigémino (Bell, 2018). Los nociceptores se clasifican en dos clases, los cuales responden a estímulos térmicos, mecánicos químicos, e inflamatorios (Steeds, 2016; Bell, 2018). Los

primeros son fibras largas, mielinizadas, llamadas fibras A $\delta$  y son responsables de la transmisión localizada y rápida del dolor (Ringkamp *et al.*, 2013). Los segundos no están mielinizados, son fibras cortas, denominados fibras C y son responsables del dolor del tipo difuso (Treede *et al.*, 1998).

## 2.12 Dolor visceral

El dolor visceral es el resultado de la activación de nociceptores que se encuentran en la parte torácica, pélvica o de órganos viscerales. La región torácica y los órganos viscerales están inervados por fibras del sistema nervioso simpático (toracolumbar) y parasimpático (craneosacral). El nervio vago (parasimpático) inerva toda la región torácica y los órganos abdominales bajos (estómago e intestino delgado) y las fibras de nervios simpáticos que vienen de la cadena ganglionar inerva órganos viscerales (estómago, intestinos, riñones y vejiga) (**Fig. 9**). (Kansal y Hughes, 2016). Este dolor viene acompañado de distensión, inflamación o isquemia (Kansal y Hughes, 2016). Es uno de los dolores más comunes y difíciles de manejar, por ser poco localizado y difuso (La y Gebhart, 2014; Kansal y Hughe, 2016).

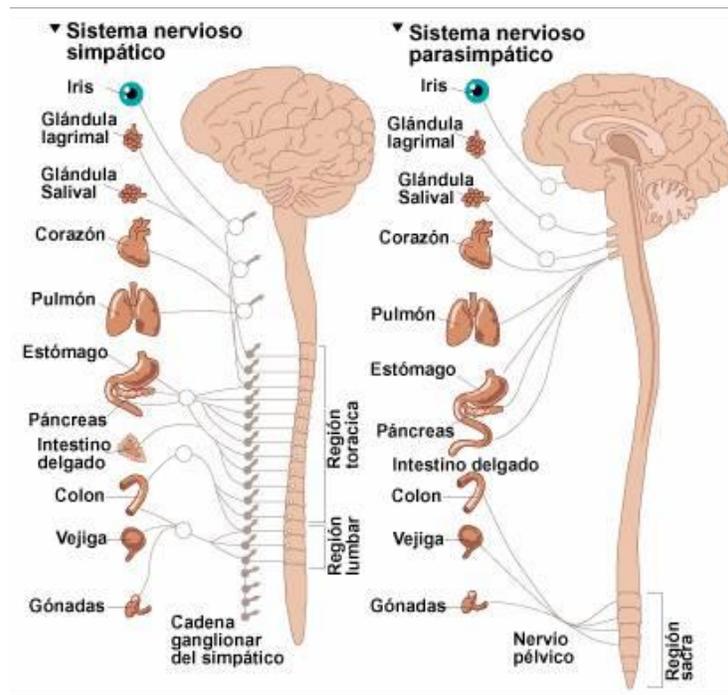


Figura 9. Vías neuronales eferentes que transmiten estímulos nocivos en órganos viscerales

### 2.13 Dolor inflamatorio

Se le denomina dolor inflamatorio al resultado endógeno que activa nociceptores terminales por medio de mediadores o factores inflamatorios. Comúnmente las enfermedades y lesiones resultan en este tipo de dolor (Dawes *et al.*, 2013). El sistema inmunológico tiene un rol importante en el proceso de dolor, la relación resulta en los cuatro puntos cardinales del proceso inflamatorio, en primer lugar, eritema y enrojecimiento (secundario a una vasodilatación), hinchazón (secundario al proceso de extravasación de las células inmunes) y por último la hipersensibilidad (secundario a la excitabilidad de los nociceptores) (Svensson y Sorkin, 2017).

Los nociceptores expresan receptores para los derivados de las células inmunes, estos incluyen citocinas, lípidos, proteasas y factores de crecimiento (**Fig. 10**), éstos desencadenan vías de señalización que cambian las propiedades excitatorias de los nociceptores (Pinho *et al.*, 2016). Las citocinas son mediadores críticos de la sensibilización de nociceptores, IL-1 $\beta$  fosforila los canales de Na<sup>+</sup> de los nociceptores (Ebbinghaus *et al.*, 2012) Il-6 y TNF $\alpha$  induce la producción de prostaglandinas la cual incrementa la expresión de TRPV1 y TRPA1 (Malsch *et al.*, 2014) Estos mediadores provocan la activación de los nociceptores provocando dolor inflamatorio.

Dada la habilidad de las neuronas de propagar el impulso nervioso, son las primeras células que responden ante una lesión. Y es por ello por lo que el proceso inflamatorio que se activa por la vía nociceptiva se le conoce como inflamación neurogénica. Los nociceptores aferentes no solo conducen la información hacia la médula espinal o al cerebro, también tiene funciones eferentes, a esta propiedad de producir efectos en ambos sentidos se le conoce como reflejo de la espina dorsal, por lo cual el proceso inflamatorio neurogénico es bidireccional (Pinho *et al.*, 2016)

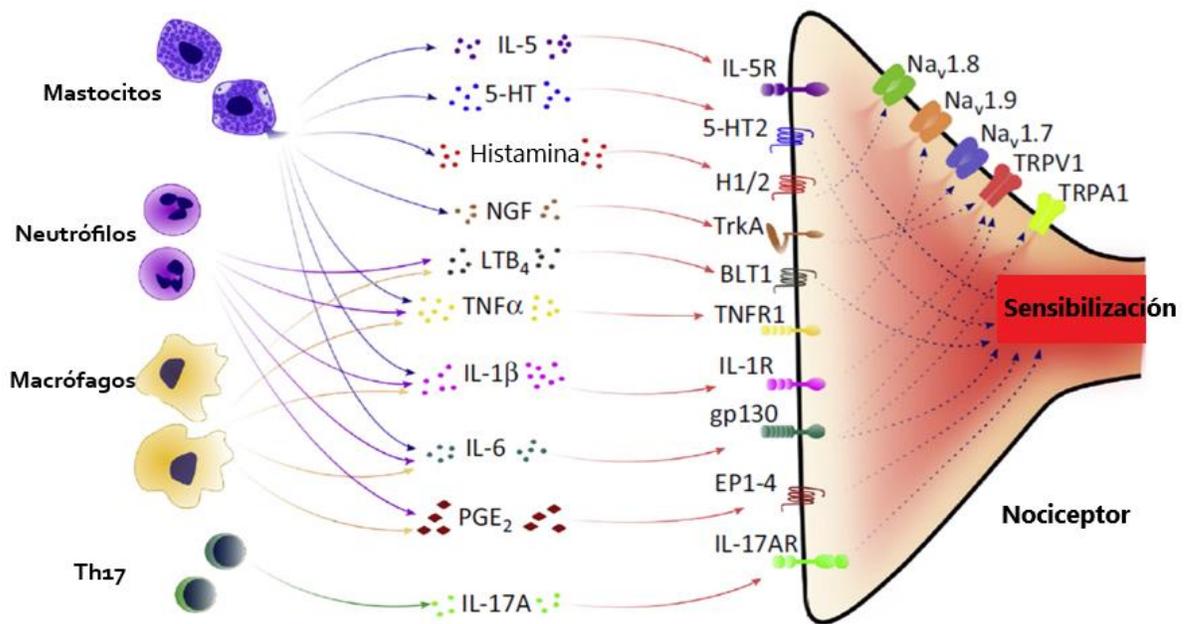


Figura 10. Sensibilización de los nociceptores por mediadores inflamatorios. Modificado de Pinho *et al.*, 2016.

#### 2.14 Aspectos terapéuticos del dolor

Existen diversos tratamientos para aliviar el dolor, generalmente son categorizados como farmacológicos o no farmacológicos (NPC, 2001). Los no farmacológicos son usados para el tratamiento de dolor agudo y etiológico, los tratamientos incluyen rehabilitación física y psicológica, entre otros. Sin embargo, las personas que sufren dolor prefieren el uso de fármacos con propiedades analgésicas. Se define analgesia como la ausencia del dolor sin la pérdida del conocimiento (Kumar *et al.*, 2010). Desde el punto de vista farmacológico, el efecto analgésico se puede producir en tres niveles diferentes (IASP, 2017):

1. *Anestésicos locales*: Fármacos que interrumpen la transmisión del impulso nervioso. Lidocaína y procaína (Jacquier, 1997).
2. *A nivel SNC*: Mediante analgésicos que actúan a nivel del neuro-eje como los opioides (Kumar *et al.*, 2010).

3. *A nivel periférico*: Mediante el uso de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) que inhiben la transmisión por los nociceptores a nivel periférico (Burke *et al.*, 2016).

Su amplia distribución y el uso indiscriminado los han convertido en fármacos de administración controlada, ya que tienen severas reacciones secundarias como pérdida de la conciencia, alucinaciones, generan tolerancia, depresión (NCP, 2001), disfunción renal y falla hepática (Yogarathnam *et al.*, 2016). Asimismo, a algunos individuos les provoca reacciones alérgicas como anafilaxia (Creeg *et al.*, 2013).

Existe una gran variedad de analgésicos no opioides que se usan frecuentemente para aliviar varios tipos de dolor (traumas, cáncer, dolor de artritis), ejemplos de ellos son el paracetamol, los AINEs (aspirina, ketorolaco, diclofenaco, etc.), todos ellos tienen propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas (Miyoshi, 2001). Los AINEs son los fármacos más accesibles alrededor del mundo (NPC, 2001; Creeg *et al.*, 2013). Éstos exhiben su efecto analgésico por la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) (Terzi *et al.*, 2017). Por tal motivo, presentan los siguientes efectos adversos: falla renal, úlceras en el tracto gastrointestinal y problemas cardiovasculares (Kim *et al.*, 1995; Ong *et al.*, 2007).

### *2.15 Epidemiología del dolor en México*

El dolor es considerado un serio problema de salud, social y económico alrededor del mundo, se presenta como síntomas en muchas enfermedades (Henschke *et al.*, 2015), de las cuales en nuestro país se asocian con las principales causas de mortalidad, como enfermedades del corazón, diabetes y cáncer (Covarrubias-Gómez *et al.*, 2010). En México el dolor crónico es un problema de salud pública, afectando del 25 al 29% de la población en general, siendo los adultos mayores a 65 años los más afectados (Covarrubias-Gómez *et al.*, 2010).

### 3. JUSTIFICACIÓN

---

En México el uso de la medicina tradicional para el alivio de enfermedades es de manera frecuente, sin embargo, no se cuenta con estudios científicos que respalden su uso, un ejemplo de ello son las plantas utilizadas para el alivio del dolor. El dolor es un serio problema de salud mundial y es la causa más frecuente de consulta médica. En nuestro país, se estima que, aproximadamente el 15% de la población sufre de un tipo de dolor. En su tratamiento, los analgésicos más comunes son los opioides y los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's), los cuales, de acuerdo con experiencias clínicas, por su uso indiscriminado, ocasionan efectos adversos, tales como daño al sistema digestivo, cardiovascular y riñón entre otros. Lo anterior conlleva a la continua búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, siendo la herbolaria una buena propuesta, ya que, de ésta, pocos efectos adversos severos se han divulgado. La riqueza y diversidad de metabolitos secundarios que sintetizan las salvias mexicanas, así como su abundancia, hacen posible la búsqueda de compuestos biológicamente activos. Una previa revisión realizada sobre la etnobotánica, fitoquímica y farmacología del género, permitió registrar que 12 especies son utilizadas para tratar dolor e inflamación, 10 de las cuales se conoce que sintetizan principalmente compuestos de naturaleza terpénica y solamente 8 de ellas han sido evaluadas por sus efectos antinociceptivos y antiinflamatorios. En este sentido este proyecto planteó el estudio fitoquímico y la evaluación del efecto antinociceptivo de *Salvia purpurea*, para ello se determinó la eficacia, la ventana de actividad biológica y el margen de seguridad mediante la preparación de extractos, tanto orgánicos como acuosos los cuales fueron administrados en forma aguda y se compararon con fármacos de referencia utilizados en la clínica. Lo anterior aportó evidencias de las propiedades que se atribuyen a especies de este género y enriqueció el conocimiento de plantas medicinales confiables para la terapéutica del dolor. El interés actual en la búsqueda de extractos y/o compuestos activos como analgésicos de las salvias está en relación con la búsqueda de alternativas terapéuticas con la finalidad de evitar efectos secundarios de los fármacos en la medicina convencional y precios accesibles para las personas que los necesiten.

#### 4. HIPÓTESIS

---

Si los extractos de *S. purpurea*, tienen metabolitos secundarios con actividad antinociceptiva, entonces disminuirá la conducta de nocicepción en los modelos de estiramiento abdominal y formalina en ratones.

## 5. OBJETIVOS

---

### 5.1 Objetivo general

Caracterizar los metabolitos secundarios de los extractos de *S. purpurea* y evaluar el efecto antinociceptivo en ratones.

### 5.2 Objetivos particulares

- Obtener los extractos orgánicos y acuoso de *S. purpurea*
- Determinar la seguridad de extractos mediante el protocolo de la OCDE para compuestos orales (dosis letal media DL<sub>50</sub>).
- Caracterizar los metabolitos secundarios de tipo terpenoide y flavonoide mediante métodos cromatográficos.
- Evaluar el efecto antinociceptivo de los extractos de *S. purpurea*.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

---

### 6.1 Material vegetal

*Salvia purpurea* fue recolectada en la localidad de Santiago Huaucilla Oaxaca en los meses de agosto y octubre del 2017. Esta localidad se localiza en los paralelos 17°25' y 17°34' de latitud norte y los meridianos 96°56' y 97°08' longitud oeste y a una altitud entre 1200 y 2700 m. Cuenta con vegetación tipo selva baja caducifolia, bosque de Quercus y enebro (*Juniperus*) y pastizal (INEGI, 2015).

### FITOQUÍMICA

#### 6.2 Diseño experimental en fitoquímica

La **Figura 11** muestra un diagrama general del diseño experimental seguido en la parte fitoquímica para la obtención de extractos, identificación y determinación de concentraciones de los terpenos y flavonoides presentes en los extractos orgánicos y acuoso de *S. purpurea*.

