



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DEL EFECTO TIPO ANALGÉSICO DE SALVIA  
AMARISSIMA ORTEGA EN MODELOS EXPERIMENTALES DE DOLOR NOCICEPTIVO  
E INFLAMATORIO.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA (N)**

**GUILLERMO VÁZQUEZ DÍAZ**

**ASESOR DEL TEMA**

**DRA. MARIA EVA GONZÁLEZ TRUJANO**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2023**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: GOMEZ MARTINEZ ATONATIU EDMUNDO

**VOCAL:** Profesor: PEREZ MUÑOZ CARLOS

**SECRETARIO:** Profesor: GONZALEZ TRUJANO MARIA EVA

**1er. SUPLENTE:** Profesor: BALDERAS LOPEZ JOSE LUIS

**2° SUPLENTE:** Profesor: OVALLE MAGALLANES BERENICE

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA DE PRODUCTOS NATURALES, INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ.**

**ASESOR DEL TEMA:**

DRA. MARÍA EVA GONZÁLEZ TRUJANO

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

M .EN C. GABRIEL FERNANDO MORENO PÉREZ

**SUSTENTANTE (S):**

VÁZQUEZ DÍAZ GUILLERMO

## **ÍNDICE**

### **i. ABREVIATURAS**

### **ii. LEYENDA DE LAS FIGURAS**

## **1. INTRODUCCIÓN**

## **2. MARCO TEÓRICO**

### 2.1 EPIDEMIOLOGÍA

### 2.2 DEFINICIÓN

### 2.3 CLASIFICACIÓN

#### 2.3.1 DOLOR NOCICEPTIVO

#### 2.3.2 DOLOR INFLAMATORIO

#### 2.3.3 DOLOR DISFUNCIONAL

#### 2.3.4 HIPERALGESIA

#### 2.3.5 ALODÍNIA

#### 2.3.6 FIBROMIALGIA

### 2.4 NOCICEPCIÓN

### 2.5 MECANISMOS Y MEDIADORES DEL DOLOR

#### 2.5.1 RECEPTORES A OPIOIDES ENDÓGENOS

#### 2.5.2 MONOAMINAS

### 2.6 FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL DOLOR

### 2.7 MODELOS EXPERIMENTALES DE DOLOR

#### 2.7.1 FORMALINA

#### 2.7.2 MIALGIA INDUCIDA CON RESERPINA

### 2.8 PLANTAS MEDICINALES

2.8.1 *Salvia amarissima* Ortega

2.8.2 Propiedades farmacológicas

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **4. HIPÓTESIS**

### **5. OBJETIVOS**

5.1 OBJETIVO GENERAL

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

### **6. PROTOCOLO EXPERIMENTAL**

6.1 MATERIAL VEGETAL

6.2 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

6.3 ANALISIS CROMATOGRÁFICO

6.4 ANIMALES

6.5 EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA

6.5.1 PRUEBA DE LA FORMALINA

6.5.2 MODELO FIBROMIALGIA

6.5.3 UMBRAL DE PRESIÓN MUSCULAR

6.5.4 UMBRAL DE RESPUESTA TÁCTIL

6.5.5 UMBRAL DE ALODINIA TÉRMICA

6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### **7. RESULTADOS**

7.1 CONDUCTA DE LAMIDA EN LA PRUEBA DE FORMALINA

### **8. DISCUSIÓN**

8.1 EVALUACIÓN FITOQUÍMICA

8.2 EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA

8.2.1 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DEL EXTRACTO DE ACETATO DE  
ETILO

8.2.2 EFECTO ANTINOCICEPTIVO DEL METABOLITO ACTIVO

**9. CONCLUSIÓN**

**10. PERSPECTIVAS**

**11. REFERENCIAS**

## **i. ÍNDICE DE ABREVIATURAS**

<b>FM</b>	FIBROMIALGIA
<b>IASP</b>	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor(IASP, por sus siglas en inglés)
<b>SNC</b>	SISTEMA NERVIOSO CENTRAL
<b>AMPc</b>	Adenosín Monofosfato cíclico (AMPc, por sus siglas en inglés)
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Ion calcio
<b>SP</b>	Sustancia P
<b>K<sup>+</sup></b>	Ion potasio
<b>5-HT</b>	5-Hidroxitriptamina/Serotonina
<b>5-HT<sub>1B/1D</sub></b>	Sumatriptán
<b>TPDL</b>	Tegmento Pontino Dorsolateral
<b>AINE</b>	Antinflamatorio No Esteroideo
<b>PGs</b>	Prostaglandinas
<b>COX</b>	Ciclooxigenasa
<b>COX-1</b>	Ciclooxigenasa-1
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenasa-2
<b>CCA</b>	Cromatografía en Columna Abierta
<b>CCF</b>	Cromatografía en Capa Fina
<b>CLAR</b>	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés)

<b>µg</b>	Microgramos
<b>µL</b>	Microlitros
<b>DA</b>	Dopamina
<b>ATP</b>	Adenosín Trifosfato (ATP, por sus siglas en inglés)
<b>mg</b>	Miligramos
<b>Fig.</b>	Figura
<b>Kg</b>	Kilogramo
<b>ANOVA</b>	Análisis de Varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés)
<b>s.c</b>	Subcutánea
<b>AU</b>	Unidades de Área (AU, por sus siglas en inglés)
<b>QG5</b>	XALXÓCOTL ( <i>Psidium guajava</i> )
<b>ABC</b>	Área Bajo la Curva
<b>MeOH</b>	Metanólico
<b>g</b>	Gramos
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>min</b>	Minutos
<b>mL</b>	Mililitros
<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>SW</b>	Swiss Webster





## 1. Introducción

El dolor como lo conocemos es una experiencia desagradable localizada o generalizada que ha sido parte de la vida cotidiana de todos, sin excepción. Muchas veces éste es un síntoma en diversas enfermedades. Sin embargo, a veces puede tornarse en una enfermedad por sí solo. El tratamiento que es elegido para su alivio no siempre es el adecuado, ya que cada persona y padecimiento que lo involucra pueden ser distintos. Por lo anterior, la necesidad de conocer y explorar diversas posibilidades de alternativa como las de origen natural, tal es el caso de *Salvia amarissima* y su metabolito amarisolida A, que puedan ser efectivas como los medicamentos convencionales pero que no conlleven a sus conocidos efectos adversos, son de interés e importancia para investigar su aplicación terapéutica y mejorar la calidad de vida de los que padecen dolor. La investigación científica que dé evidencia del uso eficaz y seguro de los productos naturales para la terapéutica del dolor requiere del uso de diversos modelos experimentales que reproduzcan a una escala similar las afecciones relacionadas al dolor. En este proyecto se utilizaron dos modelos, el reportado por Nagakura *et al.* (2009) y modificado por Hernandez-Leon *et al.* (2018) como un modelo de dolor generalizado y disfuncional en ratas y el modelo de formalina reportado por Dubuisson *et al.* (1977) y modificado por Hunskaar *et al.* (1985) para evaluar el tipo de dolor nociceptivo y aislar al menos un metabolito activo evaluado en este estudio en ratones utilizando extractos de diferente polaridad y el compuesto bioactivo purificado de un extracto de acetato de etilo.

## **2. Marco teórico**

### **2.1 Epidemiología: incidencia del dolor en México y en el mundo**

El dolor es un problema frecuente que afecta a nuestra sociedad. Su presencia daña la capacidad de relacionarnos con quienes nos rodean, las actividades diarias y la economía, ya que perjudica a cualquier persona sin importar sexo, edad, creencia o estado socioeconómico. Así mismo, su ocurrencia repercute en el núcleo familiar y social, ya que en éstos se presentan diversos sentimientos ante el sufrimiento en que se encuentra el paciente con dolor (Covarrubias *et al.*, 2006).

En nuestro país, las principales causas de morbilidad se encuentran referidas a la presencia de dolor. Éste puede ser un síntoma frecuentemente asociado a una enfermedad aguda o crónica. No obstante, en la actualidad es considerado un problema de salud porque se puede establecer como una enfermedad *per se*. En ocasiones el diagnóstico y tratamiento del dolor representan un reto para el clínico ya que no todos los fármacos analgésicos pueden ser la opción para todos los tipos de dolor ni para todos los pacientes que lo padecen (Covarrubias *et al.*, 2008).

### **2.2 Definición**

Según la Internacional Association for the Study of Pain (IASP, por sus siglas en inglés), fundada en 1974, establece como definición que: “el dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada

con una lesión hística real o potencial, o que se describe como ocasionada por dicha lesión” (Raja *et al.*, 2020). Esta definición enfatiza que el dolor es una experiencia compleja que incluye múltiples dimensiones y que al ser desagradable se presenta en conjunto con alteración de las emociones y comorbilidad como sufrimiento y desesperación, así como ansiedad y depresión (Merskey *et al.*, 1994).

## **2.3 Clasificación**

El dolor tiene diferentes formas de detectarse y clasificarse. La clasificación se puede hacer atendiendo a su duración, patogenia, localización, curso, intensidad, factores pronósticos de control del dolor y, finalmente, según la farmacología con la cual se puede atenuar (Puebla-Díaz, 2005). En el caso de su patogenia se puede dividir en nociceptivo, inflamatorio, neuropático o disfuncional.

### **2.3.1 Dolor nociceptivo**

El dolor nociceptivo es el más frecuente y es causado por la activación de los nociceptores A- $\delta$  y C en respuesta a un estímulo nocivo sobre los tejidos corporales, que puede ser secundario a una lesión, enfermedad, inflamación, infección o cirugía.

En el dolor nociceptivo el funcionamiento del sistema nervioso es correcto. Es una respuesta fisiológica a una agresión. Una característica importante de este tipo de dolor es que existe una importante correlación entre la percepción del dolor

y la intensidad del estímulo desencadenante. Para que se perciba la sensación dolorosa es necesaria la existencia de receptores (nociceptores) y de las vías que permitan la transmisión hasta el sistema nervioso central (SNC). Los nociceptores pueden dividirse en dos grupos: los que responden a estímulos térmicos y mecánicos, que transmiten la señal a través de fibras mielínicas A $\delta$ ; y los receptores polimodales, que responden a la presión, temperatura, estímulos químicos u otro tipo de estímulos y transmiten la señal a través de fibras amielínicas C. Hasta el momento se desconoce el mecanismo por el que los estímulos inducen la despolarización de las terminaciones sensitivas desnudas, pero se piensa que el receptor de la capsaicina puede estar implicado en este proceso. A su vez el dolor nociceptivo se subdivide en dolor somático y visceral (Armero *et al.*, 2004).

### **2.3.2 Dolor inflamatorio**

El dolor puede estar asociado a la inflamación. Ésta es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son: en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. En segundo lugar, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y, por tanto, preponderantemente inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. En tercer lugar, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones

vasculares van a permitir, además, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes (Armero *et al.*, 2004).

### **2.3.3 Dolor disfuncional**

El dolor neuropático es uno de los más estudiados y es causado por una lesión primaria o por una disfunción en el SNC o periférico, con destrucción y/o afectación nerviosa. Este tipo de dolor generalmente se describe como descargas paroxísticas con sensación de ardor o quemazón, o bien como pinchazos o entumecimiento y hormigueo.

Este tipo de dolor es una respuesta anormal e implica cambios en la fisiología de la respuesta. Se han descrito varios tipos de dolor neuropático, sin que haya una clasificación que satisfaga totalmente. La más utilizada es la que se basa en la localización del generador del dolor, y se han descrito dos tipos: 1) dolor de origen central (ej. accidente cardiovascular, esclerosis múltiple) y 2) dolor de origen periférico (ej. neuropatía diabética, neuropatía inducida por agentes quimioterapéuticos). El dolor neuropático de origen periférico, con el tiempo puede desarrollar un componente central, lo cual se conoce como “centralización o sensibilización central” y envuelve cambios plásticos en el asta posterior de la médula espinal. La distinción entre los dos es muy importante por las implicaciones terapéuticas. Ciertamente, el dolor de origen central es resistente a tratamiento, mientras que el periférico tiene una mejor respuesta y pronóstico (Cruciani & Nieto, 2006).