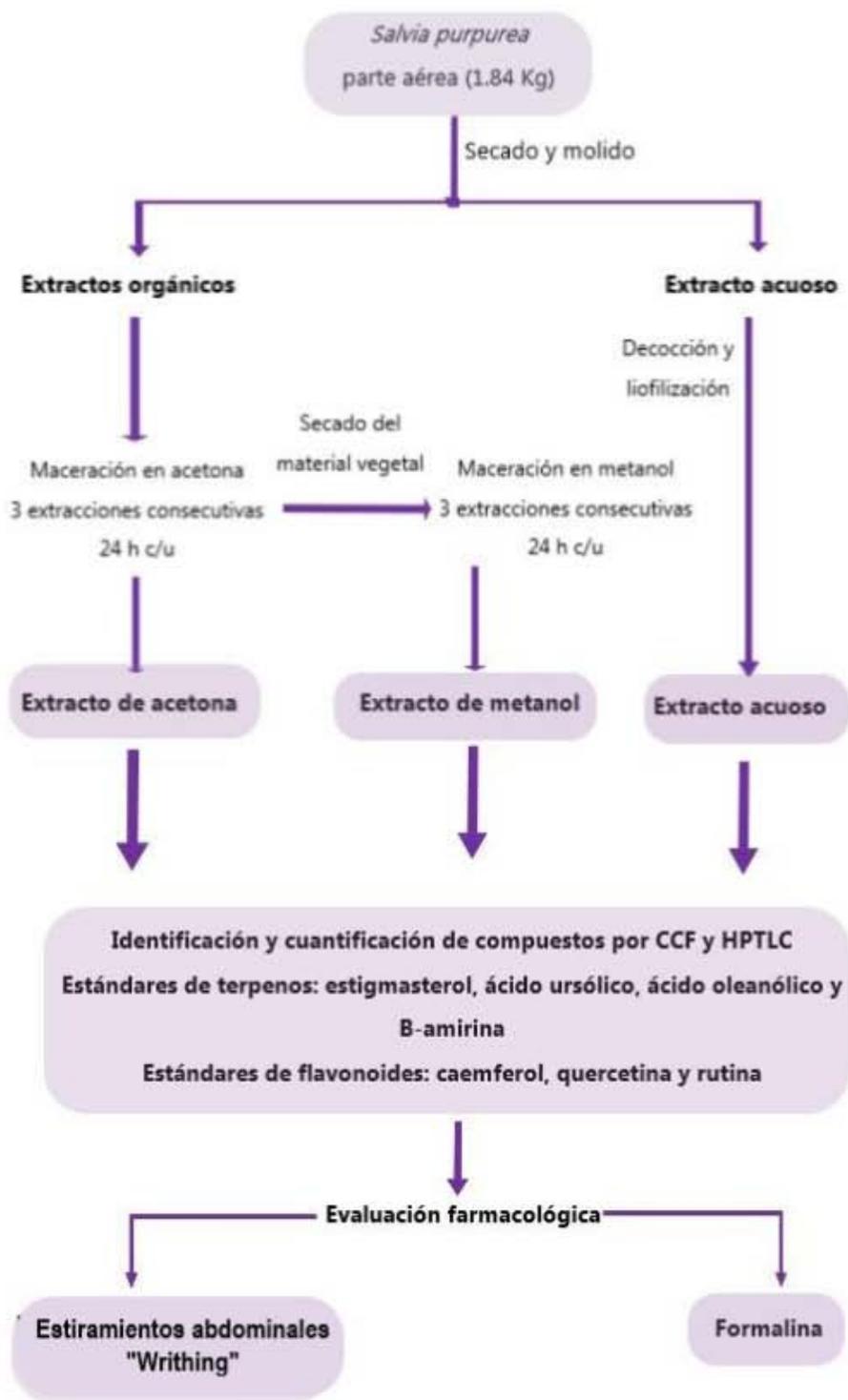


Figura 11. Diagrama general del diseño experimental para la parte fitoquímica.

### *6.3 Obtención de los extractos de Salvia purpurea*

Para la obtención de los extractos orgánicos de *S. purpurea* se utilizaron 1.84 Kg de la parte aérea, los cuales se secaron a temperatura ambiente y molieron finamente. El material vegetal se sometió a tres extracciones sucesivas de 24 horas con cada uno de los disolventes utilizados (acetona y metanol). El exceso de disolvente se eliminó en un rota evaporador (Büchi bath B-490) y finalmente, una vez obtenido el extracto, se pesó para calcular su rendimiento.

Para la obtención del extracto acuoso, 90 g del material vegetal seco fueron utilizados para preparar una decocción con la siguiente proporción: por cada 5 g de material vegetal se le adicionaron 10 mL de agua destilada, los cuales se pusieron en ebullición durante 10 minutos. El extracto se congeló en nitrógeno líquido y se liofilizó.

### *6.4 Identificación preliminar de terpenos y flavonoides presentes en los extractos de S. purpurea por cromatografía en capa fina (CCF)*

La identificación preliminar de los terpenos y flavonoides presentes en los extractos se realizó por medio de CCF. Para ello se utilizaron placas de sílica gel (Merck) de 0.1 mm de espesor mediante la siguiente metodología:

#### *6.4.1 Terpenos*

Las muestras de cada uno de los extractos, así como los estándares se aplicaron en las placas cromatográficas. Los terpenos utilizados fueron  $\beta$ -amirina, ácido ursólico, ácido oleanólico y estigmasterol de la marca Sigma-Aldrich. Las placas se colocaron en una cámara de cromatografía con una fase móvil de hexano-acetato de etilo (7:3 v/v). Posteriormente, las placas fueron observadas en una cámara de luz UV (onda corta 254 nm y onda larga 365 nm) y finalmente fueron reveladas con

el reactivo de anisaldehído para identificar terpenoides (Poole y Poole, 1994; Kinghorn, 1997).

#### 6.4.2 Flavonoides

Para la detección de flavonoides agliconas se aplicaron en las placas cromatográficas cada uno de los extractos y los estándares quercetina y canferol (Sigma-Aldrich). Para el corrimiento de la placa se utilizó una mezcla de cloroformo-acetona-ácido fórmico (8:1:1 v/v/v). Posteriormente, la placa se asperjó con el reactivo de Productos Naturales (Wagner y Bladt, 1996) y fue observada en una cámara de luz UV en una longitud de onda de 365 nm.

Para la identificación de flavonoides glicosilados, los extractos fueron aplicados en la placa cromatográfica y la rutina como estándar. La fase móvil que se preparó fue acetato de etilo-acetona-ácido fórmico-ácido acético-agua (12:4:1:1:1 v/v/v/v/v). La placa fue revelada con el reactivo de Productos Naturales y observada en una cámara de luz UV a una longitud de onda de 365 nm (Wagner y Bladt, 1996).

#### 6.5 Identificación y cuantificación de terpenos y flavonoides en los extractos de *S. purpurea* por cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPTLC)-Densitometría

Para la determinación y cuantificación de terpenos y flavonoides de *S. purpurea*, se pesaron 1 mg de extractos y estándares y se disolvieron cada uno de ellos por separado en 1 mL de acetona, metanol y agua respectivamente. Dichas muestras fueron aplicadas en forma de banda con un ATS4 (CAMAG) sobre placas cromatográficas de sílica gel 60 F254 de 20 X 10 cm (Merck) usando nitrógeno para el soplado. Las placas después de ser eluidas con la fase móvil adecuada, fueron escaneadas con un Scanner3 (CAMAG) usando longitudes de onda específicas para cada grupo de metabolito o estándar. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

La cuantificación de los metabolitos se realizó mediante la elaboración de curvas de calibración para cada uno de los estándares, se aplicaron 3 puntos y se hicieron las interpolaciones correspondientes para construir el modelo matemático de regresión lineal con la fórmula  $Y = mX + b$  por medio del software WinCATS (CAMAG).

#### 6.5.1 Terpenos

Los estándares de terpenos  $\beta$ - amirina, ácido ursólico, ácido oleanólico, estigmasterol (Sigma-Aldrich) y los extractos fueron aplicados en la placa cromatográfica en bandas de 7.0 mm de longitud y a una distancia entre ellas de 12.1 mm. Los estándares se aplicaron en volúmenes de 0.5  $\mu$ L, 2.5  $\mu$ L y 5.0  $\mu$ L, y los extractos de 13  $\mu$ L. La placa se colocó en una cámara cromatográfica con la fase móvil de hexano-acetato de etilo (7:3 v/v) y después, ésta se asperjó con 10 mL de reactivo de anisaldehído para observar terpenos (Kinghorn, 1997). En seguida, se escaneó la placa a una longitud de onda de 700 nm y se calcularon los  $R_f$  y la concentración de cada uno de los terpenos presentes en los extractos.

#### 6.5.2 Flavonoides

Los flavonoides agliconas usados como estándares fueron la quercetina y canferol de la marca Sigma-Aldrich, éstos y los extractos fueron aplicados en la placa en bandas de 4.0 mm de longitud y a una distancia entre ellas de 6.7 mm. Los estándares se aplicaron en volúmenes de 0.2  $\mu$ L, 1.0  $\mu$ L y 2.0  $\mu$ L y los extractos de 30 0  $\mu$ L. Después, la placa cromatográfica se eluyó en una cámara con la mezcla de cloroformo-acetona-ácido fórmico (12:2:1 v/v/v) y se asperjó con 10 mL del reactivo de productos naturales para determinar flavonoides (Kinghorn, 1997). Finalmente, ésta se escaneó a una longitud de onda de 365 nm y se calcularon los  $R_f$  y la concentración de los flavonoides identificados en los extractos.

Los extractos polares y el estándar rutina fueron aplicados en bandas de longitudes de 3.0 mm y una distancia entre ellas de 4.7 mm. La rutina se aplicó en volúmenes de 0.2  $\mu$ L, 1.0  $\mu$ L y 2.8  $\mu$ L, y los extractos de 5 uL. La placa se eluyó en una cámara cromatográfica con la mezcla de acetato de etilo-acetona-ácido fórmico-ácido

acético-agua (12:6:1:1:1 v/v/v/v/v) y se asperjó con 10 mL del reactivo de productos naturale. La placa se escaneó a una longitud de onda de 365 nm y se calcularon los Rf y la concentración de los flavonoides identificados en los extractos.

### 6.6 Separación cromatográfica por columna del extracto de metanol

En virtud de que en la prueba biológica el extracto de metanol presentó el mejor efecto antinociceptivo, se decidió hacer la separación de sus componentes, para lo cual, 84.4 g del extracto se colocaron en columna de vidrio, previamente empacada con gel de sílice. La columna se inició con una mezcla de hexano y acetato de etilo de polaridad creciente, hasta llegar a 100% de acetato de etilo, posteriormente se utilizaron mezclas de acetato de etilo y metanol (9:1, 8:2, 7:3 y metanol 100%). Por último, se usó etanol-agua (7:3) para finalizar la columna. En total se obtuvieron 145 fracciones de 100 mL cada una (**Cuadro 3**), las cuales fueron reunidas de acuerdo con su similitud en sus perfiles cromatográficos. Se purificaron los compuestos mediante la técnica de cristalización.

Cuadro 3. Fracciones obtenidas de la cromatografía del extracto de metanol

Disolventes	Proporción de los disolventes	Fracciones obtenidas
Hexano-Acetato	7:3	1-37
Hexano-Acetato	6:4	38-46
Hexano-Acetato	1:1	47-55
Hexano-Acetato	4:6	56-63
Hexano-Acetato	7:3	64-70
Hexano-Acetato	2:8	71-80
Hexano-Acetato	1:8	81-92
Acetato	1	93-102
Acetato-Metanol	9:1	103-110
Acetato-Metanol	8:2	111-126
Acetato-Metanol	7:3	127-130
Metanol	1	131-141
Etanol-Agua	7:3	142-145

## EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA

### *6.7 Animales*

En la evaluación farmacológica se utilizaron ratones machos de la cepa CD1 provenientes del bioterio de la Facultad de Medicina, UNAM, con un peso de 25-30 g. Los sujetos experimentales se colocaron en cajas de acrílico en grupos de seis sin restricción de alimento y agua, a una temperatura de 22°C y con ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Para el manejo adecuado de los animales se siguieron los lineamientos éticos establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

### *6.8 Preparación de los extractos y fármacos*

Los fármacos de referencia (Ketorolaco y Diclofenaco), ácido acético y los extractos de metanol y acuoso fueron diluidos con solución salina 0.9%. El extracto de acetona se resuspendió con Tween 80 al 0.5% en solución salina. Todos los tratamientos fueron administrados vía esofágica (p.o) en un volumen de 10 mL/kg y evaluados 30 minutos después. En cada una de las pruebas se utilizaron grupos de 6 ratones

### *6.9 Determinación del margen de seguridad*

La dosis letal media (DL<sub>50</sub>) se determinó siguiendo el protocolo establecido por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). Este método consiste en administrar una dosis máxima de 2000 mg/kg a tres ratones, para comprobar si tienen un efecto tóxico o letal. Los ratones fueron observados por dos horas posteriores a la administración en busca de signos tóxicos como pérdida de la conciencia, ataxia o dificultad para respirar y/o muerte. El seguimiento del peso corporal de los sujetos experimentales administrados con los tratamientos y de un grupo control inyectando con solución salina se realizó durante 14 días, posterior a

los cuales los ratones fueron sacrificados y se les realizó la necropsia en busca de alteraciones macroscópicas en estómago, hígado, riñones y vaso (OCDE, 2001).

## 6.10 Evaluación de la actividad antinociceptiva

### 6.10.1 Modelo de estiramiento abdominal “Writhing”

La prueba consiste en la administración vía intraperitoneal (i.p.) de ácido acético al 1%, provocando irritabilidad en la cavidad peritoneal, que a su vez ocasiona una conducta estereotipada donde son característicos los estiramientos de los miembros posteriores y las contracciones abdominales (**Fig. 12**) (Collier *et. al.*, 1968).



Figura 12. Estiramientos abdominales del ratón (conductas nociceptiva)

La evaluación de los extractos se realizó administrando vía esofágica a cada grupo con las dosis de 3 mg/Kg, 30 mg/Kg y 300 mg/Kg, Ketorolaco (10 mg/Kg) y solución salina, 30 min antes de la administración del ácido acético (1%). Enseguida se registró el número de estiramientos en bloques de 5 minutos, la prueba tuvo una duración de 30 min. El efecto antinociceptivo se estableció al comparar los grupos tratados con el grupo control.

### 6.10.2 Modelo de la formalina

El modelo consiste en inyectar 20  $\mu$ L de formalina al 1% en el dorso de la pata inferior derecha de cada ratón y enseguida se cuenta el tiempo de lamidas

realizadas en la extremidad administrada con el agente nociceptivo, registrando dos fases: la neurogénica de 0-10 minutos y la inflamatoria de 10-30 minutos. La disminución de cualquiera de las fases se interpreta como efecto antinociceptivo (Tjølsen et al., 1992).

En los experimentos, los ratones fueron administrados en dosis de extracto de 3, 30 y 300 mg/kg, Diclofenaco (10 mg/kg) y solución salina. Treinta minutos después de la administración de los tratamientos, los ratones fueron inyectados con la formalina y se contabilizó el tiempo de lamidas de la extremidad inyectada en intervalos de 1 minuto cada 5 minutos durante 30 minutos, tiempo de duración de la prueba (**Fig. 13**). El efecto antinociceptico se estableció al comparar las fases de los grupos tratados con el grupo control.

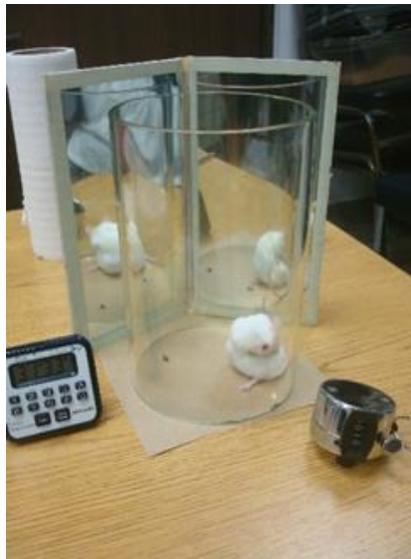


Figura 13. Modelo de formalina

### *6.11 Análisis estadístico*

Se realizó mediante análisis de varianza de un factor (ANDEVA) seguido de la prueba de comparación múltiple de medias de Dunnett, para comparar los tratamientos contra el grupo control. Se utilizó el programa Graphpad Prism 6 (Zar, 2010). Los datos de nocicepción se describen como el curso temporal y los datos del efecto antinociceptivo como curvas dosis-respuesta representadas como área bajo la curva. Todos los datos están representados con promedio  $\pm$ el error estándar.

## 7. RESULTADOS

---

### Fitoquímica

#### 7.1 Rendimiento de los extractos de *S. purpurea*

El rendimiento de cada uno de los extractos fue calculado con base al peso del extracto obtenido con respecto al peso de la materia vegetal seca del que se partió. En el **cuadro 4** se presentan los valores de los tres extractos obtenidos de *S. purpurea* expresados en peso y porcentaje. El extracto con mayor rendimiento fue el acuoso (3.84 %) y el que menor rendimiento presentó fue el extracto de acetona (3.68%).

Cuadro 4. Rendimientos de los extractos obtenidos de la parte aérea de *S. purpurea*.

Hojas (parte aérea)	E X T R A C T O S					
	ACETONA		METANOL		ACUOSO	
	PESO (g)	(%)	Peso (g)	(%)	PESO (g)	(%)
<i>S. purpurea</i> Extractos orgánicos (1.84 Kg)	80.0	3.68	83.34	3.82		
Extracto acuoso (90 g)					3.46	3.84

## 7.2 Identificación de metabolitos secundarios por CCF de los extractos de *S. purpurea*

### 7.2.1 Identificación de terpenos por CCF

El perfil cromatográfico permitió identificar que sólo en los extractos de acetona y metanol se encuentran los compuestos de tipo terpenoide. También dicho perfil químico muestra la presencia de estigmasterol (E), ácido ursólico (U), ácido oleanólico (O) y  $\beta$ -amirina ( $\beta$ ) en ambos extractos orgánicos (**Fig.14**).

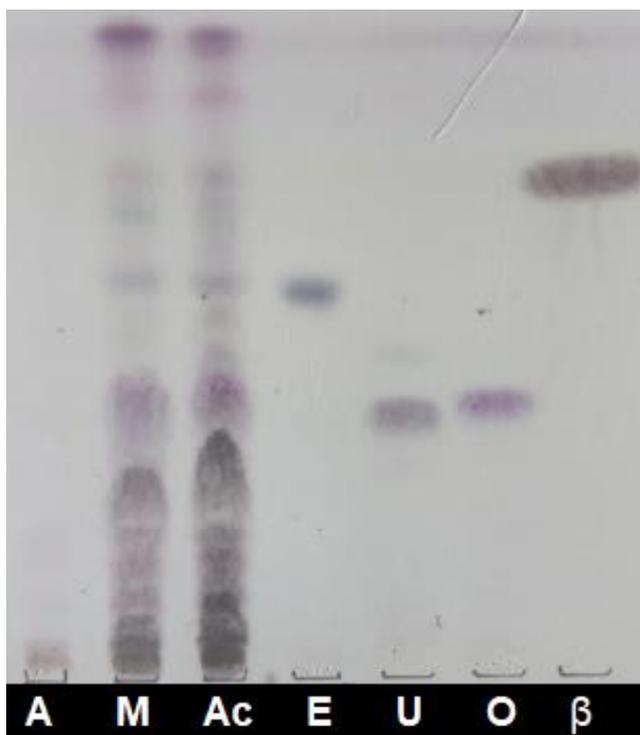


Figura 14. Identificación de terpenos por CCF de *S. purpurea*. Extracto acuoso (A), extracto de metanol (M) y extracto de acetona (Ac). Estándares de terpenos: estigmasterol (E), ácido ursólico (U), ácido oleanólico (O) y  $\beta$ - amirina ( $\beta$ ).

### 7.2.2 Identificación de flavonoides por CCF

El perfil cromatográfico muestra que en los tres extractos hay presencia de los flavonoides canferol (K), quercetina (Qu) y rutina (R) y solamente en el extracto acuoso se identificó rutina (**Fig. 15 A y B**).

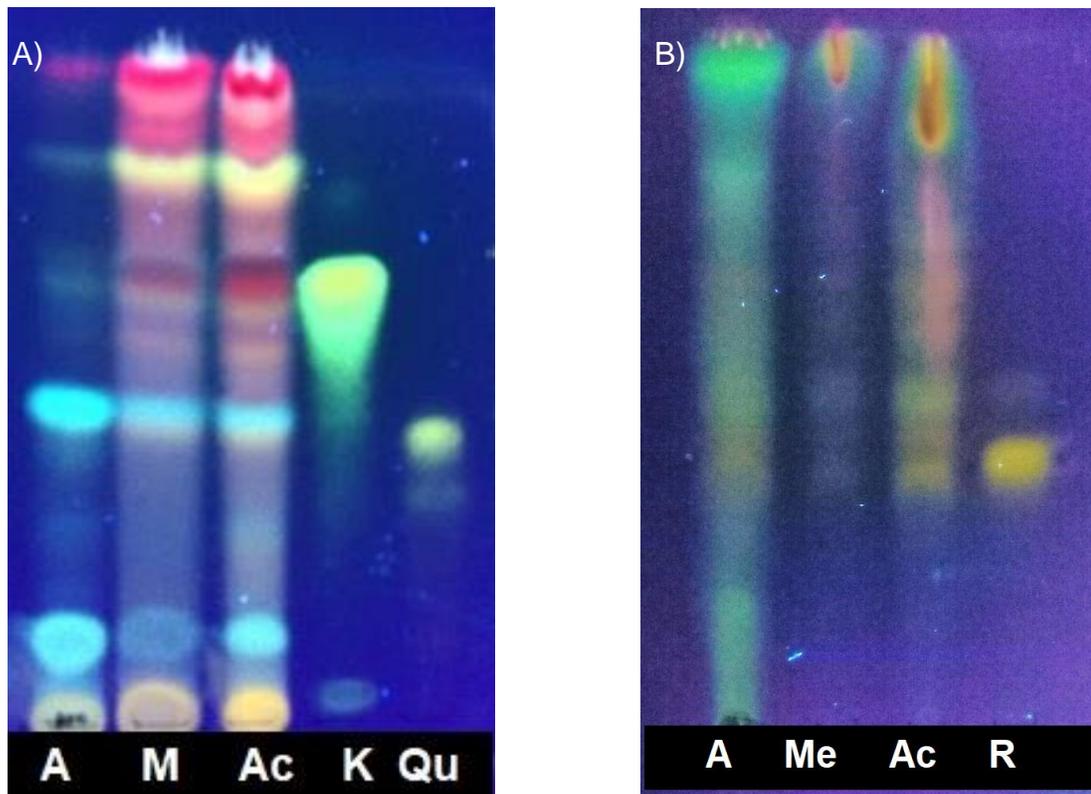


Figura 15. Identificación de flavonoides por CCF de *S. pupurea* Agliconas (A) y glicosilados (B). Extracto acuoso (A), extracto de metanol (M) y extracto de acetona (Ac). Estándares: canferol (K), quercetina (Qu) y rutina (R).

### 7.3 Identificación y cuantificación de terpenos y flavonoides en los extractos de *S. pupurea* por HPTLC-Densitometría

#### 7.3.1 Identificación de terpenos por HPTLC

Los resultados obtenidos por esta técnica revelan que el extracto de acetona es el más diverso en compuestos de tipo terpenoide, con un total de 12 constituyentes, seguido por el extracto de metanol con 9, de los cuales, fueron determinados el estigmasterol, la  $\beta$ -amirina y la mezcla de los ácidos ursólico y oleanólico en ambos extractos. Por otro lado, en el extracto acuoso no se identificaron terpenos (**Fig. 16; Cuadro 5**).

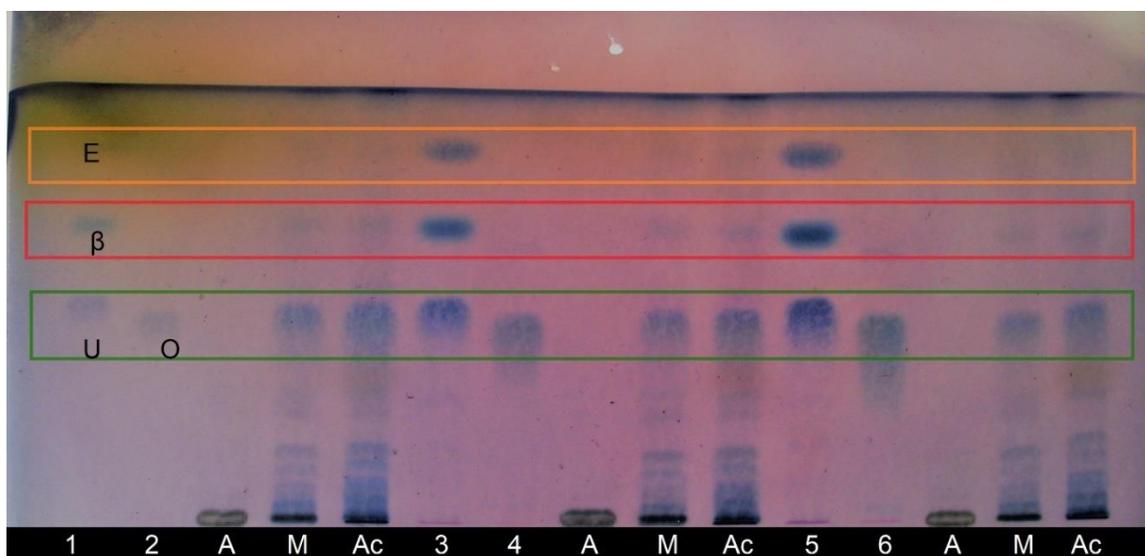


Figura 16. Identificación de terpenos por HPTLC de *S. pupurea*. Extracto acuoso (A), extracto de metanol (M) y extracto de acetona (Ac). Estándares: estigmasterol (E),  $\beta$ -amirina ( $\beta$ ), ácido ursólico (U) y ácido oleanólico (O). Los estándares se encuentran en carril 1 y 2 (0.5  $\mu$ L), 3 y 4 (2.5  $\mu$ L) y, 5 y 6 (5.0  $\mu$ L). Fase móvil: hexano-acetato de etilo (7:3, v/v).

En el **Cuadro 5** se expresan los valores de los Rf de los terpenos identificados en los extractos de *S. purpurea*.

Cuadro 5. Terpenos identificados por HPTLC en los extractos de *S. purpurea*

Terpenoide	Rf	Extracto acuoso	Extracto de metanol	Extracto de acetona
1	0.05	n.i.		X
2	0.09	n.i.	X	X
3	0.13	n.i.	X	X
4	0.17	n.i.	X	X
5	0.25	n.i.	X	X
6	0.29	n.i.	X	X
7 Mezcla ácidos ursólico y oleanólico	0.47	n.i.	X	X
8	0.53	n.i.		X
9	0.62	n.i.	X	X
10 β-amirina	0.68	n.i.	X	X
11	0.79	n.i.		X
12 Estigmasterol	0.84	n.i.	x	X

No identificado (n.i.)

### 7.3.2 Identificación de flavonoides agliconas por HPTLC

El análisis por HPTLC permitió demostrar que existen semejanzas en la composición de flavonoides agliconas en los tres extractos de *S. purpurea*, observándose una mayor similitud en los extractos de metanol y acuoso, puesto que, tienen en común 7 flavonoides detectados. Por otro lado, el extracto de acetona, solamente comparte 5 de estas moléculas. La quercetina y el canferol fueron determinados tanto en los extractos orgánicos como en el acuoso (**Fig. 17; Cuadro 6**).

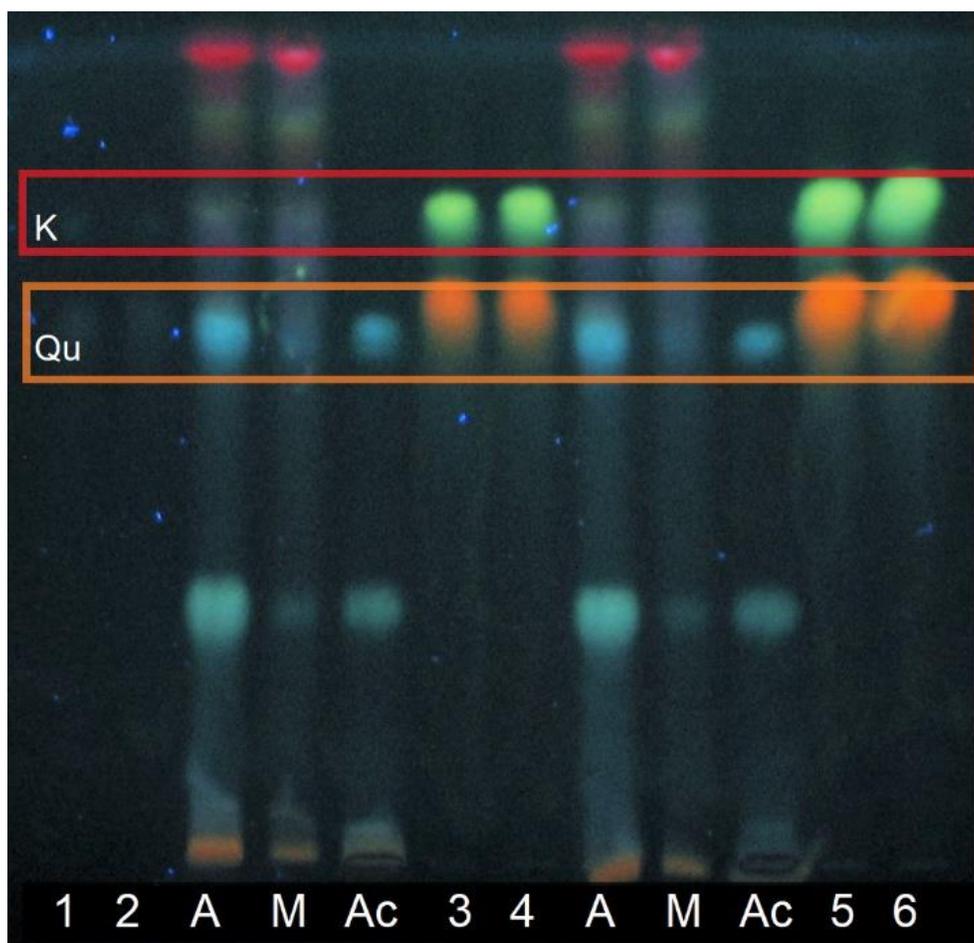


Figura 17. Identificación de flavonoides agliconas por HPTLC de *S. purpurea*. Extracto acuoso (A), extracto de metanol (M) y extracto de acetona (Ac). Estándares: canferol (K) y quercetina (Qu). Los estándares se

encuentran en carril 1 y 2 (0.2 µl), 3 y 4 (1.0 µl) y 5 y 6 (2.0 µl). Fase móvil: cloroformo-acetona-ácido fórmico (12:2:1, v/v/v).

El **cuadro 6** muestra los valores de los  $R_f$  de los flavonoides agliconas identificados en los extractos de *S. pupurea*.

Cuadro 6. Flavonoides agliconas identificados por HPTLC de los extractos de *S. pupurea*.

Flavonoides	$R_f$	Extracto acuoso	Extracto de metanol	Extracto de acetona
1	0.05	X	X	X
2	0.30	X	X	X
3	0.53	X	X	X
4 Quercetina	0.61	X	X	X
5 Canferol	0.72	X	X	X
6	0.85	X	X	n.i.
7	0.98	X	x	n.i.

No identificado (n.i.)

### 7.3.3 Identificación de flavonoides glicosilados por HPTLC

En el extracto acuoso se identificaron 4 flavonoides glicosilados, 2 de los cuales, también fueron detectados en los extractos orgánicos. Rutina solo se encontró en el extracto acuoso (**Fig. 18; Cuadro 7**).