El dolor neuropático se genera como resultado de cambios que ocurren en la transmisión normal del impulso doloroso. Estas alteraciones han sido detectadas en las terminaciones nerviosas periféricas, en el ganglio de la raíz dorsal, en el asta posterior de la espina dorsal y en la corteza somatosensorial. Además de existir cambios en las neuronas afectadas, hay modificaciones en las propiedades eléctricas de las neuronas normales remanentes. El aumento en la expresión de factores de crecimiento neural, citoquinas y sus receptores, producen actividad espontánea de estas neuronas convirtiéndolas en posibles blancos de novedosas herramientas farmacológicas (Cruciani & Nieto, 2006).

Otro caso de dolor disfuncional es la fibromialgia, afección dolorosa menos conocida y estudiada terapéuticamente. Se trata de una enfermedad crónica idiopática que ocasiona dolor musculoesquelético generalizado, enfatizando dos conceptos la hiperalgesia y la alodinia (López-Espino *et al.*, 2021).

#### **2.3.4 Hiperalgesia**

La hiperalgesia es una respuesta exacerbada en la percepción del dolor previamente establecido, algunas veces sin lesión aparente. Los estímulos que generalmente son dolorosos se sentirán con mayor intensidad en alguien con esta afección. Hay dos tipos de hiperalgesia: primaria y secundaria. La hiperalgesia primaria ocurre en y alrededor del sitio de alguna lesión. La hiperalgesia secundaria ocurre cuando el dolor se siente como si se estuviera extendiendo a un lugar del cuerpo no lesionado (López-Espino *et al.*, 2021) (Figura 1).

### 2.3.5 Alodinia

La alodinia es, por otra parte, la sensación dolorosa desencadenada por estímulos inocuos, que se sabe normalmente no debería causar dolor. Por ejemplo: la percepción desagradable de una fricción suave, como el roce de una sábana (alodinia mecánica) o a la aplicación de temperatura, calor o frío (alodinia térmica) (López-Espino *et al.*, 2021) (Figura 1).

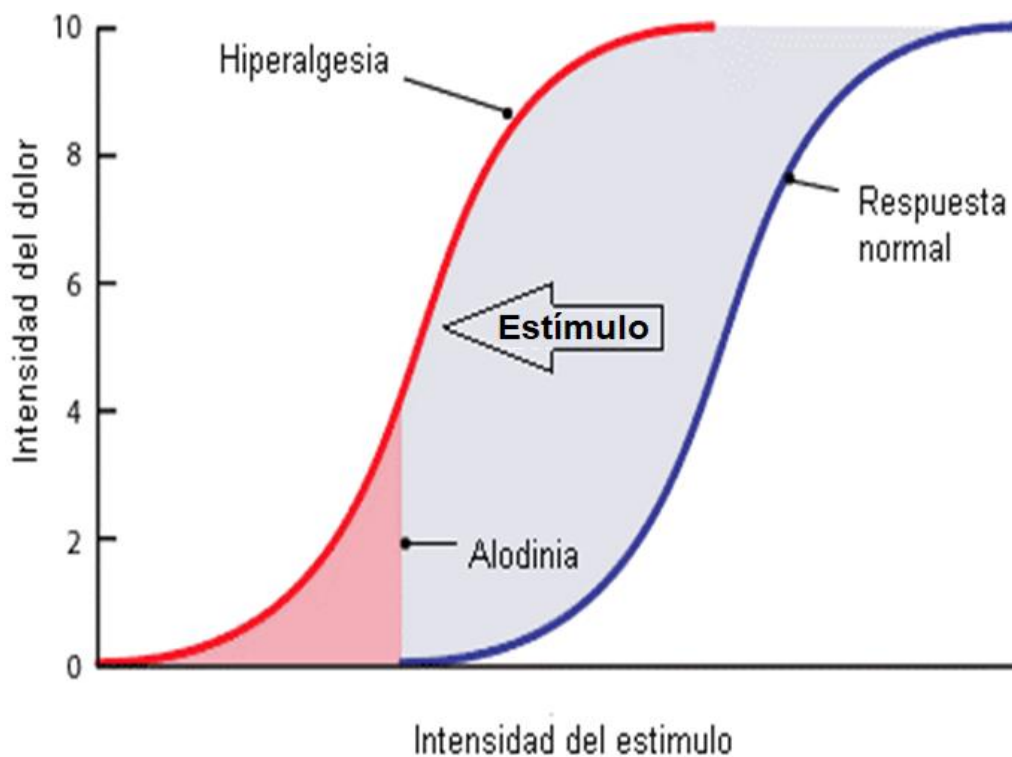


Figura 1. Intensidad del estímulo doloroso asociado a la respuesta de hiperalgesia y alodinia. Tomado de Martín G. 2014.

### 2.3.6 Fibromialgia



El término fibromialgia significa "dolor en los músculos, ligamentos y tendones" (partes fibrosas del cuerpo). Hace años este proceso se reconocía con el nombre de "fibrositis". Sin embargo, no se ha demostrado que haya inflamación periférica, por lo que se ha adoptado el nombre actual. Síndrome doloroso crónico sin una etiología orgánica totalmente conocida que se caracteriza por un dolor musculoesquelético generalizado, aumento de la sensibilidad al dolor, rigidez, fatiga, entendida como cansancio continuo y sueño no reparador (alteraciones en la fase IV), de manera que tienen la sensación de no haber descansado durante la noche al ser un sueño superficial de mala calidad con despertares frecuentes durante la noche (Walfe & Bruusgaard, 1994; Peña-Arrebola, 1995). Los pacientes con fibromialgia presentan comorbilidad frecuente con otras patologías, tales como el síndrome de colon irritable, cefaleas tensionales de predominio posterior, fenómeno de Raynaud, parestesias en los miembros superiores, sensación de hinchazón o tumefacción en las manos según va evolucionando. Con frecuencia aparece una depresión ansiosa, así como anomalías psicológicas de personalidad en mujeres perfeccionistas, muy exigentes consigo mismas y con los demás, que intentan ser muy eficaces con sus quehaceres diarios, rasgos depresivos, e hipocondríacos, disfunciones sexuales y dificultades funcionales diversas como la patología de la articulación temporomandibular (Mera-Varela, 1991).

La patogénesis de la fibromialgia no está del todo clara, por eso es útil considerarla como una alteración en la modulación central del dolor que es explicable por la deficiente concentración de varias aminas biógenas a nivel del SNC. Diferentes estudios sugieren que los pacientes con fibromialgia tienen un

estado generalizado de amplificación del dolor con predominio de factores centrales involucrados en el mismo. Actualmente, el reumatólogo y el psiquiatra son especialistas que diagnostican este padecimiento basado en los diferentes puntos del diagnóstico mencionados (López-Espino *et al.*, 2021).

## **2.4 Nocicepción**

El sistema encargado de detectar y procesar las sensaciones dolorosas es el sistema nociceptivo. La percepción del dolor y los mecanismos de defensa que desencadena deben entenderse en el contexto del sistema general de defensa de la persona frente a las agresiones externas. Una respuesta adecuada del sistema nervioso a un estímulo potencialmente dañino permite al individuo evitar daños graves, lo que es beneficioso para la supervivencia. Por ejemplo, el reflejo de retirada que se produce cuando levantamos un objeto caliente, nos permite impedir la progresión de la quemadura; o bien, la serie de reacciones que experimenta una persona en respuesta al dolor abdominal la impulsará a buscar atención médica. Cuando la nocicepción realiza estas funciones, sirve como una útil señal de advertencia y debe ser comprendida como una enfermedad que debe ser atendida en base a la persona y la patología (Martínez-Aedo, 2020).

## **2.5 Mecanismos y mediadores que participan en la inhibición del dolor**

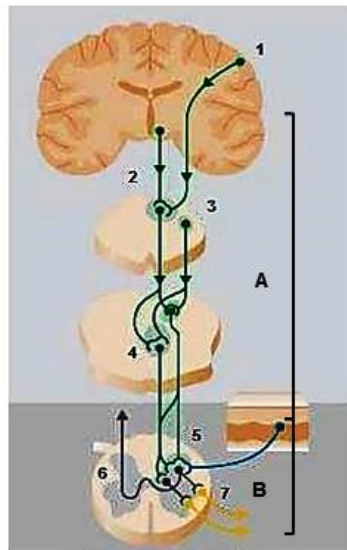
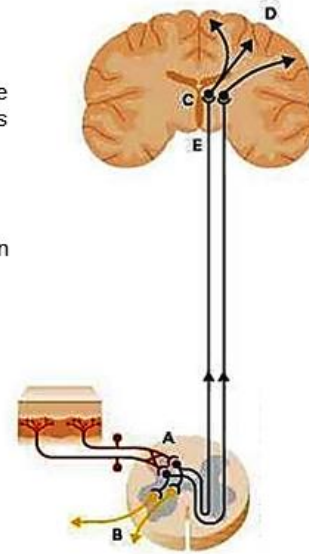
Como todo sistema sensible y de alerta, la nocicepción debe tener una fase eferente y otra aferente. En la parte aferente (niveles espinales y supraespinales), la cual está integrada por ciertos mecanismos necesarios para que la percepción del dolor sea captada a cualquier nivel de la periferia (piel, vísceras, etc.) y transmitida hasta los lugares centrales donde ésta es procesada e integrada de forma consistente.

La fase eferente permite la liberación de respuestas que activan los mecanismos de adaptación requeridos. Por último, pero no menos importante, debemos señalar la existencia de un mecanismo que regula la nocicepción. Este mecanismo permite un control inhibitorio para evitar que ésta continúe de forma patológica o bien amplificarla cuando sea necesario por razones de supervivencia. Esta acción es desarrollada por los mecanismos descendentes de origen supraespinal. (Sneddon & Lynne, 2018) (Figura 2).

## Vía ascendente del dolor

### Tracto espinotalámico

- A. Transmisión de fibras nerviosas A- $\delta$  y C a neuronas de segundo orden en el asta dorsal (fibras aferentes periféricas)
- B. Excitación de neurona motora (refleja)
- C. Relevo talámico
- D. Percepción cortical dolorosa (cognitiva y emocional)
- E. Formación reticular, excitación hipotalámica (reacción motora/endocrina)



## Vía descendente del dolor

### A. Cerebro

- 1. Impulsos corticales/subcorticales
- 2. Impulsos a la materia periacueductual
- 3. *Locus coeruleus* (sistema inhibitorio noradrenérgico)
- 4. Núcleo del rafé (sistema inhibitorio serotoninérgico)

### B. Medula espinal

- 5. Sinapsis inhibitoria en el asta dorsal
- 6. Tracto espinotalámico
- 7. Neurona motora refleja

Figura 2. Vías ascendentes y descendentes del dolor

Los llamados opioides juegan un papel específico en cómo las endorfinas activan el sistema nervioso descendente. Este sistema se activa en la sustancia gris periacueductal del mesencéfalo. Estas neuronas se desarrollan en la médula reticular y al *locus coeruleus*, respectivamente, donde también se producen las monoaminas serotonina y norepinefrina.

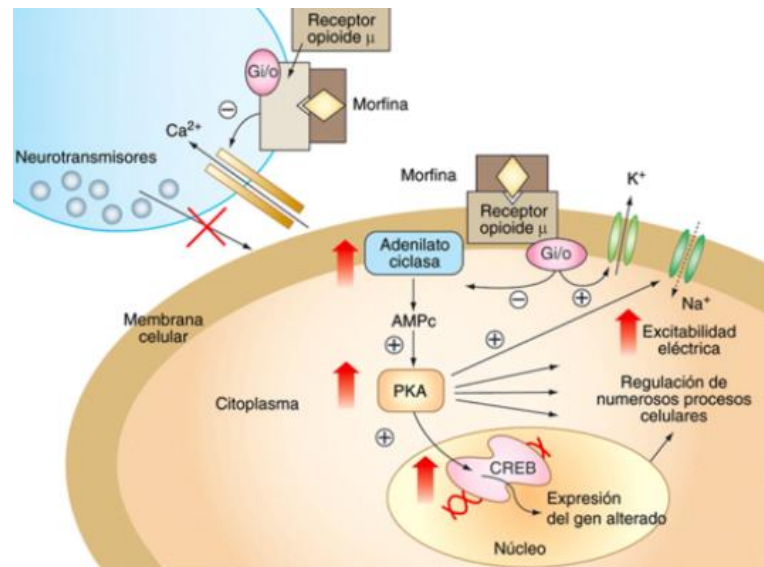
Las fibras descendentes se proyectan hasta el funiculus dorsolateral del asta-dorsal de la medula espinal para la sinapsis con la neurona aferente primaria (Zegarra, 2007) (Figura 2).