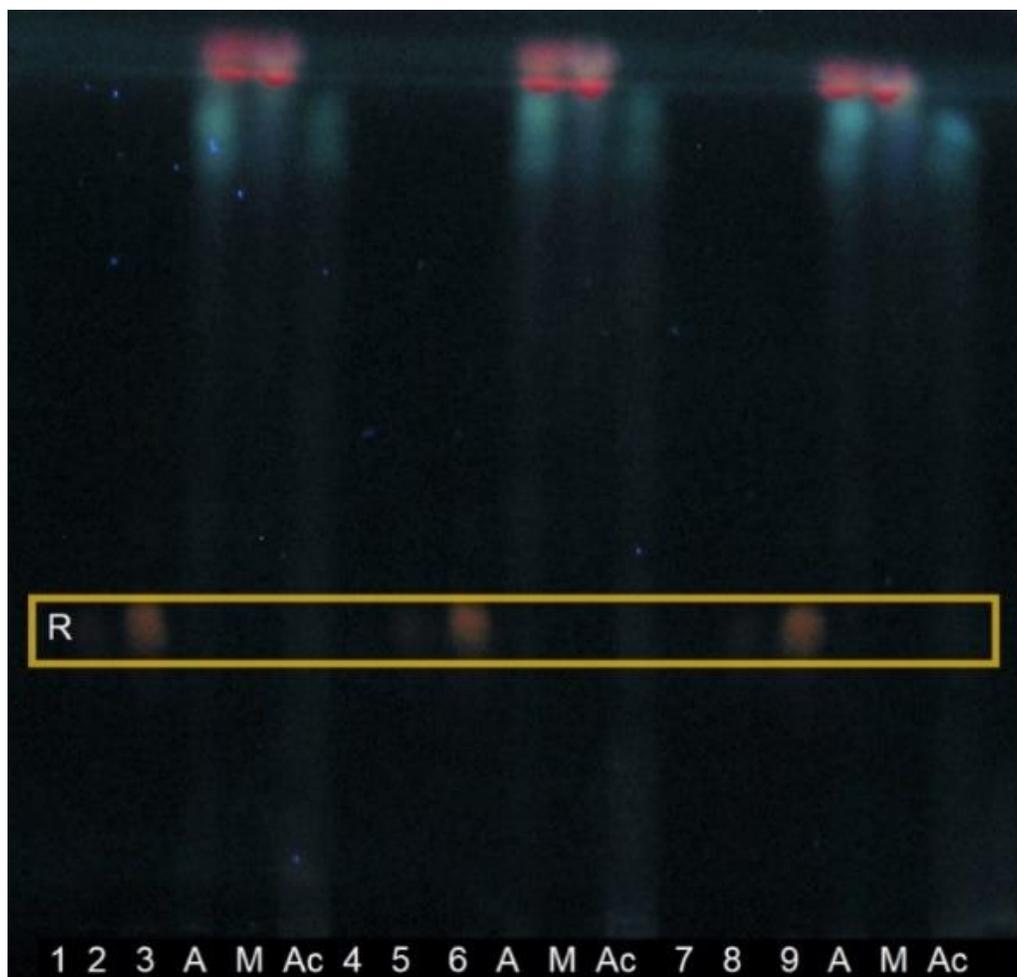


Figura 18. Identificación de flavonoides glicosilados por HPTLC de *S. purpurea*. Extracto acuoso (A), extracto de metanol (M) y extracto de acetona (Ac). Estándar: Rutina (R), localizado en los carriles 2 y 3 (0.2  $\mu$ l), 5 y 6 (1.0  $\mu$ l) y 8 y 9 (2.8  $\mu$ l). Fase móvil: acetato de etilo-acetona-ácido fórmico-ácido acético-agua (12:6:1:1:1 v/v/v/v/v).

El **cuadro 7** muestra los valores de los  $R_f$  de los flavonoides glicosilados identificados en los extractos de *S. purpurea*.

Cuadro 7. Flavonoides glicosilados identificados por HPTLC en los extractos de *S. purpurea*.

Flavonoides	R <sub>f</sub>	Extracto acuoso	Extracto de metanol	Extracto de acetona
1	0.09	X	X	X
3	0.17	X	n.i.	n.i.
3 Rutina	0.38	X	n.i.	n.i.
4	0.89	X	X	X

No identificado (n.i.)

#### 7.3.4 Cuantificación por HPTLC-Densitometría de terpenos y flavonoides en los extractos de *S. purpurea*

El **Cuadro 8** muestra que los terpenos más abundantes son la mezcla de los ácidos ursólico y oleanólico, seguido por la  $\beta$ -amirina y el estigmasterol tanto en el extracto de acetona como en el de metanol. Con respecto a los flavonoides, la quercetina es la mayoritaria en los extractos orgánicos y la rutina solamente fue identificada en el extracto acuoso y en baja concentración.

Cuadro 8. Cuantificación por HPTLC de terpenos y flavonoides presentes en los extractos de *S. purpurea*.

	Terpenos ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )			Flavonoides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )		
	Mezcla ácidos ursólico y oleanólico	Estigmasterol	$\beta$ -amirina	Canferol	Quercetina	Rutina
Extracto acuoso	n.d.	n.d.	n.d.	$2.8 \pm 0.3$	$3.9 \pm 0.1$	$3.9 \pm 0.6$
Extracto de metanol	$93.7 \pm 9.9$	$59.4 \pm 11.8$	$27.9 \pm 10.3$	$7.2 \pm 0.5$	$20.9 \pm 0.6$	n.d.
Extracto de acetona	$152.0 \pm 30.1$	$54.5 \pm 24.5$	$27.1 \pm 10.9$	$2.9 \pm 1.1$	$23.6 \pm 2.3$	n.d.

No determinado (n.d.)

Los datos se presentan como la media  $\pm$  el error estándar de tres repeticiones

#### 7.4 Cromatografía en columna del extracto de metanol de *S. purpurea*

El fraccionamiento cromatográfico del extracto de metanol permitió purificar de las primeras 53 fracciones, reunidas en seis grupos, un sólido blanco, el cual mediante CCF fue identificado como mezcla de los ácidos ursólico y oleanólico. Los datos se reúnen en el **Cuadro 9**.

Cuadro 9. Mezcla de los ácidos ursólico y oleanólico aislada del extracto de metanol

Número de fracción	Mezcla ácidos ursólico/oleanólico (mg)
7-10	45.6
11-13	13.5
17-19	31.2
23-25	18.6
26-28	28.5
33-53	15.6
Total	<b>153</b>

## Farmacología

### 7.5. Efecto antinociceptivo del extracto de acetona

#### 7.5.1 Modelo de estiramiento abdominal

El extracto de acetona en dosis de 3, 30 y 300 mg/Kg en comparación con el grupo control son mostradas mediante cursos temporales, donde se observa una disminución de la conducta nociceptiva del extracto en todas las dosis evaluadas (**Fig. 20**).

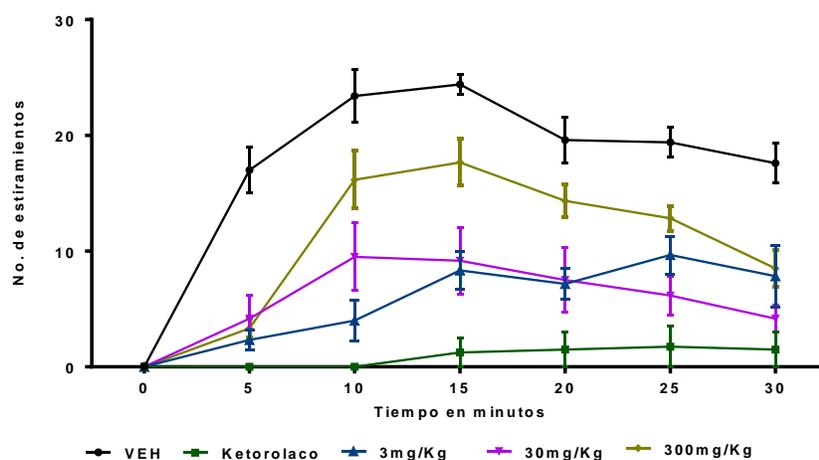


Figura 19. Curva curso temporal (CCT) del efecto del extracto de acetona en la nocicepción inducida con ácido acético al 1% en ratones. En presencia del vehículo, ketorolaco a 10 mg/kg (fármaco de referencia). Cada punto en la CCT representa la media  $\pm$  el error estándar de 6 ratones.

En la **Figura 20** se observa que todas las dosis del extracto reducen el número de estiramientos de forma significativa en comparación con el control, siendo las dosis de 3 y 30 mg/kg las de mayor efecto con un porcentaje de inhibición de la actividad nociceptiva de 65 y 67% respectivamente.

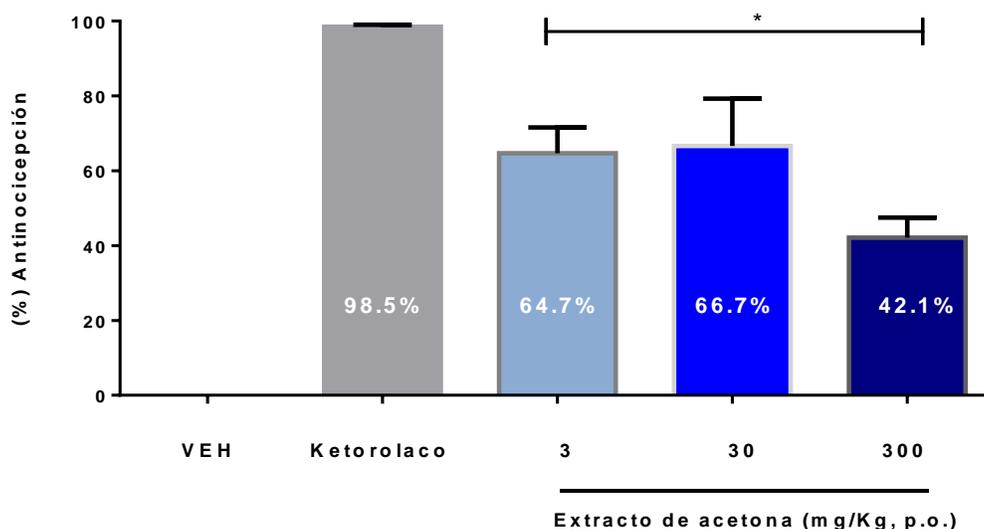


Figura 20. Porcentaje de la actividad antinociceptiva del extracto de acetona. En presencia grupo control y ketorolaco 10 mg/kg (fármaco de referencia). Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de seis animales. El asterisco indica diferencias significativas  $p < 0.05$  con respecto al control, ANADEVIA seguida de la prueba de Dunnett

### 7.5.2 Modelo de formalina

El extracto de acetona evaluado en la prueba de la formalina indica que todas las dosis tienen un efecto significativo en la inhibición del comportamiento nociceptivo en ambas fases con respecto al control. En la primera fase (**Fig. 21A**) las dosis de 30 y 300 mg/Kg inhiben mayormente la actividad nociceptiva. Por otro lado, en la segunda fase (**Fig. 21B**) la dosis de 300 mg/Kg fue la de mayor actividad, muy similar al fármaco de referencia.

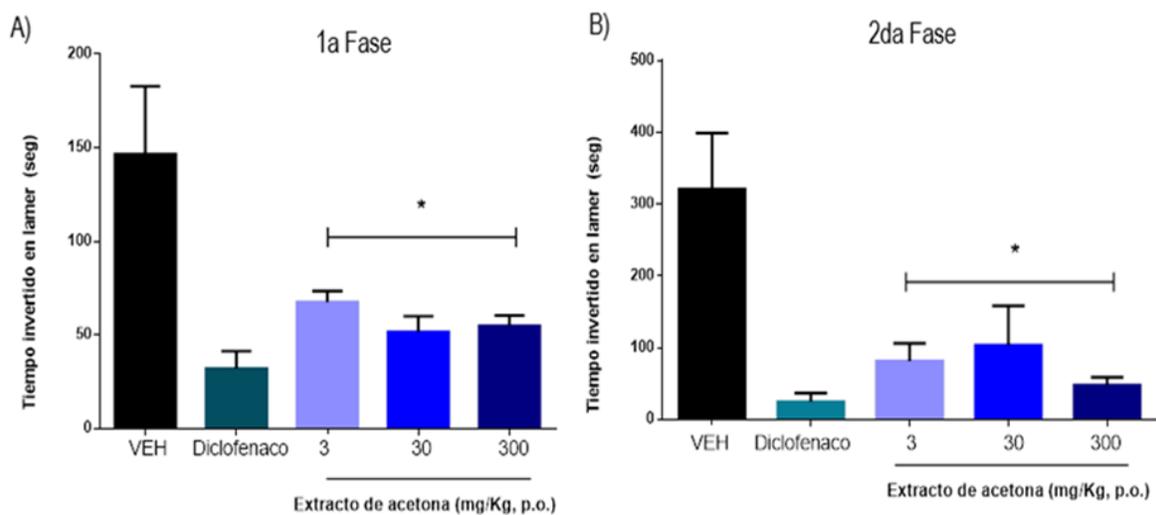


Figura 21. Efecto antinociceptivo del extracto de acetona en la prueba de formalina. A) 1ª fase (0-10 min) y B) 2ª fase (10-30 min), vehículo, diclofenaco 10 mg/kg (fármaco de referencia) y dosis de extracto. Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de seis animales. El asterisco indica diferencias significativas  $p < 0.05$  con respecto al control, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett

## 7.6 Efecto antinociceptivo del extracto de metanol

### 7.6.1 Modelo de estiramiento abdominal

Los resultados del extracto de metanol obtenidos de la evaluación en dosis de 3, 30 y 300 mg/Kg en comparación con el grupo control son mostrados mediante cursos temporales, en donde se observa la disminución de la conducta nociceptiva del extracto (**Fig. 22**).

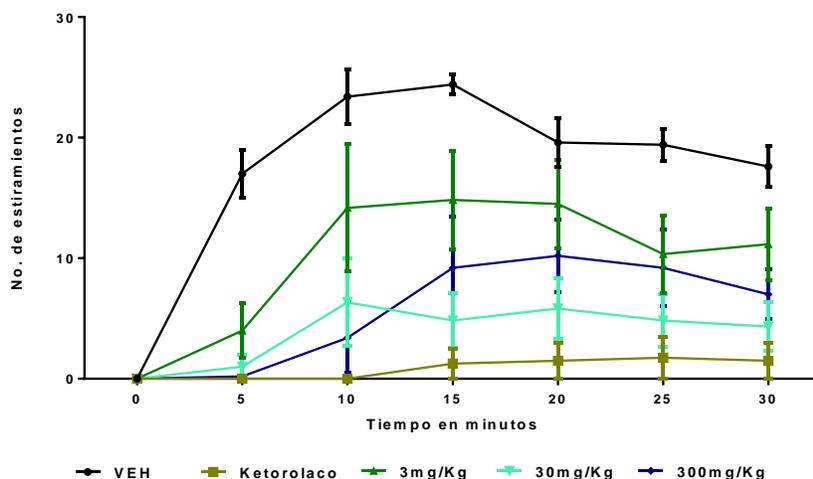


Figura 22. Curva curso temporal (CCT) del efecto del extracto de metanol en la nocicepción inducida con ácido acético al 1% en ratones. En presencia del vehículo, ketorolaco a 10 mg/kg (fármaco de referencia). Cada punto en la CCT representa la media  $\pm$  el error estándar

En la **Figura 23** se observa que todas las dosis reducen significativamente la conducta nociceptiva en comparación con el grupo control. La dosis con mayor efecto (30 mg/Kg) inhibe el 85% del dolor.

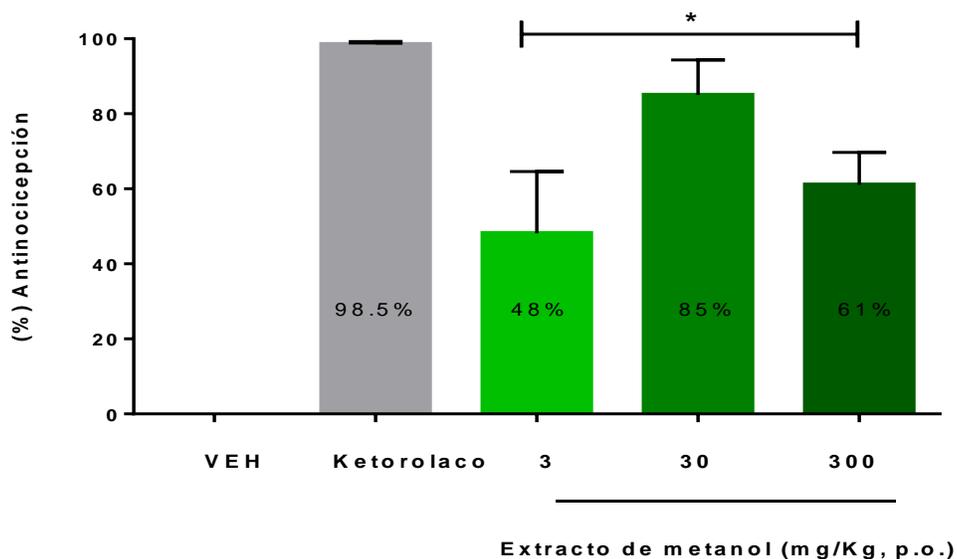


Figura 23. Porcentaje de la actividad antinociceptiva del extracto de metanol. En presencia del control y ketorolaco a 10 mg/kg (fármaco de referencia). Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de seis animales. El asterisco indica diferencias significativas  $p < 0.05$  con respecto al control, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett

## 7.6.2 Modelo de formalina

El extracto de metanol evaluado en la prueba de la formalina indica que todas las dosis tienen un efecto significativo en la inhibición del comportamiento nociceptivo. En ambas fases, la dosis de 30 mg/kg fue la más efectiva (**Fig. 24 A y B**).

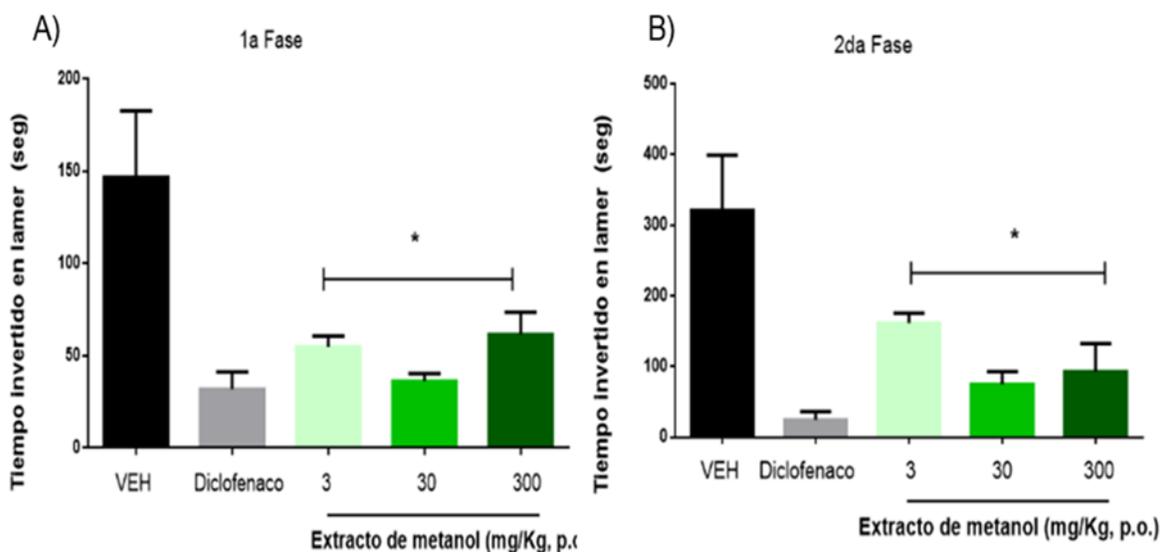


Figura 24. Efecto antinociceptivo del extracto de metanol en la prueba de formalina. A) 1ª fase (0-10 min) y B) 2ª fase (10-30 min), vehículo, diclofenaco a 10 mg/kg (fármaco de referencia) y dosis de extracto. Las barras representan la media ± el error estándar de seis animales. El asterisco indica diferencias significativas p<0.05 con respecto al control, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett

## 7.7 Efecto antinociceptivo del extracto acuoso

### 7.7.1 Modelo de estiramiento abdominal

Los resultados del extracto acuoso en las dosis evaluadas en comparación con el grupo control son mostrados mediante cursos temporales, donde se observa una disminución de la actividad nociceptiva (**Fig. 25**).

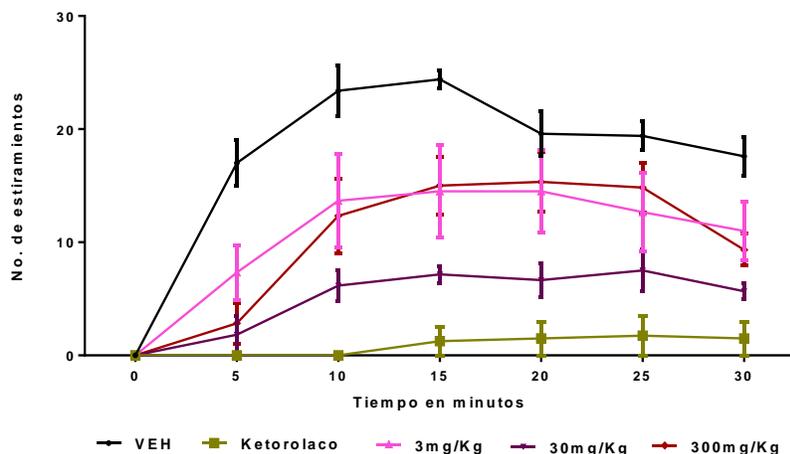


Figura 25. Curva curso temporal (CCT) del efecto del extracto acuoso en la nocicepción inducida con ácido acético al 1% en ratones. En presencia del vehículo, ketorolaco 10 mg/kg (fármaco de referencia). Cada punto en la CCT representa la media  $\pm$  el error estándar

En la **Figura 26** se observa que todas las dosis evaluadas disminuyen significativamente el dolor en comparación con el grupo control, siendo la dosis de 30 mg/kg la de mayor efecto antinociceptivo con un 69% de inhibición.

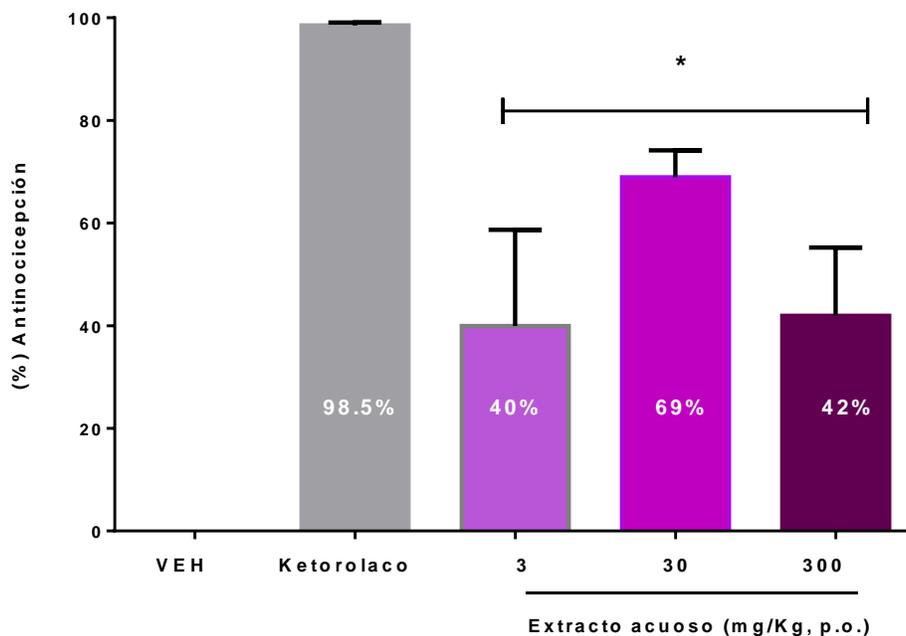


Figura 26. Porcentaje de la actividad antinociceptiva del extracto acuoso. En presencia del control y ketorolaco a 10 mg/kg (fármaco de referencia). Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de seis animales. El asterisco indica diferencias significativas  $p < 0.05$  con respecto al control, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett

### 7.7.2 Modelo de formalina

Los resultados del extracto acuoso obtenidos en la prueba de formalina indican que todas las dosis inhiben la actividad nociceptiva de manera similar en la primera fase (**Fig. 27A**). Por otro lado, en la segunda fase las dosis de 3 y 30 mg/kg son las más efectivas, siendo la dosis de 3 mg/Kg la mejor (**Fig. 27B**).

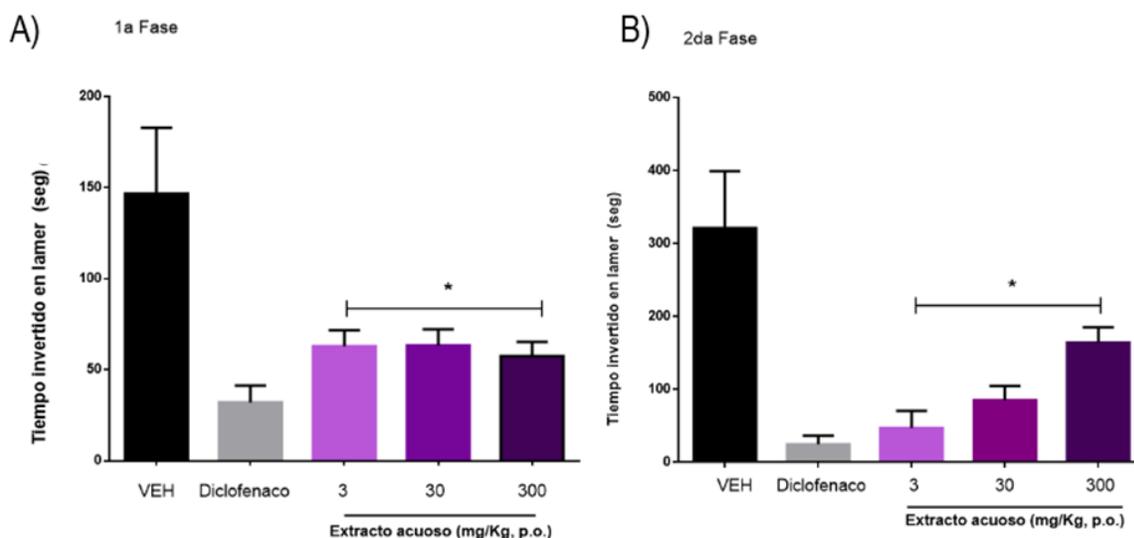


Figura 27. Efecto antinociceptivo del extracto acuoso en la prueba de formalina. A) 1ª fase (0-10 min) y B) 2ª fase (10-30 min), vehículo, diclofenaco 10 mg/kg (fármaco de referencia) y dosis de extracto. Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de seis animales. El asterisco indica diferencias significativas  $p < 0.05$  con respecto al control, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett

### 7.8 Determinación del margen de seguridad

No se observó mortalidad en ninguno de los extractos en las dosis de 2000 mg/Kg, sin embargo, durante la primera hora después de la administración del extracto de metanol, los ratones se observaron muy quietos. Por otro lado, no hubo diferencias significativas en la pérdida de peso entre los ratones administrados con el vehículo y los extractos (**Fig. 28**). Al realizar la necropsia de los animales, no se observó

ningún daño macroscópico, a excepción, de los ratones administrados con el extracto de metanol, quienes presentaron úlceras en el estómago y daño hepático.

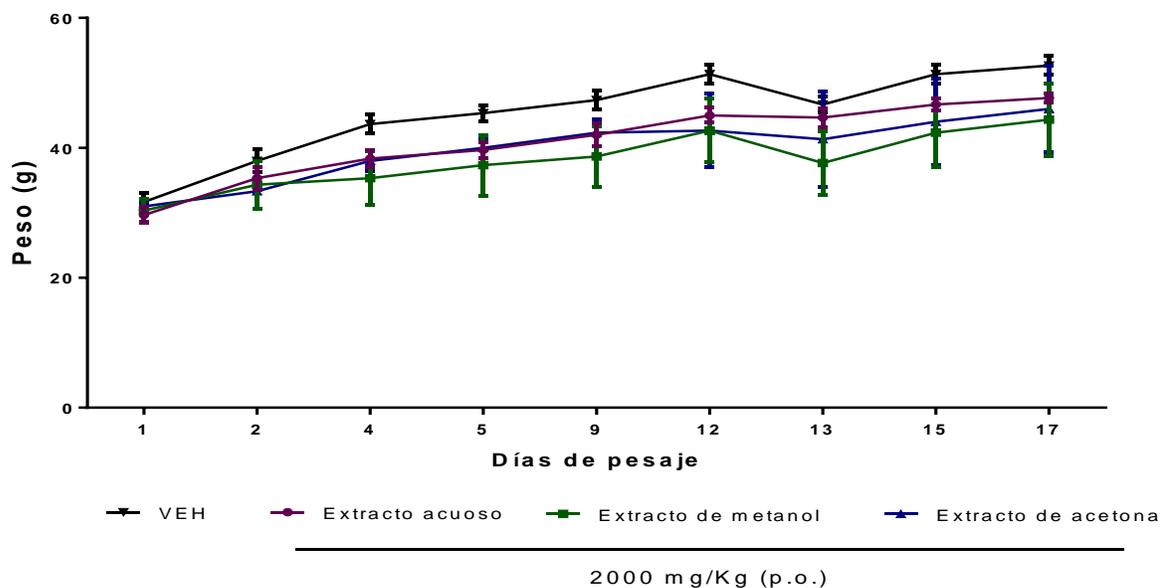


Figura.28. Curso temporal de la ganancia de peso (g) de los grupos tratados y el grupo control. Las barras representan la media  $\pm$  el error estándar de seis animales

## 8. DISCUSIONES

---

El presente estudio demuestra por primera vez que la administración oral de los extractos orgánicos y acuoso de *S. purpurea* reducen la nocicepción en roedores, corroborando así, el uso tradicional en la región de Santiago Huaucuililla, Oaxaca. Asimismo, los resultados obtenidos en este proyecto concuerdan con los reportados en otras especies del género *Salvia* distribuidas en México, tales como *S. reptans* (Martínez-Vázquez *et al.*, 1998), *S. microphylla* (Bautista *et al.*, 2014), *S. coccinea*, *S. leucantha* y *S. gesneriiflora* (Guzmán, 2014), *S. divinorum* (González-Trujano *et al.*, 2016) y *S. ballotiflora* (Baldomero-Esquivel *et al.*, 2017). Lo anterior, permite proponer a las salvias como candidatas para ser usadas como analgésicos.