Las neuronas moduladoras descendentes del dolor tienen funciones tales como: activar interneuronas que liberan opioides en el asta dorsal espinal y liberar neurotransmisores en la medula espinal: serotonina, noradrenalina. La liberación de serotonina y norepinefrina origina a su vez la inhibición de la liberación de neurotransmisores del dolor en las señales aferentes nociceptivas. Inhibición del segundo orden celular en la transmisión del dolor. La administración de opioides da lugar a la activación de los receptores opioides en el mesencéfalo, activación de los receptores opioides en las células de segundo orden transmisoras de dolor previniendo la transmisión ascendente de la señal del dolor. Así como activación de los receptores opioides en los terminales centrales de las fibras C en la médula espinal previniendo la liberación de neurotransmisores del dolor. Además de la activación de los receptores opioides en la periferia para inhibir la activación de los nociceptores e inhibir las células que liberan mediadores inflamatorios (Zegarra, 2007).

### **2.5.1 Receptores a opioides endógenos.**

Éstos pertenecen a la familia de receptores metabotrópicos acoplados a la proteína G inhibitoras ( $G_i$ , constituida por las subunidades alfa, beta y gamma) y a la producción de segundos mensajeros. Los opioides activan la proteína  $G_i$ , la activación de la subunidad  $G_i$  inhibe la enzima adenilato ciclasa, con lo que

disminuyen los niveles intracelulares del segundo mensajero AMPc, que indirectamente inhiben los canales voltaje dependientes de  $Ca^{2+}$ , bloqueando así la liberación de neurotransmisores excitadores del dolor tales como glutamato y SP, lo cual resulta en la respuesta de analgesia. A su vez la activación de los receptores opioides abre los canales de  $K^+$  a través de la subunidad alfa de la proteína Gi, lo que aumenta su gradiente de concentración, obteniendo una carga negativa intracelular. Este mecanismo ocasiona la hiperpolarización que disminuye la excitabilidad neuronal provocando la atenuación de la transmisión sináptica y por lo tanto generando la respuesta de inhibición al dolor (Van Ree *et al.*, 2000) (Figura 3).



**Figura 3. Mecanismo de acción de la morfina como prototipo de analgésico tipo opioide.**

### **2.5.2 Monoaminas (serotonina y noradrenalina).**

Es bien sabido que el dolor es un sentimiento complejo con dimensiones sensoriales, cognitivas y emocionales. Numerosas regiones específicas distribuidas a lo largo del eje cerebroespinal modulan una percepción descendente del dolor de acuerdo con el estado emocional del individuo y las características del estímulo doloroso, tanto en condiciones sanas como patológicas. Esta modulación está mediada principalmente por las vías descendentes monoaminérgicas que previenen o promueven la transmisión de información nociva a nivel del asta dorsal (Pliego, 2010).

Las monoaminas activan diferentes receptores y vías. Muchas áreas del SNC son activadas por estímulos nociceptivos y participan en la modulación central del dolor. Estas áreas producen efectos antinociceptivos o pronociceptivos a través de las vías descendentes que utilizan monoaminas. Clásicamente, la vía serotoninérgica ha sido considerada el sistema primario de modulación endógena del dolor. La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), actúa a través de distintos subtipos de receptores. La activación de los receptores 5-HT<sub>1</sub> produce un efecto antinociceptivo, el receptor subtipo 5-HT<sub>1A</sub> postsináptico inhibe la excitabilidad de las neuronas espinotalámicas y las interneuronas excitatorias, mientras que los receptores 5-HT<sub>1-B/D</sub> presinápticos inhiben la liberación de neurotransmisores desde los aferentes primarios. Los cuerpos celulares de las neuronas en proliferación y las interneuronas están inervados por terminales noradrenérgicas. Diversos grupos de células en el tegmento pontino dorsolateral (TPDL), incluyendo el *locus coeruleus*, originan la inervación noradrenérgica de la asta dorsal. La noradrenalina inhibe la transmisión nociceptiva en la asta dorsal a través de los

receptores alfa-2 presinápticos, particularmente los receptores alfa<sub>2A</sub>, en los terminales nociceptivos primarios. Se ha postulado que estos receptores noradrenérgicos también pueden mediar la inhibición postsináptica de las neuronas espinotalámicas (Pliego, 2010).

Se ha demostrado que tanto la 5-HT como la noradrenalina desempeñan un papel en la modulación de los mecanismos analgésicos endógenos a través de las vías neurales inhibitoras y medulares descendentes. Según la lógica, un desequilibrio en estos mecanismos inhibitorios puede ayudar a aumentar la "sensibilización central" y la "hiperexcitabilidad" de los nervios que transmiten el dolor a la columna y el cuello, dando lugar a un dolor disfuncional persistente, crónico y generalizado (Pliego, 2010).

## **2.6 Fármacos utilizados en el tratamiento del dolor y sus efectos adversos**

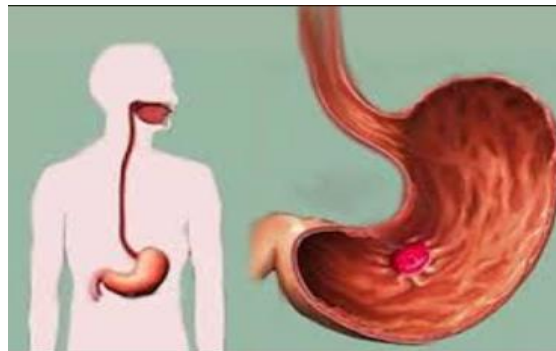
Los principales medicamentos utilizados para tratar el dolor son los analgésicos opioides y no opioides (antiinflamatorios). Los antidepresivos, anticonvulsivos y otros medicamentos activos en SNC se pueden usar como primera terapia para las afecciones de dolor crónico y disfuncional, como el dolor neuropático y la fibromialgia.

Otros tratamientos incluyen la infusión central, la estimulación del sistema nervioso, los tratamientos con inyecciones y el bloqueo del sistema nervioso pueden ser útiles para algunos pacientes. El uso de técnicas sistemáticas de relajación, hipnosis o biorretroalimentación y ejercicio gradual son algunos



ejemplos de intervenciones cognitivo-conductuales que pueden reducir el dolor y la discapacidad resultante y ayudar a los pacientes a cambiar la forma en que reaccionan al dolor y la discapacidad asociada frente al dolor (Watson, 2020).

El paracetamol y los antiinflamatorios no esteroides conocidos como AINEs son efectivos para el dolor leve a moderado. El ketorolaco, el diclofenaco y el paracetamol pueden administrarse por vía intravenosa. Los analgésicos no opioides no provocan dependencia física ni tolerancia. El paracetamol tiene un mejor efecto antipirético porque no tiene efectos antiinflamatorios ni antiplaquetarios y no provoca irritación estomacal. El AINE menos costoso es la aspirina. Sin embargo, éste produce efectos antiplaquetarios de larga duración y aumenta el riesgo de sangrado gastrointestinal por la producción de úlceras gastrointestinales (Watson, 2020) (Figura 4).



**Figura 4. Estructura química del ácido acetilsalicílico como prototipo de los analgésicos antiinflamatorios no esteroides asociados con su efecto adverso más común, el daño gástrico.**

Los AINEs incluyen a los inhibidores no selectivos de la enzima que sintetiza a las prostaglandinas (PGs), tales como la COX (ciclooxigenasa, COX-1 y COX-2) y los inhibidores selectivos de la COX-2 (coxibs), todos son considerados

analgésicos eficaces. Los coxibs tienen un riesgo menor de formación de úlceras y molestias digestivas. Sin embargo, cuando se utiliza un coxib con aspirina en baja dosis, puede no tener ningún beneficio gastrointestinal sobre los otros AINEs (Watson, 2020).

Estudios sugieren que la inhibición de la COX-2, que ocurre tanto con inhibidores no selectivos de la COX como con coxibs, tiene un efecto protrombótico y puede aumentar el riesgo de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y claudicación como efectos adversos. Este efecto parece estar relacionado con el fármaco, así como con la dosis y la duración. Aunque existen reportes que indican que el riesgo es muy bajo con algunos de los inhibidores no selectivos de la COX (p. ej., ibuprofeno, naproxeno) y coxibs (celecoxib). Debido a que los datos son limitados deben usarse con precaución en ciertos pacientes como por ejemplo en aterosclerosis clínicamente importante o múltiples factores de riesgo cardiovascular (Watson, 2020).

Si un medicamento del grupo de los AINEs se va a usar por poco tiempo se reduce el riesgo de los efectos adversos significativos, independientemente del fármaco empleado. Algunos médicos utilizan un coxib primero, siempre que sea probable que el tratamiento sea prolongado (p. ej., meses), porque el riesgo de efectos adversos gastrointestinales es menor. Otros limitan el uso de coxibs a pacientes predispuestos a efectos adversos gastrointestinales (p. ej., los ancianos, los pacientes que reciben corticoides, aquellos con antecedentes de enfermedad ulcerosa péptica o molestias gastrointestinales debido a otros medicamentos antiinflamatorios no esteroideos) y aquellos que no están funcionando bien con

medicamentos AINEs no selectivos o que tienen antecedentes de intolerancia a ellos (Watson, 2020).

## **2.7 Modelos experimentales de dolor**

Los modelos animales son bioensayos que deben mimetizar los síntomas y fisiopatología de la enfermedad en cuestión, además es importante que sean predictivos en cuanto a tratamientos efectivos.

En este proyecto se realizó el cernimiento del efecto antinociceptivo de extractos de *S. amarissima* y uno de sus metabolitos abundantes utilizando un modelo de dolor nociceptivo como la prueba de la formalina que incluye las fases neurogénica (central) e inflamatoria (periférico-central) y uno de dolor disfuncional de tipo fibromialgia.

### **2.7.1 Formalina**

La prueba de formalina se usa comúnmente para caracterizar las fases tanto nociceptivas e inflamatorias y es de primera elección en la búsqueda de nuevos fármacos analgésicos. El modelo consiste en la administración subcutánea de 20  $\mu$ L de formalina al 1% (agente químico nociceptivo por su acción irritante) en la parte plantar de la extremidad posterior derecha del ratón. La inyección de formalina produce una conducta típica de sacudida y/o lamida (Tjolsen *et al.*, 1992) y se caracteriza por el retiro breve y rápido o la flexión de la extremidad inyectada (Figura 5). Esta conducta se evalúa durante 1 minuto cada 5 minutos durante 30, 60 o hasta 120 minutos.



**Figura 5. Conducta de sacudida y lamida inducida con formalina al 1% en el ratón**

La respuesta neurogénica tiene una duración de 5-10 minutos, estudios sugieren que esta fase depende de la activación de los nociceptores cutáneos (en especial las fibras A $\delta$  y en menor grado a las fibras C (Piug & Sorkin, 1995), estos nociceptores que son terminaciones nerviosas que funcionan como transductores biológicos debido a que sus cuerpos celulares de origen se encuentran en el ganglio de la raíz dorsal o en los ganglios sensoriales de los pares craneales correspondientes, por lo tanto la información nociceptiva llega de manera directa al SNC para que se desencadenen mecanismos de respuesta tanto fisiológicos como conductuales y por la liberación de bradicininas, 5-HT, histamina y ATP. La fase inflamatoria comprende del minuto 5 y 10, alcanzando un punto máximo entre los 20-25 min y después disminuye hacia el min 60. En esta prueba se activan mecanismos aferentes producidos por la liberación de mediadores inflamatorios, produciendo una “sopa inflamatoria” en la cual se encuentran las PGs, iones de K<sup>+</sup>, 5-HT que es liberada por las plaquetas, bradicininas que son liberadas al plasma sanguíneo e histamina que proviene de mastocitos, así como la sustancia

P generada por los propios nociceptores en respuesta al daño tisular ocasionado por la formalina (Tjolsen *et al.*, 1992; Sawynok & Liu, 2003).

La ventaja de este modelo es que la respuesta de sacudida o tiempo invertido en lamer puede ser contabilizada como medida de nocicepción. Además, la posición en la que la rata coloca la extremidad se puede asociar con la intensidad de dolor o nocicepción evaluada en el caso del modelo animal (Tjolsen *et al.*, 1992). El uso de analgésicos en esta prueba promueve la disminución de las conductas de sacudida y lamida.

### **2.7.2 Mialgia inducida con reserpina**

El modelo experimental que se utiliza en este estudio es el descrito por Nagakura *et al.* (2009), el cual fue modificado por Hernandez-Leon *et al.* (2018). Éste consiste en la administración de reserpina, sustancia que depleta la presencia de monoaminas como mecanismo para inducir dolor tipo disfuncional. La reserpina se disuelve en ácido acético al 0.5% diluido con agua destilada (Milli-Q) y se administra en una dosis de 1 mg/kg, vía s.c., cada 24 horas durante tres días consecutivos.

### **2.8 Plantas medicinales para el alivio del dolor**

Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80% de la población en el mundo utiliza rutinariamente la medicina

tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud, y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos (Bermúdez *et al.* 2005).

Según la OMS (1979), una planta medicinal es cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o cuyos principios activos pueden utilizarse como precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Estas plantas también tienen usos significativos en la medicina contemporánea. Entre otras cosas, son una fuente directa de agentes terapéuticos que se utilizan como punto de partida para la creación de fármacos semisintéticos más complejos, y la estructura química de sus principios activos puede utilizarse como plantilla para la creación de fármacos sintéticos. También pueden utilizarse como marcadores taxonómicos en la búsqueda de nuevos fármacos (Bermúdez *et al.*, 2005).

La investigación sobre el uso de plantas medicinales forma parte de la etnobotánica, la cual se define como el estudio de las interrelaciones entre los grupos humanos y las plantas. Es un hecho que una alternativa para el alivio de diferentes tipos de dolor es el uso de las plantas medicinales, que si bien se les supone menos efectos no deseados también se puede reconocer una eficacia moderada, la cual justamente dependerá del tipo, temporalidad, intensidad, localización y fisiopatología del dolor. Cabe hacer mención que de las plantas fueron extraídos los dos prototipos más reconocidos de analgésicos, tanto AINEs como opiáceos, el ácido acetilsalicílico y la morfina, respectivamente. Fármacos que sin duda han aliviado el dolor de una gran parte de la humanidad (Moreno-Pérez *et al.*, 2021).

Entre las plantas más utilizadas en la población rural y urbana están aquellas con propiedades analgésicas, ya sea para el alivio del dolor visceral o abdominal, muscular o artrítico, e incluso para el dolor conocido como disfuncional o patológico, tales como el neuropático y la fibromialgia. Las plantas medicinales están constituidas por sustancias químicas llamadas metabolitos secundarios que poseen propiedades para el mantenimiento de la salud y de éstos provienen el ácido acetilsalicílico, la morfina e incluso el más recientemente patentado como el producto farmacéutico QG5 utilizado contra la inflamación del colón por su contenido en el flavonoide quercetina. Éste fue aislado de las hojas del árbol de guayaba utilizado por la población para trastornos gastrointestinales (Meli, 1990).

### **2.8.1 *Salvia amarissima* Cav.**

*Salvia amarissima* (Figura 4) es una planta de la que los estudios etnobotánicos describen como medicinal y de usos para calmar los nervios y el dolor (Guzmán, 2014; Castro Juárez, *et al*, 2014).

- *Salvia amarissima* Ortega



**Figura 4. Especimen de herbario de *Salvia amarissima* Ortega caracterizada botánicamente, cuyos datos son resguardados para su posterior colecta e identificación.**

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Salvia amarissima* Ortega, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México.

Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:1201430>

Fecha de actualización: 19/04/2016, 7:27:41 a.m.

Fecha de consulta: 19/06/2021, 2:59:07 p.m.

El termino Salvia proviene del latín “salvare”, que significa curar, esto en referencia a sus propiedades curativas de varias especies.



### 2.8.2 Propiedades farmacológicas

Diversos estudios reportan que las hojas de *Salvia amarissima* Ortega contienen alcaloides, cumarinas, flavonoides, saponinas, sesquiterpenlactonas y taninos (compuestos polifenólicos derivados del ácido gálico), los cuales pueden ser responsables de sus propiedades farmacológicas, por ejemplo: en el efecto hipoglucemiante (Gutiérrez-Nava *et al.*, 2019).

A *Salvia amarissima* se le atribuyen además actividades cicatrizantes, propiedades digestivas, desinfectantes y estrogénicas (Clementina *et al.*, 2010). Esta planta ha sido utilizada tradicionalmente para el tratamiento de la *diabetes* tipo 2, donde las investigaciones describen que uno de sus mecanismos de acción para la actividad hipoglucemiante es inhibir a la enzima alfa-glucosidasa (Gutiérrez-Nava *et al.*, 2019; solares-Pascasio *et al.*, 2021). Los extractos/fracciones y compuestos aislados de *Salvia amarissima* comprenden diterpenos con un esqueleto carbonado novedoso no convencional. Los compuestos obtenidos de la clase de diterpenos se describen útiles como modulares de la multiresistencia a fármacos en carcinoma de mama (Ortega *et al.*, 2016). Recientemente, las propiedades de diferentes extractos de esta especie se reportaron en modelos experimentales de dolor visceral (Moreno-Pérez *et al.*, 2016) y nociceptivo (Moreno-Pérez *et al.*, 2020) sugiriendo la participación de diferentes compuestos de distinta polaridad. Estos antecedentes indican que *S. amarissima* posee compuestos bioactivos para el alivio del dolor funcional. Sin embargo, no se sabe si estas propiedades podrían escalarse para su utilidad en el alivio del dolor disfuncional o nociplástico como la fibromialgia.

### 3. Planteamiento del problema

El alivio del dolor es un derecho universal de los seres humanos estipulado en la Carta de Derechos Humanos de las Naciones Unidas desde el año 2000.

En México se tiene una gran diversidad de productos naturales que son utilizados por la población. Sin embargo, de la gran mayoría de éstos, ya utilizados en la terapéutica como medicina tradicional, no se conoce si se aplican adecuadamente por su eficacia o cuál es el mecanismo por el cual actúan y si son seguros en su uso. Esto puede representar un riesgo para quien los utiliza. Es por ello por lo que son necesarias las bases científicas que den validez a la eficacia de las plantas medicinales y sus productos naturales que puedan ser de utilidad para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo los datos de sus posibles efectos adversos y mecanismos de acción.

*S. amarissima* es utilizada por pobladores de Santiago Huacilla, Oaxaca para el alivio del dolor, incluso actualmente se le atribuyen propiedades para tratar el cáncer, entre otros padecimientos, sugiriendo además su papel en procesos inflamatorios. En el presente proyecto de tesis se evaluaron los efectos de un extracto de mediana polaridad obtenido de las partes aéreas de *Salvia amarissima* que demostró contener alta concentración de un diterpeno neoclerodano como posible metabolito activo responsable de su efecto como antinociceptivo.

## **4. Hipótesis**

*Salvia amarissima* posee propiedades antinociceptivas para el alivio del dolor nociceptivo, inflamatorio y disfuncional.

## **5. Objetivos**

### **5.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto antinociceptivo de *Salvia amarissima* en modelos experimentales de dolor nociceptivo, inflamatorio y disfuncional.

### **5.2 Objetivos particulares**

- Preparar extractos de diferente polaridad tanto orgánicos como acuoso.
- Evaluar inicialmente el efecto antinociceptivo y antiinflamatorio de extractos de diferente polaridad de *S. amarissima* en diferentes modelos de dolor nociceptivo e inflamatorio
- Aislar, purificar y evaluar al metabolito más abundante como posible metabolito activo con actividad antinociceptiva y/o antiinflamatoria.
- Evaluar el efecto antinociceptivo del extracto con mayor concentración del metabolito y el metabolito en el dolor disfuncional tipo fibromialgia

## **6. Protocolo experimental**

### **6.1 Material vegetal**

*Salvia amarissima* fue colectada en el mes de agosto de 2018 en el poblado de Santiago Huaucilla, Oaxaca. El material vegetal se secó a temperatura ambiente, se molió finamente y se procesó por maceración en solventes acuoso y orgánicos para obtener los extractos crudos.

### **6.2 Preparación de extractos**

A la cantidad de 50 g de material vegetal finamente molido se le maceró con 150 ml de los disolventes hexano, acetato de etilo y metanol (MeOH) de manera consecutiva cada uno por un periodo de 72 horas se filtró y el residuo se maceró con el siguiente disolvente (Figura 6). Cada proceso se repitió 3 veces para cada extracto. El disolvente fue evaporado en un rota-evaporador marca Büchi modelo R210 hasta sequedad para determinar los rendimientos de cada extracto.

El extracto acuoso se elaboró con 50 g de material vegetal mediante decocción en 200 ml de agua destilada por 10 min. Posteriormente, la decocción se filtró para separar la materia vegetal. La fracción acuosa fue congelada y liofilizada para determinar su rendimiento.



**Figura 6. Matraces con material vegetal utilizado en el proceso de maceración a temperatura ambiente en presencia de disolventes de diferente polaridad.**

### **6.3 Análisis cromatográfico**

Muestras de 5 mg de cada uno de los extractos se tomaron y se disolvieron en metanol grado HPLC (cromatografía líquida de alta resolución, por sus siglas en inglés) para su inyección en un cromatógrafo líquido de ultra resolución (UPLC, siglas en inglés) marca Waters ACQUITY UPLC (Figura 7). Las condiciones de análisis fueron: volumen de inyección: 10  $\mu$ l, Columna: Symmetry C-18, método establecido para terpenos de Salvia (Gradiente  $\text{H}_3\text{PO}_4$  0.1%/ACN) a  $\lambda=254$  nm. El análisis de compuestos fenólicos se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Agilent Technologies 1220 Infinity LC. La fase móvil fue en gradiente con A: agua al 5% de ácido fórmico y B: MeOH, flujo de 0.9 ml/min. Una precolumna Security Guard Cartridges PFD 4 x 3.0 mm y una columna Luna C18(2)100 Å con diámetro de 5  $\mu$ m; dimensión: 250 x 4.6 mm de la marca Phenomenex fueron utilizadas. La presión fue = 150 bares con tiempo de corrida de 50 minutos.



**Figura 7. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución clase H, marca Waters con módulos de muestras, bomba, detector UV y masas.**

#### **6.4 Animales**

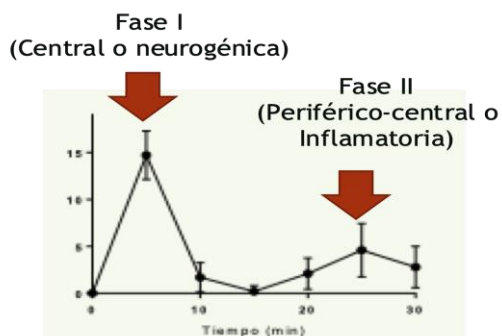
Ratones macho de la cepa SW Swiss Webster (25-30 g) y ratas macho Wistar (200-230 g) criados en el bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz y mantenidos a temperatura controlada de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  con ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y libre acceso al alimento y al agua se utilizaron divididos en grupos de al menos 6 individuos. El protocolo experimental sigue las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999), de los Lineamientos y Estándares Éticos para la Investigación del Dolor Experimental en Animales y del Comité de Bioética del instituto (Registro No. CONBIOETICA-09-CEI-010-20170316) perteneciente a los proyectos de investigación NC12.3280.0 y NC17073.0.