En la evaluación del efecto antinociceptivo de los extractos de *S. purpurea*, los ratones fueron inyectados con ácido acético para inducir dolor, está bien establecido que la inyección de ácido acético causa un tipo de nocicepción visceral, por el incremento de los niveles de prostaglandinas y el ácido araquidónico en el fluido peritoneal, los cuales desencadenan la respuesta nociceptiva (Deraedt *et al.*, 1980). Dicha actividad nociceptiva involucra la activación de nociceptores polimodales y mediadores endógenos inflamatorios como bradicidina, prostaglandinas y citocinas (Collier *et al.*, 1968; Ribeiro *et al.*, 2000; Ikeda *et al.*, 2001). Las curvas dosis respuesta de los extractos de *S. purpurea* en la prueba de estiramientos abdominales mostraron que todos los extractos tienen un efecto antinociceptivo, no dosis dependiente, donde la dosis de 30 mg/kg tuvo la mayor eficacia antinociceptiva, estos resultados son semejantes a los obtenidos en el trabajo de Rodríguez *et al.* (2012) quienes determinaron la efectividad de la dosis de 30 mg/kg del extracto de metanol evaluado en el modelo de estiramiento abdominal en ratones.

La evaluación de los extractos de *S. purpurea* en el modelo de formalina confirmó su efecto antinociceptivo, tanto en la fase de dolor neuropático como inflamatorio, donde, de acuerdo con la actividad nociceptiva de la formalina, la fase neurogénica es causada por la activación de los nociceptores, principalmente fibras C y la fase

inflamatoria por la liberación de mediadores inflamatorios (Hunskaar y Hole, 1987; Tjolsen *et al.*, 1992). En el caso del extracto de acetona se observó una disminución de la actividad antinociceptiva en ambas fases, sin embargo, la dosis de 300 mg/kg tiene un mayor efecto en la fase de dolor inflamatorio, este hecho hace suponer que los metabolitos presentes en el extracto, principalmente terpenos, inhiben la síntesis de prostaglandinas o citocinas involucradas en la sensibilización de los receptores (hiperalgesia). Por otro lado, el extracto de metanol a dosis de 30 mg/kg tiene una actividad muy parecida al fármaco de referencia, lo cual permiten predecir que los metabolitos en el extracto interactúan con el sistema opioide, pues se ha reportado que especies del género *Salvia* inhiben la nocicepción por su acción en el sistema opioide, como es el caso de *S. officinalis*, *S. hypoleuca* y *S. divinorum* (Rodríguez *et al.*, 2012; Karami *et al.*, 2013; Simón-Arceo *et al.*, 2017). En este mismo sentido, el extracto acuoso a dosis de 3 mg/kg, tuvo su mayor efecto en la inhibición de la actividad nociceptiva en la fase de dolor inflamatorio. Dichos resultados nos permiten deducir que las diferencias observadas en la actividad antinociceptiva entre los extractos, están íntimamente relacionadas con la presencia y concentración de los terpenos y flavonoides identificados en cada uno de ellos y por su participación en diversos mecanismos de acción.

El estudio fitoquímico determinó que los extractos orgánicos (acetona y metanol) tienen semejanza en su composición química, pues en ambos fueron identificados la mezcla de los ácidos ursólico y oleanólico,  $\beta$ -amirina, estigmasterol, canferol y quercetina, de los cuales, la mezcla fue la que en mayor cantidad se encuentra. Lo anterior, concuerda con lo mencionado por Janicsák *et al.* (2015), quienes reportan que en las especies del género *Salvia*, los ácidos ursólico y oleanólico se hallan generalmente en forma de mezclas. Asimismo, de estos triterpenos se han destacado sus actividades antiinflamatoria y antinociceptiva (Maia *et al.*, 2006; González-Trujano *et al.*, 2012; Seo *et al.*, 2018). En el trabajo de González-Trujano *et al.* (2012) se determinó que el ácido ursólico, componente principal de *Agastache mexicana* (Kunth) Lint & Epling, tiene actividad antinociceptiva en el modelo de estiramiento abdominal. Asimismo, se ha reportado el efecto antinociceptivo del ácido oleanólico evaluado en este mismo modelo (Maia *et al.*, 2006). En el estudio

de Rodríguez et al, (2012) se menciona que la mezcla de ácido ursólico-ácido oleanólico aislado de *S. officinalis* tiene actividad antinociceptiva en el modelo de formalina en la fase del dolor inflamatorio en una dosis de 30 mg/Kg. De acuerdo con lo anteriormente mencionado, en este estudio, la mezcla de los ácidos ursólico-oleanólico identificados en los extractos orgánicos podría estar involucrado en el efecto antinociceptivo de *S. purpurea*. Otro terpenoide identificado en los extractos orgánicos de *S. purpurea* con actividad antiinflamatoria y analgésica fue  $\beta$ -amirina, de este triterpeno, se demostró que tiene efectos analgésicos, independiente al sistema opioide, en el modelo de la formalina a una dosis de 30 mg/Kg, i.p., donde sólo inhibió la fase de dolor inflamatorio (Holanda *et al.*, 2008). También, Oliveira *et al.*, (2005) mencionan que  $\beta$ -amirina tiene actividad antinociceptiva en el modelo de estiramiento abdominal. En esta investigación, otro metabolito identificado fue el estigmasterol, del cual, aún no se ha referido su actividad antinociceptiva y antiinflamatoria, sin embargo, Villa *et al.* (2016), describen el efecto antiinflamatorio del extracto de hexano de *Critonia aromatisans* (DC.) R.M. King & H. Rob., donde este triterpeno fue el constituyente principal.

En cuanto a la presencia de flavonoides libres en los extractos de *S. purpurea*, los tres extractos tienen dichos metabolitos, sin embargo, los extractos polares comparten un mayor número de estos flavonoides. Se identificaron canferol y quercetina en los tres extractos, pero quercetina se encuentra en mayor cantidad en los extractos orgánicos. De ambos flavonoide, ya se han demostrado sus propiedades analgésicas y antiinflamatorias. En el trabajo de do Nascimento *et al.* (2018), el canferol aislado de las hojas de *Ouratea fieldingiana* Engl. demostró tener actividad en la fase de dolor inflamatorio en el modelo de formalina. Con respecto a quercetina, está bien detallado su efecto antiinflamatorio, inhibiendo la participación de la enzima COX-2 (Lesjak *et al.*, 2018). Rutina, fue el flavonoide glicosilado, identificado solamente en el extracto acuoso, en el trabajo de Selvaraj *et al.*, (2014) evaluaron la actividad antinociceptiva de este flavonoide, aislado de *Excoecaria agallocha* L., cuyos resultados obtenidos, mostraron a la rutina como potente agente antinociceptivo tanto periférico como central.

La evaluación *in vivo* de la toxicidad aguda sugiere que la DL<sub>50</sub> se encuentra por arriba de los 2000 mg/Kg para todos los extractos de *S. purpurea*, sin embargo, el extracto de metanol presentó daño gástrico y hepático. De acuerdo con la OCDE (2001), los extractos pertenecen a la categoría 5 (no tóxicos). Los resultados de la toxicidad aguda son consistente con los reportes de otras especies de *Salvias*, donde determinan que las DL<sub>50</sub> son más altas que 2.5 g/Kg, por ejemplo, la DL<sub>50</sub> del extracto de metanol de *S. officinalis* = 44.75 g/Kg (Rodríguez *et al.*, 2012). También existen estudios de *Salvia* donde se demuestran los efectos tóxicos a dosis altas como el daño neurotóxico de *S. fruticosa* Mill. (Sharifi-Rad *et al.*, 2018) y la perdida de la conciencia ocasionado en ratones por salvinatorin A, aislado de *S. divinorum* y *S. haematodes* (Simon-Arseo *et al.*, 2017).

## 9. CONCLUSIONES

---

- Los resultados farmacológicos proporcionan por primera vez evidencia de la actividad de *S. purpurea* para el tratamiento del dolor.
- La administración oral del extracto acuoso, tal como lo indican los estudios etnobotánicos, es segura al menos en dosis aguda.
- El estudio farmacológico demuestra que, todos los extractos tienen un efecto antinociceptivo, no dosis dependiente, donde la dosis de 30 mg/Kg tuvo la mayor eficacia.
- Los resultados del estudio fitoquímico de *S. purpurea*, así como los previamente reportados para otras salvias, muestran que especies del género *Salvia* sintetizan principalmente terpenos, dentro de los cuales, los ácidos ursólico y oleanólico son los mayoritarios.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

---

- Adams, J., Wall, M., García, C. (2005). *Salvia columbariae* contains tanshinones. *Based Complement Alternative of Medical* 2: 107-110.
- Adewusi, E. A., Moodley, N., Steenkamp, V. (2011). Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activity of selected southern African medicinal plants. *South African Journal of Botany* 77: 638–644.
- Alziar G. (1993). Catalogue synonymique des *Salvia* L. du monde (Lamiaceae). *Biocosme Mesogéen* 5:87-136.
- Andrade- Cetto, A. y Heinrich, M. (2016). Introduction to the special issue: The centre of the Americas-an ethnopharmacology perspective. *Journal of Ethnopharmacology* 187:239-240.
- Aoyagi, Y., Yamazaki, C., Nakatsugawa, H., Fukaya, K., Takeya, S., Kawauchi, H., Izumi. (2008). A novel diterpenoid with an unprecedented rearranged neoclerodane skeleton from *Salvia leucantha* Cav. *Organic letters* 10: 4429-4432.
- Argueta, V. A., Cano-Asseleih, L. M., Rodarte, M. E. (1994). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. Instituto Nacional Indigenista. México, D.F. 1193 pp.
- Argumedo-Delira, R., Martínez-Vázquez, A., Nieto, H., Parra-Delgado, M., Ramírez-Apan, M. (2003). Isolation and chemical transformation of some anti-inflammatory triterpenes from *Salvia mexicana* L. Benth. *Journal of the Mexican chemical society* 47: 167-172.
- Baldomero, E., Cardenas, J., Toscano, A., Soriano-Garcia, M. Rodriguez-Hahn, L. (1985). Structure of salvigenolide, a novel diterpenoid with a rearranged neoclerodane skeleton from *Salvia fulgens*. *Tetrahedron* 41:3213-3217.
- Baldomero, E., Vallejo, A., Gaviño, R., Cárdenas, J., Sánchez, A., Ramamoorthy, T.,Rodríguez, L. (1988). Diterpenoids from *Salvia melissodora*. *Phytochemistry* 27: 2903–2905
- Baldomero, E., Hernández, L., Cárdenas, J., Ramamoorthy, T. P., Rodrríguez-Hahn, L. (1989). Further ent.clerodane diterpenoids from *Salvia melissodora*. *Phytochemistry* 28: 3–8.
- Baldomero, E., Obdulia, E., Cárdenas, J., Sánchez, A., Ramamoorthy, T. P., Toscano, A., Rodríguez-Hahn. (1991). Clerodane and seco-clerodane diterpenoids from *Salvia reptans*. *Phytochemistry*, 7:2335-2338.

- Baldomero, E., Flores, M., Hernández-Ortega, S., Toscano, R., Ramamoorthy, T. (1995). Abietano and icetexane diterpenoids from the roots of *Salvia aspera*. *Phytochemistry* 39, 139-143.
- Baldomero-Esquivel, Bustos-Brito, C., Sánchez-Castellanos, M., Nieto-Camacho, A., Ramírez-Apan, T., Joseph-Nathan, P., Quijano, L. (2017). Structure, absolute configuration, and antiproliferative activity of abietane and icetexane diterpenoids from *Salvia ballotiflora*. *Molecules* 22: 1-22
- Ballesta-Acosta, M., Pascual-Villalobos, M., Rodríguez, B. (2002). A new 24-nor-oleanane triterpenoid from *Salvia carduacea*. *Natural Product* 65: 1513-1515.
- Barrot, M. (2012). Review tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience* 211: 39-50.
- Basbaum, A.I., Bautista, D. M., Scherrer, G., Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 139: 267-284.
- Bautista, E., Fragoso-Serrano, M., Ortiz-Pastrana, N., Toscano, R. A., Ortega, A. (2017). Corrigendum to “structural elucidation and evaluation of multidrug-resistance modulatory capability of amarissinins A-C, diterpenes derived from *Salvia amarissima*”. *Fitoterapia* 24:116- 146.
- Bautista, E., Ortiz-Pastrana, N., Pastor-Palacios, G., Montoya-Contreras, A., Toscano, R. A., Morales-Jiménez, J. Ortega, A. (2017). Neo-clerodane diterpenoids from *Salvia polystachya* stimulate the expression of extracellular matrix components in human dermal fibroblasts. *Journal of Natural Products* 80: 3003- 3009.
- Bautista, E., Toscano, A. y Ortega, A. (2014). 5,10-seco-neo-clerodanes and neo-clerodanes from *Salvia microphylla*. *Journal of Natural Products* 77: 1088-1092
- Bell, A. (2018). The neurobiology of acute pain. *Veterinary Journal* 237: 55–62.
- Bentham, G. (1876). Labiatae in Genera Plantarum. *Reeve London* 7:1160-1196.
- Bisio, A., Fontana, N., Romussi, G., Ciarallo, G., De Tommasi, N., Pizza, C., Mugnoli, A. (1999). Clerodane diterpenoids from *Salvia blepharophylla*. *Phytochemistry*, 52: 1535-1540.
- Bisio, A., Pagano, B., Romussi, A., Bruno, O., De Tommasi, N., Romussi, G., Mattia, C. (2007). Relative stereochemistry of a diterpene from *Salvia cinnabarina*. *Molecules* 12: 2279-2287.

- Bisio A., Schito A., Nejad S., Hamburger M., Mele G., Piatti G., Romussi G., Dal Piaz F., De Tommasi N. (2014). Antibacterial compounds from *Salvia adenophora* Fernald. *Phytochemistry* 110: 120-132.
- Bisio, A., De Mieri, M., Milella, L., Schito, A. M., Parricchi, A., Russo, D. De Tommasi, N. (2017). Antibacterial and hypoglycemic diterpenoids from *Salvia chamaedryoides*. *Journal of Natural Products* 80: 503–514.
- Burke, A., Smyth, E. Fitzgerald, G. (2016). Agentes analgésicos-antipiréticos y antiinflamatorios; farmacoterapia de la gota En Goodman and Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica* pp 673-680. México, D.F. McGraw-Hill.
- Bustos-Brito, C (2011). Estudio biodirigido de los componentes antiinflamatorios de *Salvia thymoides* Benth. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cahill, J. P. (2001). Domestication of chia *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). Tesis de doctorado. Universidad de California, EUA.
- Calzada, F., Yepez-Mulia, L., Tapia-Contreras, A., Bautista, E., Maldonado, E. Ortega, A. (2010). Evaluation of the antiprotozoal activity of neo-clerodane type diterpenes from *Salvia polystachya* against *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *Phytotherapy Research* 24: 662-665.
- Calzada, F., Bautista, E., Yépez-Mulia, L., García-Hernandez, N. Ortega, A. (2015). Antiamoebic and anti-giardial activity of clerodane diterpenes from Mexican *Salvia* species used for the treatment of diarrhea. *Phytotherapy Research* 29: 1600–1604.
- Campos-Xolalpa, N., Alonso-Castro, Á. J., Sánchez-Mendoza, E., Zavala-Sánchez, M. Á., Pérez-Gutiérrez, S. (2017). Cytotoxic activity of the chloroform extract and four diterpenes isolated from *Salvia ballotiflora*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 3:302–305.
- Cole, B. E. (2017). Pain management: classifying, understanding and treatment pain. *Hospital Physician* 38: 23-30.
- Colín Segundo, A. (2013). Aislamiento y evaluación como inhibidores de la replicación de células tumorales de los componentes diterpénicos de *Salvia candicans*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Collier, H.O., Dinneen, L.C., Johnson, C. A, Scheider, C. (1968). The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British. Journal Pharmacology and Chemotherapy* 32: 295-310.