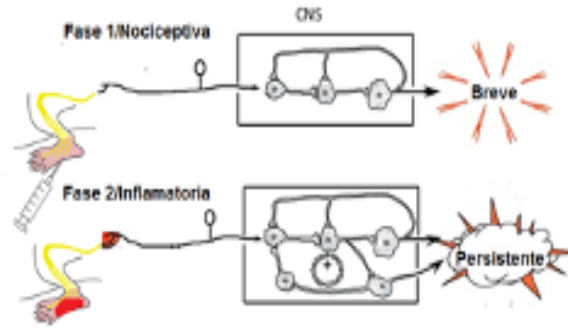
#### **6.5 Evaluación farmacológica**

Los extractos crudos de *S. amarissima* se evaluaron y compararon en una sola dosis (10 mg/kg, i.p.) para demostrar la mayor actividad del extracto de mediana polaridad, el cual fue seleccionado como el más activo en la actividad antinociceptiva de las fases neurogénica e inflamatoria en la prueba de formalina, para posteriormente evaluarlo en el modelo de fibromialgia en una dosis de 30 mg/kg mediante la observación de las respuestas de hiperalgesia muscular, alodinia táctil y térmica.

### 6.5.1 Prueba de la formalina

El método usado fue similar al descrito por Hunskaar *et al.* (1986). Los ratones fueron inyectados con 20  $\mu$ l de formalina al 1% de manera subcutánea en la superficie plantar del miembro posterior derecho. La conducta de sacudida y/o lamida que los ratones realizaron fue tomada como la respuesta nociceptiva. Esta constó de dos periodos, una fase temprana (central o neurogénica) que duró los primeros 10 min y una fase tardía (inflamatoria o central-periférica) de los 20 a los 30 min después de la administración de la formalina (Figura 8).





**Figura 8.** Representación gráfica de las fases temprana y tardía en la prueba de la formalina y su asociación con la respuesta nerviosa central y periférica

### 6.5.2 Modelo de fibromialgia

Este modelo se realizó de acuerdo con el método descrito por Hernandez-Leon *et al.* (2018). Para ello se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (200-250 g), las cuales recibieron un periodo de habituación de 30 min al día en los equipos de medición de hiperalgesia (Randall-Selitto Ugo-Basile) y alodinia (filamentos de Von Frey) durante 3 días previos al experimento. Para la inducción del modelo se administró reserpina 1 mg/kg, vía subcutánea (s.c.) por 3 días consecutivos. Estos animales fueron evaluados el día 7 posterior a la administración de reserpina para la identificación de signos compatibles con el desarrollo de conductas tipo alodinia e hiperalgesia.

Los umbrales de respuesta en el modelo de fibromialgia se evaluaron de la siguiente manera:



### **6.5.3 Umbral de presión muscular**

La extremidad posterior derecha se colocó en el equipo para aplicar fuerza mecánica (Nagakura *et al*, 2009) hasta provocar la respuesta de retirada de la extremidad. Entonces, el promedio de tres repeticiones con un intervalo entre estímulos de al menos 30 s se registró para cada sesión.

### **6.5.4 Umbral de respuesta táctil**

Se mide la respuesta de alodinia utilizando filamentos de von Frey (Stoelting Co., Wood Dale, IL). Cada rata se colocó en una jaula de prueba transparente con un piso de malla metálica para aplicarle filamentos de Von Frey (0,6, 1, 1,4, 2, 4, 6, 8, 10 y 15 g) a la superficie plantar de la extremidad posterior derecha. La retirada de la extremidad se consideró como una respuesta positiva, y la falta de retirada en un lapso mayor a 6 segundos se definió como una respuesta negativa. Se comenzó con 2,0 g de fuerza. Posteriormente, el umbral de retirada de la pata se convirtió en el umbral de respuesta táctil utilizando una adaptación del paradigma de Dixon arriba-abajo (Chaplan *et al.*, 1994).

### **6.5.5 Umbral de alodinia térmica (prueba de pulverización de acetona)**

Se evaluó utilizando estímulos fríos con acetona (Yoon *et al.*, 1994). Cada rata se colocó en un compartimento transparente sobre una rejilla metálica elevada. Con una jeringa de insulina se adicionaron 50 µl de acetona en la superficie dorsal del

miembro posterior derecho. Las conductas de lamida y/o sacudida se registraron durante 1 minuto después de la pulverización. Este ensayo se realizó tres veces con un intervalo de 5 min entre medidas, el promedio se consideró como el umbral de alodinia fría.

### **6.6 Análisis estadístico**

Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  error estándar de la media (E.E.M.) de cada tratamiento. Para las curvas dosis-respuesta se utilizó el análisis de la varianza (ANADEVA) de un factor seguida de la post-hoc de Dunnett.

## **7. Resultados**

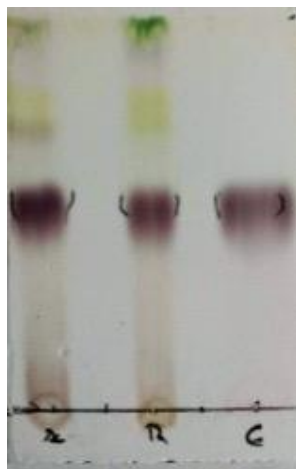
La extracción del material vegetal por maceración en solventes orgánicos a temperatura ambiente permitió obtener tres extractos orgánicos, además de un extracto acuoso mediante decocción, con los siguientes rendimientos: hexano 0.26 g, acetato de etilo 2.31 g, metanol 4.88 g y acuoso 5.12 g (Tabla 1).

**Tabla 1. Rendimiento de los extractos crudos orgánicos y acuoso**

<b>EXTRACTO</b>	<b>%</b>
<b>Hexano</b>	<b>0.52</b>
<b>Acetato de etilo</b>	<b>4.62</b>
<b>Metanol</b>	<b>9.76</b>
<b>Acuoso</b>	<b>10.25</b>

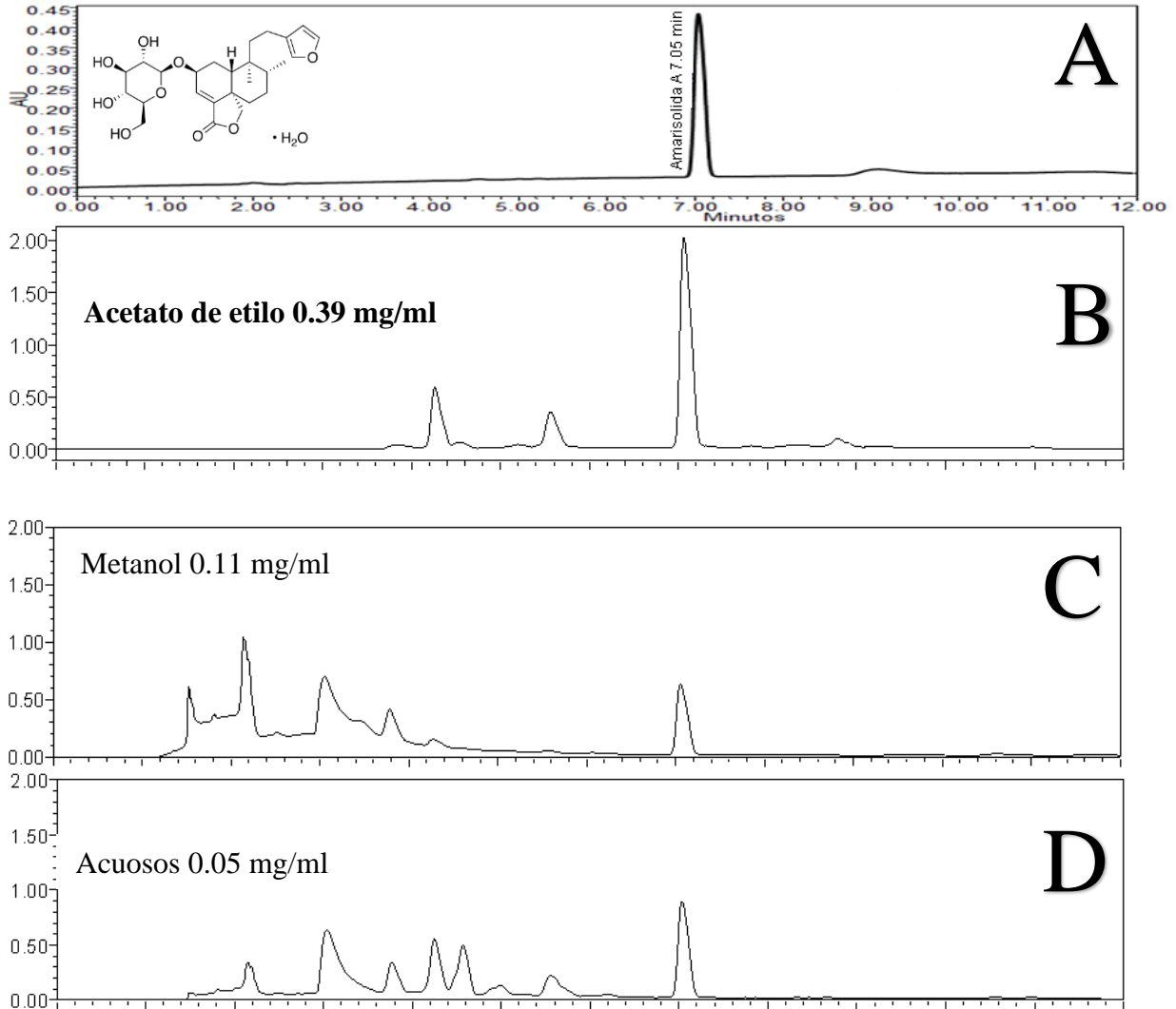
Las placas de sílice gel para la cromatografía en capa fina permitieron identificar en el perfil del extracto de acetato de etilo una mancha más intensa que coincidió con la referencia del compuesto puro amarisolida A, las cuales se eluyeron con disolventes de diferente polaridad hasta obtener la que mejor se ajustara a la muestra de prueba de mayor resolución (Figura 9)

En el revelado del análisis cromatográfico de capa fina se utilizó el revelador anisaldehído para identificar los componentes del extracto de naturaleza terpénica. Ello se indica en los tonos azul oscuro o violeta, los cuales fueron equivalentes a la mancha producida por la presencia del metabolito Amarisolida A (Fig. 9).



**Figura 9. Cromatoplaça del perfil de elució del extracto de acetato de etilo, pool de fracciones (183-220) y referencia de amarisolida A como compuesto puro, fase móvil Acetato de etilo:MeOH 95:5, revelador anisaldehído. A) Ac: Extracto de acetato de etilo, B) R: pool de fracciones de mediana polaridad, C) Compuesto puro**

Los extractos crudos se analizaron para cuantificar la concentración del metabolito abundante identificado como amarisolida A al compararse con el estándar mediante HPLC, donde se observó un pico en el tiempo de retención 7.05 min con el estándar de referencia (Figura 10A). De acuerdo con el perfil cromatográfico, la amarisolida A se observó en diferentes extractos, tales como el acetato de etilo que presentó la mayor concentración del metabolito con una concentración de 0.39 mg/mL (Figura 10B) en comparación con el MeOH con 0.11 mg/mL (Figura 10C) y el acuoso con 0.05 mg/mL (Figura 10D)

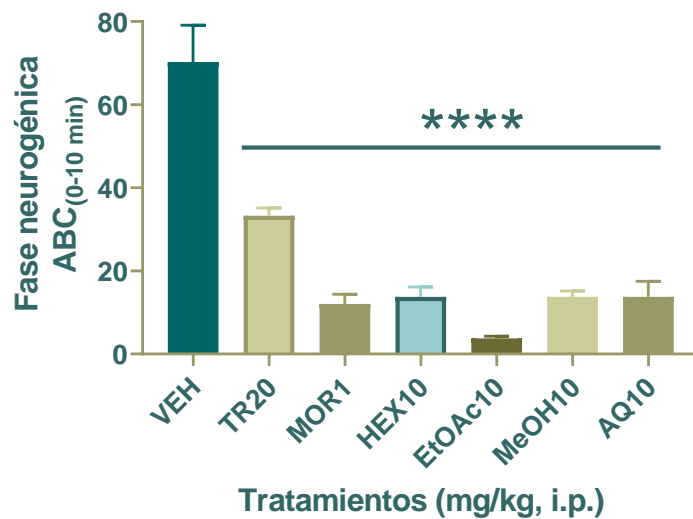


**Figura 10. Perfil cromatográfico de los extractos orgánicos (A-C) y acuoso (D) de *S. amarissima* Cav. mostrando la presencia de amarissolida A en comparación con el estándar de referencia, el cual muestra el pico de concentración en un tiempo de retención de 7.05 min. A) amarissolida estándar A) y extractos de acetato de etilo B), metanol C) y extracto acuoso D).**

### 7.1 Conducta de lamida en la prueba de formalina

En la Figura 11 se muestra la respuesta de la conducta nociceptiva inducida en la prueba de formalina para la fase neurogénica. El área bajo la curva (ABC) obtenida de 0-10 min para el grupo vehículo se comparó con la respuesta

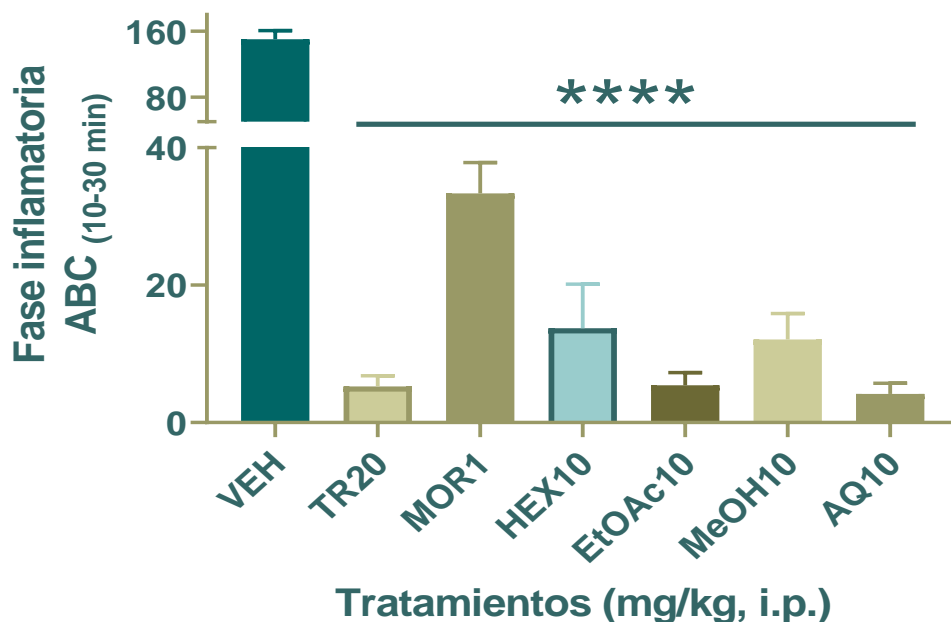
antinociceptiva en presencia del fármaco de referencia tramadol (TR, 10 mg/kg) y morfina (MOR, 1 mg/kg), donde ambos presentaron diferencia significativa siendo mayor para la MOR (Figura 11). Los diferentes extractos evaluados en la dosis de 10 mg/kg produjeron una disminución significativa similar a la MOR (Figura 11). Donde el extracto de mediana polaridad obtenido con acetato de etilo disminuyó en mayor proporción la conducta nociceptiva de la fase neurogénica en comparación con los otros tratamientos (Figura 11).



**Figura 11. Evaluación de la actividad antinociceptiva de los extractos crudos de *S. amarissima* en la fase neurogénica de la prueba de formalina en ratas. Los datos se representan como la media  $\pm$  E.E.M, n=6. \*\*\*\*p<0.0001, ANADEVa seguida de la prueba post-hoc de Dunnett. VEH: vehículo, TR: tramadol, MOR: morfina, HEX: hexano, EtOAc: acetato de etilo, MeOH: metanol, AQ: acuoso.**

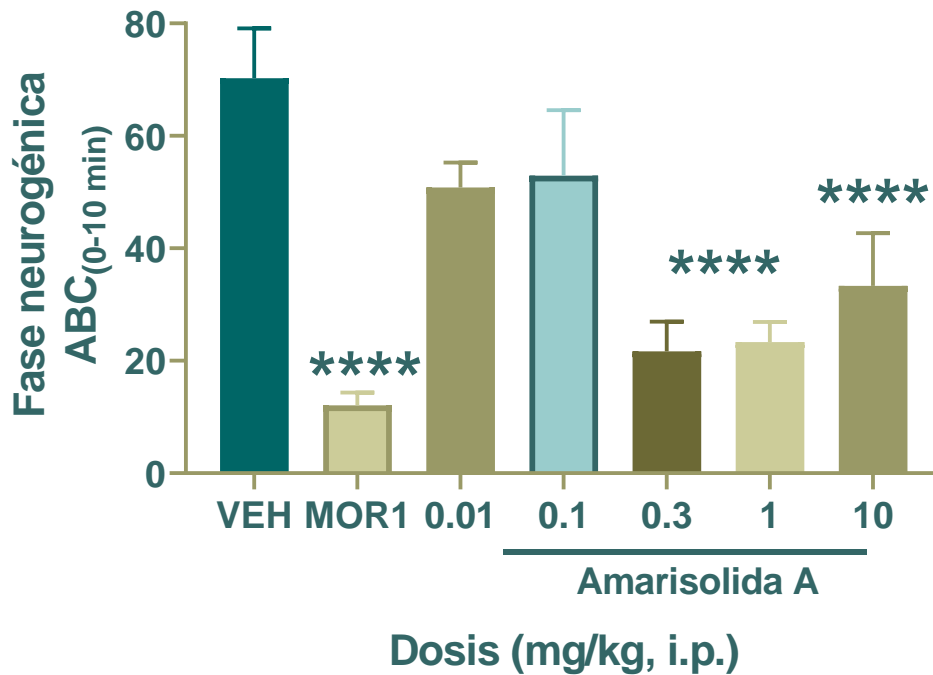
La Figura 12 muestra la respuesta de la conducta nociceptiva inducida en la prueba de formalina en la fase inflamatoria, las cuales son representadas como el ABC de 10-30 min para el grupo vehículo en comparación con la respuesta en presencia de los fármacos de referencia MOR y TR (Figura 12). El efecto de los diferentes extractos administrados en la dosis de 10 mg/kg muestra la disminución de las conductas en forma similar al analgésico TR y mejor que la MOR, donde el

extracto de mediana polaridad (acetato de etilo) produjo la mayor inhibición de la respuesta dolorosa similar al extracto acuoso (Figura 12)



**Figura 12. Evaluación de la actividad antinociceptiva de los extractos crudos de *S. amarissima* en la fase inflamatoria de la prueba de formalina en ratas. Los datos se representan como la media  $\pm$  E.E.M, n=6. \*\*\*\*p<0.0001, ANADEVa seguida de la prueba post-hoc de Dunnett. VEH: vehículo, TR: tramadol, MOR: morfina, HEX: hexano, EtOAc: acetato de etilo, MeOH: metanol, AQ: acuoso.**

La Figura 13 muestra la respuesta de la conducta nociceptiva inducida en la prueba de formalina en la fase neurogénica representada como el ABC de 0-10 min. La respuesta observada en el grupo que recibió el vehículo se redujo significativamente con el fármaco de referencia MOR, así como en la presencia de amarisolida A a las dosis de 0.3, 1 y 10 mg/kg, sin efecto en las dosis de 0.01 y 0.1 mg/kg (Figura 13)



**Figura 13. Evaluación de la actividad antinociceptiva del metabolito activo aislado y purificado del extracto de acetato de etilo de *S. amarissima* en la fase neurogénica de la prueba de formalina en ratas. Los datos se representan como la media  $\pm$  E.E.M, n=6. \*\*\*\* $p$ <0.0001, ANADEVA seguida de la prueba post-hoc de Dunnett. VEH: vehículo, MOR: morfina.**

La Figura 14 muestra la respuesta nociceptiva inducida en la prueba de formalina y representadas como el ABC de 10-30 min para la fase inflamatoria. La administración de MOR produjo efecto antinociceptivo significativo. En forma similar amarisolida A produjo efecto antinociceptivo dependiente de la dosis a partir de 0.01 mg/kg que fue equivalente a la dosis de 0.03 mg/kg. Este efecto aumentó con el incremento de la dosis a 0.1 y 0.3 mg/kg, empezando a revertirse con el incremento de la dosis a 10 mg/kg (Figura 14).



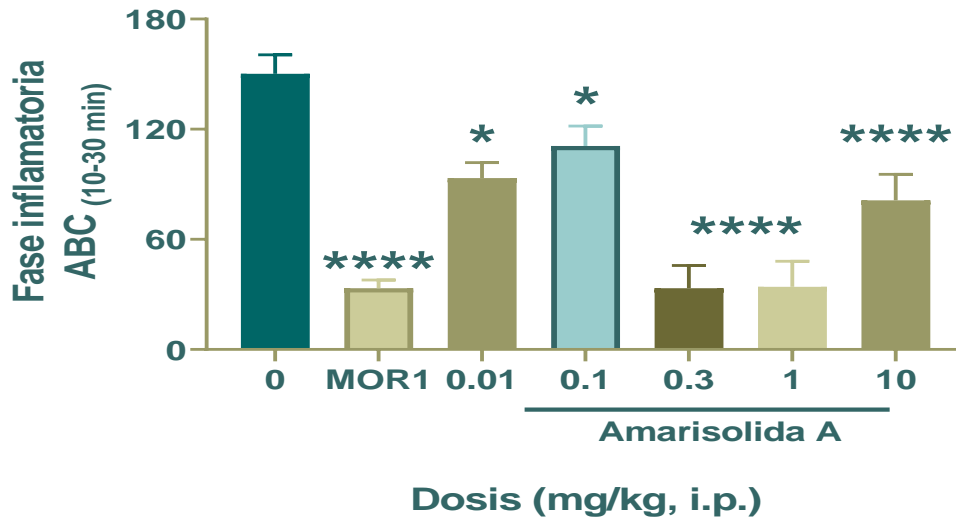
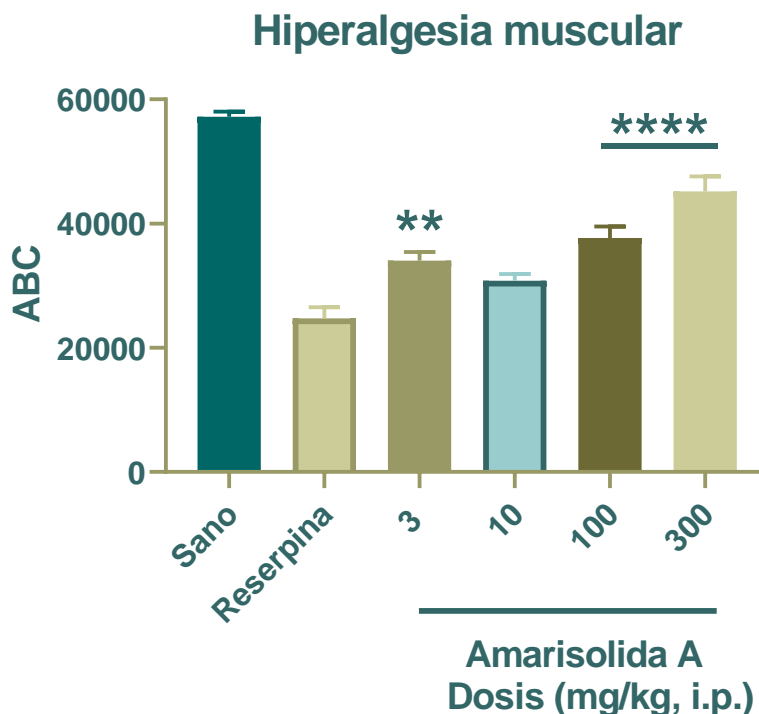


Figura 14 Evaluación de la actividad antinociceptiva del metabolito amarisolida A obtenido del extracto de acetato de etilo de *S. amarissima* en la fase inflamatoria de la prueba de formalina en ratas. Los datos se representan como la media  $\pm$  E.E.M, n=6. \* $p < 0.05$  y \*\*\*\* $p < 0.0001$ , ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett. MOR: morfina.