- Córdoba-Guerrero I. (2016). Actividad antibacteriana y antifúngica de un extracto de *Salvia apiana* frente a microorganismos de importancia clínica. *Revista Argentina de Microbiología* 1-10.
- Córdoba-Guerrero, I., Aragon-Martínez, O., Díaz-Rubío, L., Franco-Cabrera, S., Serafín-Higuera, N., Pozos-Guillén, A., Soto-Castro, T., Martínez-Morales, F., Isiordia-Espinoza, M. (2016). Antibacterial and antifungal activity of *Salvia apiana* against clinically important microorganisms. *Revista Argentina de Microbiología* 48: 217-221.
- Cosme, P. I. (2008). El uso de plantas Medicinales. Universidad Veracruzana *Intercultural* 1-4.
- Covarrubias-Gómez, A. (2008). Las clínicas del dolor en México. *Revista Mexicana de Anestesiología* 31: 66–70.
- Covarrubias-Gómez, A., Guevara-López, U., Gutiérrez-Salmerón, C., Betancourt-Sandoval, J. A., Córdoba-Domínguez, J. A. (2010). Epidemiología del dolor crónico en México. *Revista Mexicana de Anestesiología* 33: 207–213.
- Cregg, R., Russo, G., Gubbay, A., Branford, R., Sato, H. (2013). Pharmacogenetics of analgesic drugs. *British Journal of Pain* 7: 189–208.
- Cuevas, G., Collera, O., García, F., Cárdenas, J., Maldonado, E., Ortega, A. (1987). Diterpenes from *Salvia breviflora*. *Phytochemistry* 26, 2019-2021.
- Dai, Y., Liu, L., Xie, G. (2014). Four new eudesmane type sesquiterpenes from the basal leaves of *Salvia plebeian*. *Fitoterapia* 94: 142-147.
- Dávila, A. P., Villaseñor, R. J., Medina, L., Ramírez, T., Salinas, T. A., Sánchez-Ken, J. Tenorio, L.P. (1993). Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Instituto de Biología, UNAM*. México, D.F. 195 pp.
- Dawes, J., Andersson, D., Bennet, D., Bevan, S., McMahon, S. B. (2013). *Inflammatory mediators and modulators of pain*. Tracey, Turquía, Elsevier, pp. 48-67.
- De Falco, B., Fiore, A., Bochicchio, R., Amato, M., Lanzotti, V. (2018). Metabolomic analysis by UAE-GC MS and antioxidant activity of *Salvia hispanica* (L.) seeds grown under different irrigation regimes. *Industrial Crops and Products* 112: 584–592
- Dentali, S., Hoffmann, J. (1990). Hydroxycarnosic acid, a diterpene from *Salvia apiana*. *Phytochemistry*, 29: 993-994.

- Deraedt, R., Jouquey, S., Delevallee, F., Flahaut, M. (1980). Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *European Journal of Pharmacology* 61: 17–24.
- Di Sotto, A., Mastrangelo, S., Romussi, G., Bisio, A., Mazzanti, G. (2009). Antimutagenic activity of secoisopimarane diterpenoid from *Salvia cinnabarina* M. Martens et Geleotti in the bacterial reverse mutation assay. *Food and Chemical Toxicology* 47, 2092-2096.
- Di Sotto, A., Mastrangelo, S., Romussi, G., Bisio, A., Mazzanti, G. (2009). Antimutagenic activity of a secoisopimarane diterpenoid from *Salvia cinnabarina* M Martens et Galeotti in the bacterial reverse mutation assay. *Food Chemical Toxicology* 47; 2092-6.
- do Nascimento, J. E. T., de Moraes, S. M., de Lisboa, D. S., de Oliveira Sousa, M., Santos, S. A. A. R., Magalhães, F. E. A., Campos, A. R. (2018). The orofacial antinociceptive effect of kaempferol-3-O-rutinoside, isolated from the plant *Ouratea fieldingiana*, on adult zebrafish (*Danio rerio*). *Biomedicine and Pharmacotherapy* 107: 1030–1036.
- Domínguez-Vázquez, G., Castro-Ramírez, A. (2002). Usos medicinales de la familia Labiatae en Chiapas, México. *Etnobiología* 2:19-31.
- Ebbinghaus, M., Uhlig, B., Richter, F., Segond, G., von Banchet, M., Gajda, R., Bráuer, G. (2012). The role of interleukin.6 in arthritic pain: main involvement in thermal, but not mechanical, hyperalgesia in rat antigen-induced arthirthis. *Arthritits Rheumatoid* 64: 3897-3097
- Espejo, S. A. y Ramamoorthy. (1993). Revisión taxonómica de *Salvia* sección *Sigmoideae* (Lamiaceae). *Acta Botánica Mexicana* 23: 65-102
- Esquivel, B., Calderon, J. S., Flores, E. (1997). Abietane and icetexane diterpenoids from *Salvia ballotaeflora* and *Salvia axillaris*. *Phytochemistry* 3:5–8.
- Esquivel, B., Calderón, J. S., Sánchez, A. A., Ramamoorthy, T. P. Flores, E. A., Domínguez, R. M. (1996). Recent advances in phytochemistry and biological activity of mexican Labiatae, *Revista Latinoamericana de Química* 2:44–63.
- Esquivel, B., Calderón, J. S., Flores, E., Sánchez, A. A., Rivera, R. R. (1997). Abietane and icetexane diterpenoids from *Salvia ballotaeflora* and *Salvia axillaris*. *Phytochemistry* 46: 531–534.
- Esquivel, B., Guerrero, F., Toscano, R. (2002). Tri-nordammarane triterpenoids and neoclerodane diterpenoids from *Salvia aspera* (Labiatae). *Natural product* 16: 129-135.

- Fan, M., Bao, Y., Zhang, Z. J., Zhang, H. Bin, Zhao, Q. S. (2017). New neo-clerodane diterpenoids with neurotrophic activity from the aerial parts of *Salvia tiliifolia*. *Fitoterapia* 123: 44–50.
- Flores-Bocanegra, L., González-Andrade, M., Bye, R., Linares, E., Mata, R. (2017).  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors from *Salvia circinata*. *Journal of Natural Products*. 80:1584–1593
- Fontana-Uribe, B., Escárcega-Bodabilla, R., Estrada-Reyes, J., Morales-Serna, M., Salmón, J., Cárdenas, J. (2011). A new languidulane diterpenoid from *Salvia mexicana*. *Molecules* 16: 8866-8873.
- González, A., Andrés, L., Ravelo, A., Luis, J., Bazzocchi, I. West, J. (1989). Terpenoids from *Salvia mellifera*. *Phytochemistry* 29: 1691-1693.
- González, A., Andrés, L., Aguilar, Z. Luis, J. (1992). Diterpenes from *Salvia mellifera* and their biogenetic significance. *Phytochemistry* 31: 1297-1305.
- González-Chávez, M. M., Ramos-Velázquez, C. S., Serrano-Vega, R., Pérez-González, C., Sánchez-Mendoza, E., y Pérez-Gutiérrez, S. (2013). Anti-inflammatory activity of standardized dichloromethane extract of *Salvia connivens* on macrophages stimulated by LPS. *Pharmaceutical Biology* 55: 1467–1472.
- González-Chavéz, M. M., Alonso-Castro, A., Zapata-Morales, J. R., Arana-Argáez, V., Torres-Romero, J. C., Medina-Rivera, Y. E., Sánchez-Mendoza, E., Pérez-Gutierrez, S. (2018). Anti-inflammatory and antinociceptive effects of tilifodiolide, isolated from *Salvia tiliifolia* Vahl (Lamiaceae ). *Drugs Derivation. Review*. 79: 165-172.
- González-Cortazar, M., Maldonado-Abarca, A. M., Jiménez-Ferrer, E., Marquina, S., Ventura-Zapata, E., Zamilpa, A. y Herrera-Ruiz, M. (2013). Isosakuranetin-5-O-rutinoside: a new flavanone with antidepressant activity isolated from *Salvia elegans* Vahl. *Molecules* 18: 13260–13270.
- González-Trujano, M., Ventura-Martínez, R., Chávez, M., Díaz-Reval, I., Pellicer, F. (2012). Spasmolytic and antinociceptive activities of ursolic acid and acacetin identified in *Agastache Mexicana*. *Planta Medica* 78: 793-796.
- González-Trujano ME, Brindis F, López-Ruiz E, Ramírez-Salado I, Martínez A, Pellicer F. (2016). Depressant effects of *Salvia divinorum* involve disruption of physiological *Phytotherapy*.230:1137-1145.
- Guerrero G. F. (1993). *Estudio fitoquímico de Salvia atropaenulata* EPL. y *Salvia asper*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

- Guerrero, I. C., Andrés, L. S., León, L. G., Machín, R. P., Padrón, J. M., Luis, J. G., Delgadillo, J. (2006). Abietane diterpenoids from *Salvia pachyphylla* and *S. clevelandii* with cytotoxic activity against human cancer cell lines. *Journal of Natural Products* 69: 1803–1805.
- Guerrero, I., Andrés, L., León, L., Machín, R., Padrón, J., Luis, J., Delgadillo, J. (2006). Abietane diterpenoides from *Salvia pachyphylla* and *S. clevelandii* with cytotoxic activity against human cancer cell lines. *Natural product* 69: 1803-1805.
- Guzmán, G. O., (2014) Evaluación de la actividad antiinflamatoria y estudios quimiométricos de especies de *Salvia* de Xalapa, Veracruz y municipios aledaños. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana, Veracruz.
- Henschke, N., Kamper, S. J., Maher, C. G. (2015). The epidemiology and economic consequences of pain. *Mayo Clinic Proceedings*. 90: 139–147.
- Hernández, M., Esquivel, B., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, L. Ramamoorthy, T. P. (1987). Diterpenoid abietane quinones isolated from *Salvia regla*. *Phytochemistry* 26: 3297–3299
- Hernández-Ortega, S. (1989). Estudio fitoquímico de *Salvia purpurea* Cav. Tesis de licenciatura, Universidad Veracruzana, Veracruz.
- Holanda, P.S.A., Pinto, L.M.S., Cunha, G.M.A., Chaves, M.H. (2008). Antinociceptive effect of triterpenoid  $\alpha$  and  $\beta$  amyryn in rats on orofacial pain induced by formalin and capsaicin. *Phytomedicine* 15: 630-634.
- Hunskar, S., Hole, K. (1987). The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 30: 103-114.
- Ibrahim, T. (2012). Chemical composition and biological activity of extracts from *Salvia bicolor* Desf, growing in Egypt. *Molecules* 17: 11315-11334.
- Ikeda, Y., Ueno, A., Naraba, H., Oh-ishi, S., (2001). Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanooids in the acid-induced writhing responses of mice. *Life Sciences* 69: 2911-2919.
- Instituto de Biología. (2010). "*Salvia purpurea* Cav. IBUNAM: MEXU: PVsn41596". UNIBIO: Colecciones Biológicas. Recuperado el 8 de mayo de 2018, de <http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:MEXU:PVsn41596>.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). (2015). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Santiago Huaucilla, Oaxaca. México.

- International Association for the Study of Pain (IASP). (2017). Curriculum outline on pain for nursing. Recuperado el 4 de mayo de 2018, de <http://www.iasp-pain.org>
- Islas, G. (2013) Determinación del perfil de compuestos bioactivos fenólicos y triterpénicos pentacíclicos en *Salvias* mexicanas. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Jacquier, C. (1997). *El dolor: aspectos básicos y clínicos*. Santiago de Chile: Mediterráneo.
- Jaime-Vasconcelos, M., Frontana-Uribe, B., Morales-Serna, J., Salmón, M., Cárdenas, J. (2011). Structure of salvioccidentalín a diterpenoid with a rearranged neo-clerodane skeleton from *Salvia occidentalis*. *Molecules* 31: 9109-9115.
- Jang, H. J., Oh, H. M., Hwang, J. T., Kim, M. H., Lee, S., Jung, K., Rho, M. C. (2016). Eudesmane-type sesquiterpenoids from *Salvia plebeia* inhibit IL-6-induced STAT3 activation. *Phytochemistry* 130: 335–342.
- Janicsák, G., Veres, K., Kakasy, A. Z., Máthé, I. (2015). Study of the oleanolic and ursolic acid contents of some species of the Lamiaceae. *Biochemical systematic and ecology* 34: 392-396.
- Jenks, A., Kim, S. (2013) Medicinal plant complexes of *Salvia* subgenus *Calospatha*: An ethnobotanical study of new world sage. *Journal of Ethnopharmacology* 146: 214-224.
- Jie, L., Du, H., Huang, Q. (2014). Tanshinone IIA induces apoptosis in fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis via blockade of the cell cycle in the G2/M phase and a mitochondrial pathway. *Biology Pharmacology* 37:1366-1372.
- Juscafresa, B. (1995). Guía de la flora medicinal, tóxica, aromática y condimentaria. Editorial Aedos. Grupo Mundi-Prensa. Barcelona.
- Kabouche, A., Kabouche, Z. (2008). Bioactive diterpenoids of *Salvia* species. *Natural Products Chemistry* 35: 753–833.
- Kansal, A., Hughes, J. (2016). Visceral pain. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* 20: 1–5.
- Karami, M., Shamerani, M., Alemy, S., Gohari, A., Ehsani, V. (2013). Comparison antinociceptive activity of the aqueous methanolic extracts of *Salvia hypoleuca* and *Phytolacca americana* in mice. *Review Medical Pharmacology* 20: 2755-2759.

- Kawahara, N., Inoue, M., Kawai, K. I., Sekita, S., Satake, M., Goda, Y. (2003). Diterpenoid from *Salvia greggii*. *Phytochemistry* 63: 859–862.
- Kim, J., Gazarian, M., Verjee, Z., Johnson, D. (1995). Acute renal insufficiency in ibuprofen overdose. *Pediatrics Emergency Care* 11: 107-8.
- Kim, K. A., Lee, I. A., Hyam, S. Kym, D. (2014).  $\beta$ -Sitosterol attenuates high-fat diet-induced intestinal inflammation in mice by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to toll-like receptor 4 in the NF- $\kappa$ B pathway. *Molecular Nutritional Food Research* 58: 963-972.
- Kinghorn, A.D., 1997. *Plant drugs analysis a thin layer chromatography atlas*. Second Edition. H. New York. 1996. 384 pp.
- Kumar, M., Shete, A., Akbar, Z. (2010). A review on analgesic: from natural sources. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives* 1: 95–100.
- La, J., Gebhart, G. F. (2014). Visceral Pain. *Encyclopedia of the Neurological Science* 3: 672–676.
- Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini-Reviews in Medical Chemistry* 9: 31-59.
- Le Bars D., Gozariu, M., Cadden, S. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacology* 53: 597-652.
- Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintać, D., Majkić, T., Bekvalac, K., Mimica-Dukić, N. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *Journal of Functional Foods* 40: 68–75.
- Liu, H., Ma, S., Xia, H., Lou, H., Zhu, F., Sun, L. (2018). Anti-inflammatory activities and potential mechanisms of phenolic acids isolated from *Salvia miltiorrhiza* f. *alba* roots in THP-1 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology* 222: 201–207.
- Liu, Y. W., Huang, Y. T. (2014) Inhibitory effect of tanshinone IIA on rat hepatic stellate cells. *PLoS One* 9: e103229.
- López, F. A., Iturralde, F., Clerencia, S. M., Ortiz de Landázuri, J. (2007). Cap. 71 Dolor. En *Tratado de Geriatria* (pp. 721-731). Madrid, España: Ediciones En español.
- López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Review of Medicine Chemistry*. 9: 31-59.