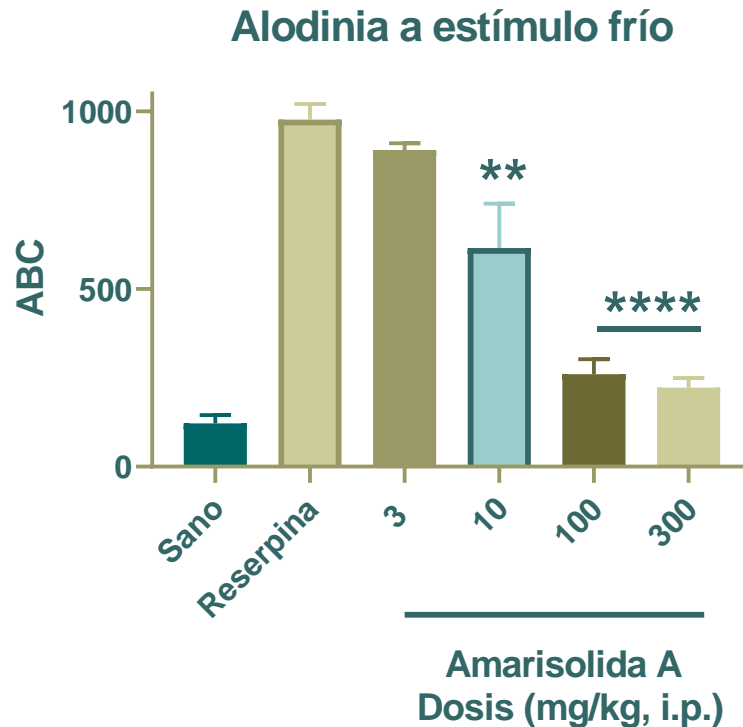
### 7.3 Resultados de fibromialgia

La Figura 15 muestra la respuesta nociceptiva de hiperalgnesia muscular inducida por reserpina en el modelo de FM en comparación con los individuos sanos representadas como el ABC. Estos datos fueron obtenidos de los cursos temporales de ratas evaluadas durante 4 h después de la administración del vehículo. La administración del metabolito amarisolida A produjo efecto antihiperalgésico significativo desde la dosis de 3 mg/kg, el cual se incrementó en forma dosis-dependiente (Figura 15).



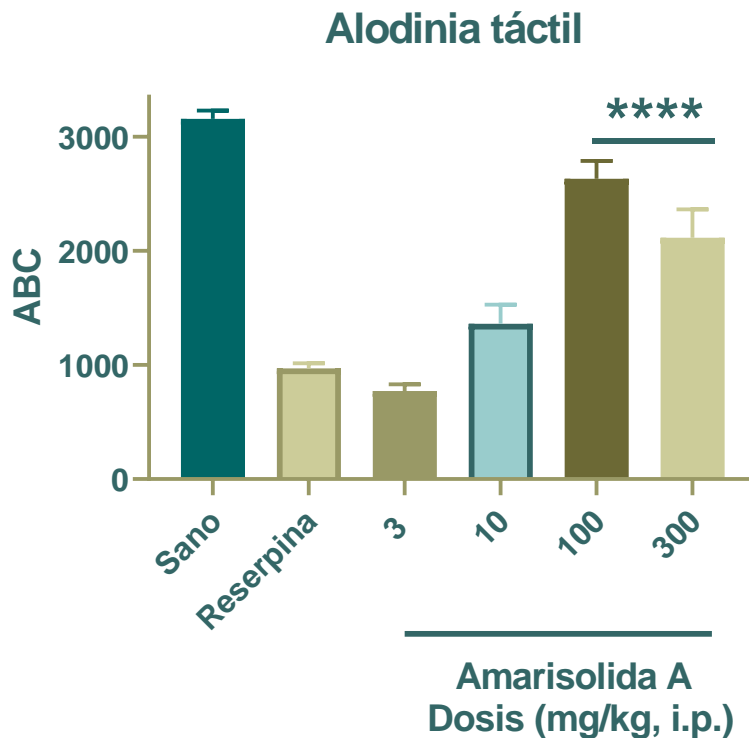
**Figura 15.** Evaluación de la actividad antinociceptiva del metabolito activo aislado y purificado del extracto de acetato de etilo de *S. amarissima* en la prueba de fibromialgia de hiperalgnesia muscular. Los datos se representan como la media  $\pm$  E.E.M, n=6. \*\*p=0.01 y \*\*\*\*p<0.0001, ANADEVa seguida de la prueba post-hoc de Dunnett en comparación con el grupo de reserpina.

La Figura 16 muestra la respuesta nociceptiva de alodinia térmica inducida por reserpina en el modelo de FM en comparación con los individuos sanos representadas como el ABC. Estos datos fueron obtenidos de los cursos temporales de ratas evaluadas durante 4 h después de la administración del vehículo. La administración del metabolito amarisolida A produjo efecto antialodínico significativo desde la dosis de 3 mg/kg, el cual se incrementó en forma dosis-dependiente alcanzando el valor de umbral de respuesta de los sujetos sanos en las dosis de 100 y 300 mg/kg, como máximo esperado (Figura 16).



**Figura 16. Evaluación de la actividad antinociceptiva del metabolito activo aislado y purificado del extracto de acetato de etilo de *S. amarissima* en la prueba de fibromialgia de alodinia a estímulo frío. Los datos se representan como la media ± E.E.M, n=6. \*\*p=0.0011 y \*\*\*\*p<0.0001, ANADEVa seguida de la prueba post-hoc de Dunnett en comparación con el grupo de reserpina.**

La Figura 17 muestra la respuesta nociceptiva de alodinia mecánica inducida por reserpina en el modelo de FM en comparación con los individuos sanos representadas como el ABC. Estos datos fueron obtenidos de los cursos temporales de ratas evaluadas durante 4 h después de la administración del vehículo. La administración del metabolito amarisolida A produjo efecto antialodínico significativo desde la dosis de 3 mg/kg, el cual se incrementó en forma dosis-dependiente alcanzando el valor de umbral de respuesta de los sujetos sanos en las dosis de 100 y 300 mg/kg, como máximo esperado (Figura 17).



**Figura 17.** Evaluación de la actividad antinociceptiva del metabolito activo aislado y purificado del extracto de acetato de etilo de *S. amarissima* en la prueba de fibromialgia de alodinia táctil. Los datos se representan como la media ± E.E.M, n=6. \*\*\*\*p<0.0001, ANADEVA seguida de la prueba post-hoc de Dunnett en comparación con el grupo de reserpina.

## 8. Discusión

En este proyecto se evaluaron diferentes extractos de la especie *Salvia amarissima* y se identificó y aisló al menos un metabolito activo para conocer su efecto en el dolor funcional de tipo nociceptivo e inflamatorio y también en un modelo de dolor disfuncional como el de tipo FM. Para ello se realizó una exploración fitoquímica y farmacológica en el modelo de formalina y de FM inducida con reserpina en ratas.

## **8.1 Evaluación fitoquímica**

La elaboración de los extractos crudos se llevó a cabo con disolventes de diferente polaridad mediante la técnica de maceración. Después de la evaluación farmacológica, el extracto obtenido con acetato de etilo fue el más activo sugiriendo que compuestos preferentemente de mediana polaridad participan en la actividad antinociceptiva. Uno de los metabolitos aislados y purificados mediante el uso de técnicas cromatográficas fue identificado como amarisolida A confirmando su naturaleza de mediana polaridad. Cabe hacer mención que su rendimiento fue de 5.05% (740 g) a partir del proceso de 15 g de extracto de acetato de etilo, y que al compararlo con la literatura se pudo conocer que éste fue superior al reportado por Flores-Bocanegra y colaboradores (2017) quienes obtuvieron un rendimiento de 2.58% a partir de un extracto de mediana polaridad con diclorometano:MeOH (1:1). Mientras que el grupo de Salinas-Arellano (2020) obtuvo un rendimiento de 11.6% con la fracción de acetato de etilo de un extracto acuoso.

## **8.2 Evaluación farmacológica**

### **8.2.1 Efecto antinociceptivo de extracto de acetato de etilo**

En la evaluación farmacológica, todos los extractos mostraron actividad antinociceptiva en el modelo de formalina en ratas, tanto en la fase neurogénica como inflamatoria, siendo el extracto de acetato de etilo el que mostró mayor actividad, ello debido en parte a la presencia del metabolito amarisolida A identificado en la comparación de los perfiles cromatográficos de los diferentes extractos. Estos resultados concuerdan con los reportados para extractos obtenidos de *S. purpurea*, donde Cuevas-Morales *et al.* (2022) evaluaron el efecto antinociceptivo del extracto de acetona, metanol y acuoso, y todos produjeron efecto antinociceptivo significativo en ambas fases, siendo el extracto de mediana polaridad el más eficaz y en el que terpenos tales como  $\alpha$ -amirina y ácido ursólico fueron los componentes mayoritarios del extracto. Los datos se refuerzan con lo reportado por Ortiz-Mendoza *et al.* quienes encontraron que el extracto de acetato de etilo de *S. semiartrata* disminuyó las conductas nociceptivas de ambas fases considerando la participación del diterpeno de esqueleto neoclerodano 7-ceto-neoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diolido como el metabolito más abundante.

### **8.2.2 Efecto antinociceptivo del metabolito activo**

En este estudio y como se mencionó previamente, el metabolito más activo y con mayor presencia fue identificado como amarisolida A. Este metabolito resultó ser un terpeno de tipo neoclerodano previamente reportado con propiedades para el dolor de tipo abdominal y como un inhibidor de la alfa-glucosidasa sugiriendo su utilidad no sólo para el dolor sino también para afecciones metabólicas como la

diabetes (Moreno-Pérez *et al.*, 2019). Es importante señalar que los diterpenos de esqueleto clerodano son abundantes en las *Salvias* de México (Rodríguez-Hahn *et al.*, 1995; Ortiz-Mendoza *et al.*, 2022) y son metabolitos que han mostrado eficacia antinociceptiva en modelos de dolor, no sólo abdominal, sino también en el nociceptivo, inflamatorio y neuropático: por ejemplo, las salvinorinas A y B que redujeron los estiramientos abdominales y el tiempo invertido en lamer en la prueba de formalina (Tlacomulco-Flores *et al.*, 2020). En tanto que el 7-cetoneoclerodan-3,13-dien-18,19:15,16-diolido presente en *S. semiartrata* inhibió de manera dependiente de la dosis ( $DE_{50} = 4.15$  mg/kg) los estiramientos abdominales inducidos con ácido acético al 1% (Ortiz-Mendoza *et al.*, 2020). Otros reportes sobre constituyentes de naturaleza terpenoide también se han reportado por estar involucrados en efectos antinociceptivos de géneros de otras familias botánicas (Quiñonez-Bastidas y Navarrete, 2021; Hernandez-Leon *et al.*, 2021) tales como la  $\beta$ -amirina, el carnosol, el ácido oleanólico y el ácido ursólico (McCurdy *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2013; Arranz *et al.*, 2015; Nile *et al.*, 2016; Thirupathi *et al.*, 2017).

En estudio no se exploró el mecanismo de acción de amarisolida A como antinociceptivo. No obstante se sabe que en el efecto antinociceptivo de diversos compuestos de naturaleza terpénica identificados en *Salvias* participan receptores inhibidores del sistema opioide y serotoninérgico, esencialmente aquellos que están acoplados a proteínas  $G_i$  para producir su efecto inhibitor a nivel central (Kanbara *et al.*, 2014; Cortés-Altamirano *et al.*, 2018), donde la vía de señalización de adenilato-ciclasa (AC)-Adenosín Monofosfato cíclico (AMPC) son considerados

blancos terapéuticos en el desarrollo de nuevos fármacos con acción analgésica, tal es el caso del ST034307 (Cheng *et al.*, 2019). Otro fármaco es el SQ22536 cuya acción inhibitoria sobre la AC disminuyó la hiperalgesia y la alodinia en un modelo de dolor neuropático en ratas con diabetes tipo 2 (Feng *et al.*, 2017). Estos estudios en conjunto con nuestros resultados refuerzan la idea de que los productos naturales o sintéticos, como los mencionados, pueden producir efectos de tipo analgésico mediados por receptores acoplados a las vías de señalización como la del AC-AMPC, que sería interesante explorar en un futuro para los extractos y este metabolito identificado u otros de *S. amarissima*.