- López-Muñoz, F.J., Díaz-Reval, M.I., Terrón, J.A. y Décima, C.M. (2004). Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat. *European Journal of Pharmacology* 484:157-165
- Maia, J.L., Lima-Junior, R.C., David, J.P., David, JM., Melo, C.M., Campos, A. R., Santos, F.A., Rao, V.S. (2006). Oleanolic acid, a pentacyclic terpene attenuates capsaicin-induced nociception in mice: possible mechanisms. *Pharmacological Research* 54: 282-286.
- Maldonado, B., Cárdenas, B., Salazar, A., Toscano, A., Ortega, C., Jankowski, A., Aumelas, M. (1992). Salviduline C, a 5,6-secoclerodane-diterpenoid from *Salvia lavanduloides*. *Phytochemistry* 31: 217-220.
- Maldonado, E., Salazar, A., Ortega, A. (1994). Abietano and neoclerodane diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. *Phytochemistry*, 35: 1480-1482.
- Maldonado, E., Galicia, L., Chávez, M., Hernández-Ortega, S. (2016). Neoclerodane diterpenoids and other constituents of *Salvia flipes*. *Natural product* 79: 2667-2673.
- Malencic, Dj., Gasic, O. y Boz, P. (2000). Screening for antioxidant properties of *Salvia reflexa* Hornem. *Phytotherapy Research* 548: 546–548
- Malsh, P., Andratsch, M., Vogl, C., Link, A. S., Alzheimer, C., Brierley, S. M., Hughes, P.A., Kress, M. (2012). Deletion of interleukin-6 signal transducer gp130 in small sensory neurons attenuates mechanonociception and down-regulates TRPA1 expression. *Journal Neuroscience* 23:9845-56.
- Martínez, S., Cárdenas, J., Rainainoorthy, T. P. y Rodriguez-Hahn, L. (1989). The pimarane-type diterpenoids of *Salvia microphylla*. *Planta Médica* 55: 62–63.
- Martínez-Gordillo, M., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M. D. R., Montiel, O. (2013). Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84: 30–86.
- Martínez-Vázquez, M., Miranda, P., Valencia, N. A., Torres, M. L., Miranda, R., Cárdenas, J., Salmón, M. (1998). Antimicrobial diterpenes from *Salvia reptans*. *Pharmaceutical Biology* 36: 77–80
- McCurdy, C.R., Sufka, K. J., Smith, G. H., Warnick, J.E., Nieto, M. J. (2006) Antinociceptive profile of salvinorin A, a structurally unique kappa opioid receptor agonist. *Review of Pharmacology and Biochemistry Behavior* 83: 109-13.
- Medina, M. (1998). *Estudio fitoquímico de las raíces de Salvia anastomosans*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

- Merskey, H., Bugduk, N. (1994). Classification of chronic pain. *En Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of Pain Terms*. 2da ed. Seattle, WA: IASP Press.
- Mertens, P., Blond, S., David, R., Rigoard, P. (2015). Anatomy, physiology and neurobiology of the nociception: A focus on low back pain (part A). *Neurochirurgie* 61: S22–S34.
- Miyoshi H. (2001). Systemic nonopioid analgesics *Management of Pain*. 22:1667-1681.
- Montgomery, P., Shank, B. C., Black, A. C. (2017). The role of pain classification systems in pain management. *Critical Care Nursing Clinics of North America* 29: 407–418.
- Moreno, G., F. (2017). Evaluación química y actividad antinociceptica de *Salvia circinata*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Nambo, C.A. (2015). Etnobotánica de Santiago Huaucilla, Oaxaca y evaluación farmacológica de *Zinnia peruviana*. Tesis de licenciatura. UNAM. México D.F.
- Nieto, M., Gallardo V, O., Rossomando, P. C. Tonn, C. E. (1996). 8-Hydroxysalviarin and 7,8-didehydrorhacophiline, two new diterpenes from *Salvia reflexa*. *Journal of Natural Products* 59: 880–882.
- Nikfarjam, B., Adineh, M., Hajiali, F., Nassiri-Asl, M. (2017). Treatment with rutin a therapeutic strategy for neutrophil-mediated inflammatory and autoimmune diseases: anti-inflammatory effects of rutin on neutrophils. *Pharmacopuncture* 20: 52-56.
- Nogueira, A. O., Oliveira, Y. I. S., Adjafre, B. L., de Moraes, M. E. A., Aragão, G. F. (2018). Pharmacological effects of the isomeric mixture of alpha and beta amyriin from *Protium heptaphyllum* a literature review. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 22: 1–22.
- NOM-062-ZOO-1999. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. México, D.F., 22 de agosto de 2001.
- NPC. National Pharmaceutical Council (2001). Pain: Current understanding of assessment, management, and treatments. Recuperado el 17 de Noviembre de 2017, de <https://www.npcnow.org/system/files/research/download/Pain-Current-Understanding-of-Assessment-Management-and-Treatments.pdf>.

- OCDE (2001). Guiderline for testing of chemicals. Acute oral toxicity- acute toxic class method. Recuperado el 12 de febrero de 2018 de [https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oced/oced\\_gl423.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oced/oced_gl423.pdf)
- Oliveira, F.A., Costa, C.L., Chaves, M.H., Almeida, F.R. (2005). Attenuation of capsaicin-induced acute and visceral nociceptive pain by alpha-and beta-amyrin, a triterpenoid mixture isolated from *Protium heptaphyllum* resin in mice. *Life Sci.* 77: 2942-2952.
- Oliveira-Alves, S. C., Vendramini-Costa, D. B., Betim Cazarin, C. B., Maróstica Júnior, M. R., Borges Ferreira, J. P., Silva, A. B., Bronze, M. R. (2017). Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chemistry* 232: 295–305
- Ong, C.K.S., Lirk, P., Tan, C. H., Seymour, R. A., (2007). An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical Medical Review* 5: 19-34.
- Ortega, A., Cárdenas, A., Toscano, E., Maldonado, A., Aumelas, A. (1991). Salvidulines A and B, two secoclerodane diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. *Phytochemistry*, 30: 3357-3360.
- Ortega, A., Cárdenas, J., Gage, D. A., Maldonado, E. (1995). Abietane and clerodane diterpenes from *Salvia reglia*. *Phytochemistry* 39: 931–933.
- Park, S.H., Sim, Y., Kang, Y., Kim, S., Kim, C., Kim, S., Suh, H. (2013). Mechanisms involved in the antinociceptive effects of orally administered oleanolic acid in the mouse. *Archives Pharmaceutic Review* 36: 905-911.
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. Bolivian. *Journal of Chemistry* 31: 68–81.
- Pereda R., Hernández L. y López R. (1992). A novel antimicrobial abietane type diterpene from *Salvia albocaerulea*. *Planta Médica* 58: 223-224.
- Pérez Gutiérrez, S., Zavala Mendoza, D., Soto Peredo, C., Sánchez Sánchez, O., Zavala Sánchez, M. A. (2014). Evaluation of the anti-diarrheal activity of *Salvia connivens*. *Pharmaceutical Biology* 52: 1467–1470.
- Pinho, F.A., Zarpelon, A.C., Fattori, V., Manchope, M.F., Mizokami, S.S., Casagrande, R., Verri, W.A. (2016). Naringenin reduces inflammatory pain in mice. *Neuropharmacology* 105: 508-519.
- Pinho-Ribeiro, F., Waldiceu, A., Verri, Jr., Chiu, I. (2016). Nociceptor sensory neuron-Immune interactions in pain and inflammation. *Trends in immunology* 1, 1-15.

- Pironi, A. M., de Araújo, P. R., Fernández, M. A., Salgado, H. R. N., Chorilli, M. (2018). Characteristics, biological properties and analytical methods of ursolic acid: a review. *critical reviews. Analytical Chemistry* 48: 86–93.
- Poole, C.F., Poole, S.K. (1994). Instrumental thin-layer chromatography. *Anal Chemistry*. 66: 27-37.
- Popova, O., Nikitina, A., Arryakova, E. (2016). Quantitative determination of the amount of flavonoids in the herb of *Salvia farinacea* Benth. *Farmacía y Farmacología* 4: 55-65.
- Porche, R. A. (2010). Approaches to pain management: an essential guide for clinical leaders. The Joint Commission International. Recuperado el 20 de julio de 2018 de [http://www.jointcommissioninternacional.org/assets/1/14/APM10\\_Sample\\_Pages2.pdf](http://www.jointcommissioninternacional.org/assets/1/14/APM10_Sample_Pages2.pdf).
- Ramamoorthy, T., P. M. Elliot. (1998). Cap Lamiaceae de México diversidad, distribución y evolución. En *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*, (pp. 501-526), México, D.F. Instituto de Biología. UNAM.
- Ribeiro, R.A., Vale, M.I., Thomazzi, S., Paschoalato, A. B., Poole, S., Ferreira, S.H., Cunha, F.Q. (2000). Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology* 387: 111-118.
- Ringkamp, M., Srinivasa, R., Campbell, J., Meyer, R. (2013). *Peripheral mechanisms of cutaneous nociception*. Tracey, Turk: Elsevier, pp 1-30.
- Roach, J., J. y Shenvi, R. (2018) A review of salvinorin analogs and their kappa-opioid receptor activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 28:1436-1445.
- Rodrigues, M., Sales, L., Machado, T., Francielle, C., Horst, H., Geraldo, M., Soares, A., Hatsuko, C., de Paula, M. (2012). Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 139: 519–526.
- Rodriguez-Hahn, L. y O'Reilly, R. (1990). Tilifodiolide, tetraline-type diterpenoid of clerodanic origin from *Salvia tiliaefolia*. *Journal Organic Chemistry* 55: 3522-3525.
- Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, C., Estebanes, L., Caidonas, R., Soriano-García, M., Toscano, R., Ramamoorthy, T. (1989). Diterpene isolated from *Salvia fruticulosa*. *Phytochemistry* 28: 567:570.

- Romussi, G., Ciarallo, G., Bisio, A., Fontana, N., De Simone, F., De Tommasi, N., Mascolo, N., Pinto, L. (2001). A new diterpenoid with antispasmodic activity from *Salvia cinnabarina*. *Planta médica* 67: 153-5.
- Rosa, E. da, Amaral, Q. D. F. do, Duarte, J. A., Limberger, J. T., Chaves, P. E. E., Zuravski, L., Machado, M. M. 2017. Antigenotoxic, antimutagenic and cytoprotective potential of *Salvia hispanica* L. seed extract on human leukocytes exposed to oxidative damage. *Journal of Functional Foods* 38: 505–509.
- Selvaraj, G., Kaliamurthi, S., Thirungnasambandam, R., Vivekanandan, L., Thangavel, B. (2014). Anti-nociceptive effect in mice of thillai. *Biomedical and Environmental Sciences* 27: 295–299.
- Seo, D. Y., Lee, S. R., Heo, J., No, M., Rhee, B. D., Ko, K. S., Han, J. (2018). Ursolic acid in health and disease. *Korean Journal Physiology and Pharmacology* 22: 235–248.
- Sharifi-Rad, M., Ozcelik, B., Altın, G., Daşkaya-Dikmen, C., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Sharifi-Rad, J. (2018). *Salvia* spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Trends in Food Science and Technology* 80: 242–263.
- Simón-Arceo K, González-Trujano ME, y Coffeen U. (2017). Neuropathic and inflammatory antinociceptive effects and electrocortical changes produced by *Salvia divinorum* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 206:115-124.
- Srivedavyasari, R., Hayes, T., Ross, S. (2017). Phytochemical and biological evaluation of *Salvia apiana*. *Natural products* 31: 2058-2061.
- Steeds, C. E. (2016). The anatomy and physiology of pain. *Surgery*. 1: 1–5.
- Svensson, C. I., Sorkin, L. S. (2017) Cap. 30. Neuronal regulation of pain and inflammation. En *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology* (pp 461-474). EUA: Ediciones Elsevier.
- Taylor, P., Aydo, Z., Ye, V. y Topcu, G. (2006). Constituents of *Salvia microphylla*. *Natural Product Research* 20: 775-781
- Terzi, M., Altun, G., Sen, S., Kocaman, A., Kaplan, A. A., Kübra, Y. K., Kaplan, S. (2017). The use of non-steroidal anti-inflammatory drugs in neurological diseases. *Journal of Chemical Neuroanatomy*.27: 1-31.
- Tjølsen, A., Berge, O.-G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 51: 5–17.
- Tominaga, M. (2007). Nociception and TRP channels. *Pharmacology* 523: 199-207.

- Tracey, Jr., D. (2017) Nociception. *Current Biology* 27: 129-133.
- Treede, R. D., Meyer, R. A., Campbell, J. N. (1998). Myelinated mechanically insensitive afferents from monkey hairy skin: heat-response properties. *Journal of Neurophysiology* 80: 1082-1093.
- Tropicos.org. (2018). Missouri Botanical Garden. Recuperado el 18 de diciembre de 2017 de: <http://www.tropicos.org/Name/17603330>
- Valdés LJ, Díaz J., Paul A., G. (1983). Ethnopharmacology of ska María pastora (*Salvia divinorum*, Epling AND Jativa-M. *Journal of Ethnopharmacology* 3:287-312.
- Verano, J., González-Trujano, M. E., Déciga-Campos, M., Ventura-Martínez, R., Pellicer, F. (2013). Ursolic acid from *Agastache mexicana* aerial parts produces antinociceptive activity involving TRPV1 receptors cGMP and serotonergic synergism. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 110: 255-264.
- Villa-De La Torre, F., Kinscherf, R., Bonaterra, G., Arana-Argaez, V. E., Méndez-González, M., Cáceres-Farfán, M., Borges-Argáez, R. (2016). Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Critonia aromatisans* leaves: Downregulation of pro-inflammatory cytokines. *Journal of Ethnopharmacology* 190: 174–182.
- Villaseñor, J.L. (2004) Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 75:105-135.
- Vuksan, V., Jenkins, A. L., Brissette, C., Choleva, L., Jovanovski, E., Gibbs, A. L., Hanna, A. 2017. Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 27: 138–146.
- Wagner, H., Blatt, S. (1996). Plant drug analysis. A thin layer chromatography. Berlin: Springer-Verlag.
- Walker, J. B., Sytsma, K. J. (2007). Staminal evolution in the genus *Salvia* (Lamiaceae): Molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the staminal lever. *Annals of Botany* 100: 375–391.
- Walker, J. B., Sytsman., K. J., Treutlein, J., Wink, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae): Molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the staminal lever. *Annals of Botany* 44: 211-278.
- Williams, C. H. y Hines, H. (1940). The toxic properties of *Salvia reflexa*. *Australian Veterinary Journal* 16: 14–20.

- Wink M. (2010). Introduction: Biochemistry, physiologic and ecological functions of secondary metabolites. *Annual Plant Review* 40:1-19.
- Woolf, C. J. (2010). Review series introduction What is this thing called pain? *The Journal of Clinical Investigation* 120: 10–12.
- Wu, Y. B., Ni, Z. Y., Shi, Q. W., Dong, M., Kiyota, H., Gu, Y. C., Cong, B. (2012). Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chemical Reviews* 112: 5967–6026.
- Xu, K., Chu, F., Li, G., Xu, X., Wang, P., Song, J., Zhou, S., Lei, H. (2014). Oleanolic acid synthetic oligoglycosides: a review on recent progress in biological activities. *Pharmazie* 69: 483-495.
- Yogarathnam, D., Ditch, K., Medeiros, K., Miller, M., Smith, B. S. (2016). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sedative and analgesic drugs in critically ill adult patients. *Critical Care Nursing Clinics of North America* 28: 183-194.
- Zar, J. H. (2010). *Biostatistical analysis*, Illinois, Northern Illinois University.