Debido a que tanto los extractos de diferente polaridad como el terpeno identificado en mayor abundancia en las fracciones de mediana polaridad del extracto de acetato de etilo, identificado como amarisolida A, produjeron efecto significativo en la fase inflamatoria de la formalina, ello podría sugerir la participación de mediadores de inflamación aguda (Di Rosa *et al.*, 1971). En esta fase de la prueba de formalina se ha reportado la liberación de autacoides como la histamina, serotonina y bradicininas, así como la inducción de la enzima ciclooxigenasa tipo 2 (COX-2) que incrementa la producción de prostaglandinas (PGs) (Vinegar *et al.*, 1969). Esta información se refuerza con estudios que han reportado el efecto antiinflamatorio de otras especies de *Salvia*; por ejemplo: con el extracto de acetato de etilo de *S. divinorum* asociado a la presencia de los terpenos neoclerodanos salvivorinas A y B, como componentes mayoritarios en el extracto. Qnais *et al.* (2010) reportaron que el extracto de butanol de *S. officinalis* (10 mg/kg) también produjo un efecto anti-inflamatorio significativo 3 h posteriores a la administración de un agente edematoso como la carragenina. Mientras que



Nogai *et al.* (2020) demostraron que el extracto de etanol de *S. lanata* (100 mg/kg) inhibió la inflamación producida por carragenina a partir de los 60 min de iniciada la prueba.

Tomando en consideración los efectos a nivel del metabolito aislado, éste se evaluó en el modelo de dolor disfuncional de tipo FM inducido con reserpina en ratas. Los resultados corroboran que el metabolito de *S. amarissima* identificado como un terpeno neoclerodano denominado amarisolida A produce efecto antihiperálgico y antialodínico al modificar significativamente los umbrales de respuesta a estímulos mecánicos y térmicos en el modelo de FM. En la literatura no se encuentran reportes sobre la eficacia de extractos o compuestos puros del género *Salvia* en modelos de dolor tipo FM, por lo anterior, éste sería en nuestro conocimiento el primer estudio de constituyentes del género *Salvia* (Moreno-Pérez *et al.*, 2023). No obstante, algunas especies de este género si se han estudiado en modelos de dolor disfuncional de tipo neuropático, tal es el caso del diterpeno tanshinona IIA presente en *S. miltiorrhiza*, el cual de manera dosis-dependiente disminuyó las conductas de hiperálgia mecánica en el modelo de ligamiento del nervio espinal en ratas (Liu *et al.*, 2010). Este mismo diterpeno produjo la activación de la microglía espinal, donde la expresión de las citocinas inflamatorias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  disminuyó (Cao *et al.*, 2015). El extracto de las hojas de *S. officinalis* y sus componentes principales, los ácidos rosmarínico y cafeico, mostraron eficacia sobre el dolor neuropático inducido por la lesión por constricción crónica del nervio ciático en ratones y se evaluaron conductas nociceptivas mediante pruebas mecánicas, químicas, térmicas y recuperación

funcional del nervio ciático en diferentes intervalos de tiempo (El Gabbas *et al.*, 2019).

## **9. Conclusión**

En conclusión, compuestos de *Salvia amarissima* de diferente naturaleza polar podrían estar participando en su potencial efecto antinociceptivo, donde el terpeno amarisolida A juega un papel muy importante como metabolito activo. Asimismo, el conjunto de estos resultados apoya el potencial terapéutico de especies de *Salvia* y sus metabolitos de naturaleza terpénica en el alivio del dolor, no sólo funcional sino de manera relevante también en el dolor disfuncional donde existe pocas opciones de terapéutica.

## **10. Perspectivas**

- Continuar con el estudio fitoquímico de los componentes de la fracción rica en terpenoides de *S. amarissima* con la técnica de espectrometría de masas o resonancia magnética nuclear para descubrir la identidad de éstos.
- Evaluar las dosis probadas con el extracto puro por la vía oral, para ver si su biodisponibilidad se ve afectada o si es necesaria una forma farmacéutica para su aplicación.
- Evaluar el efecto de amarisolida A o de los diferentes extractos en distintas comorbilidades, (fatiga y/o trastornos cognitivos)

·Determinar la DE50, de los distintos extractos y el compuesto más activo, y determinar si los efectos adversos son similares o menores que los medicamentos convencionales.

·Realizar combinaciones del extracto o de amarisolida A con otros fármacos de la clínica con diferentes mecanismos de acción para observar su interacción farmacológica en el modelo de FM inducida por reserpina.

## **11. Bibliografía**

Ablin, J., Fitzcharles, M.A., Buskila, D., Shir, Y., Sommer, C., Häuser, W., 2013. Treatment of fibromyalgia syndrome: Recommendations of recent evidence-based interdisciplinary guidelines with special emphasis on complementary and alternative therapies. Evidence-based Complementary

Alternative Medicine 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/485272>

Armero, P., Muriel, C., Santos, J., Sánchez-Montero, F. J., Rodríguez, R. E., & González-Sarmiento, R.. (2004). Bases genéticas del dolor. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 11(7), 64-71. Recuperado el 4 de enero de 2022. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1134-80462004000700006&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-80462004000700006&lng=es&tlng=es).

Arranz, E., Mes, J., Wichers, H.J., Jaime, L., Mendiola, J.A., Reglero, G., Santoyo, S., (2015). Anti-inflammatory activity of the basolateral fraction of Caco-2 cells exposed to a rosemary supercritical extract. *Journal of Functional Foods* 13, 384–390. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.015>.

Atkinson, T.J., Fudin, J., 2020. Nonsteroidal antiinflammatory drugs for acute and chronic pain. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America* 31, 219–231. <https://doi.org/10.1016/J.PMR.2020.01.002>

Bacchi, S., Palumbo, P., Sponta, A., Coppolino, M.F., 2012. Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *antiinflamm. antiallergy. Agents in Medicinal Chemistry* 11, 52–64. <https://doi.org/10.2174/187152312803476255>

Baliki, M.N., Apkarian, A.V., 2015. Nociception, pain, negative moods, and behavior selection. *Neuron*. 87, 474–491.

<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.06.005>

Bazzichi, L., Rossi, A., Massimetti, G., Giannaccini, G., Giuliano, T., De Feo, F., Ciapparelli, A., Dell'Osso, L., Bombardieri, S., 2007. Cytokine patterns in fibromyalgia and their correlation with clinical manifestations. *Clinical Expedient Rheumatology*. 25, 225–230.

Bellato, E., Marini, E., Castoldi, F., Barbasetti, N., Mattei, L., Bonasia, D.E., Blonna, D., 2012. Fibromyalgia syndrome: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Pain Research and Treatment* 2012, 426130.  
<https://doi.org/10.1155/2012/426130>

Bermúdez, Alexis, Oliveira-Miranda, María A., & Velázquez, Dilia. (2005). La Investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*, 30(8), 453-459.  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442005000800005&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000800005&lng=es&tlng=es).

Brum, E.S., Becker, G., Fialho, M.F.P., Oliveira, S.M., 2022. Animal models of fibromyalgia: What is the best choice? *Pharmacology & Therapeutics* 230, 107959. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107959>

Cao, F. Le, Xu, M., Wang, Y., Gong, K.R., Zhang, J.T., (2015). Tanshinone

IIA attenuates neuropathic pain via inhibiting glial activation and immune response. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 128,1–7. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.11.004>

Carballo-Villalobos, A.I., González-Trujano, M.E., Pellicer, F., López-Muñoz, F.J., 2016. Antihyperalgesic effect of hesperidin improves with diosmin in experimental neuropathic pain. *Biomed Research International* 2016, 8263463. <https://doi.org/10.1155/2016/8263463>

Castro J., Carlos J., Villa Ruano, Nemesio, Ramírez García, S. A., & Mosso González, Clemente. (2014). Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico oaxaqueño. *Revista cubana de plantas medicinales*, 19(1), 101-120. Recuperado el 15 de enero de 2022. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962014000100012&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000100012&lng=es&tlng=es).

Chaplan, S. R., Bach, F. W., Pogrel, J. W., Chung, J. M., & Yaksh, T. L. (1994). Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neuroscience Methods*, 53(1), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(94\)90144-9](https://doi.org/10.1016/0165-0270(94)90144-9).

Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the

Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. (1986). *Pain. Supplement*, 3, S1–S226.

Cheng, Y., Huang, P., Meng, B., Gan, L., Wu, D., & Cao, Y. (2019). Antinociceptive effects of the adenylyl cyclase inhibitor ST034307 on tooth-movement-induced nociception in rats. *Archives of Oral Biology*, 98, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.11.012>.

Clauw, D.J., (2014). Fibromyalgia: A clinical review. *JAMA - J. Am. Medical Association* 311, 1547–1555. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.3266>

Cortes-Altamirano, J. L., Olmos-Hernandez, A., Jaime, H. B., Carrillo-Mora, P., Bandala, C., Reyes-Long, S., & Alfaro-Rodríguez, A. (2018). Review: 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>7</sub> Receptors and their Role in the Modulation of Pain Response in the Central Nervous System. *Current Neuropharmacology*, 16(2), 210–221. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170911121027>.

Covarrubias-Gómez A. (2008). Las clínicas del dolor en México. *Revista Mexicana de Anestesiología*;31(1):66-70.

Covarrubias Gómez, Alfredo y Guevara López, Uria Medardo (2006). ¿Qué es una clínica del dolor?. Coordinación de Universidad Abierta, Innovación Educativa y Educación a Distancia, UNAM; Dirección General de Cómputo

y de Tecnologías de Información y Comunicación, UNAM. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/5040821>.

Cruciani, R. A., & Nieto, M. J.. (2006). Fisiopatología y tratamiento del dolor neuropático: avances más recientes. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*,13(5),312-327.

[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1134-80462006000500006&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-80462006000500006&lng=es&tlng=es).

Cuevas-Morales, C., Zavala-Ocampo, L. M., San Miguel-Chávez, R., González-Trujano, M. E., Basurto-Peña, F. A., Muñoz-Ocotoero, V., & Aguirre-Hernández, E. (2022). Pharmacological evaluation of the antinociceptive activity and phytochemical analysis of active extracts of *Salvia purpurea* Cav. *Botanical Sciences*, 100(2), 383-396. <https://doi.org/10.17129/botsci.3013>.

Di Rosa, M., Giroud, J.P. and Willoughby, D.A. (1971), Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *Journal Pathology*, 104: 15-29. <https://doi.org/10.1002/path.1711040103>.

Dzubak, P., Hajdich, M., Vydra, D., Hustova, A., Kvasnica, M., Biedermann, D., Markova, L., Urban, M., Sarek, J., 2006. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Products*



Report 23, 394–411. <https://doi.org/10.1039/b515312n>

El Gabbas, Z., Bezza, K., Laadraoui, J., Ait Laaradia, M., Kebbou, A., Oufquir, S., Boukhira, A., Aboufatima, R., & Chait, A. (2019). *Salvia officinalis*, Rosmarinic and Caffeic Acids Attenuate Neuropathic Pain and Improve Function Recovery after Sciatic Nerve Chronic Constriction in Mice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2019, 1702378. <https://doi.org/10.1155/2019/1702378>.

Feng, H., Lu, G., Li, Q., & Liu, Z. (2017). Inhibition of Adenylyl Cyclase in the Spinal Cord Alleviates Painful Diabetic Neuropathy in Zucker Diabetic Fatty Rats. *Canadian Journal of Diabetes*, 41(2), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2016.09.006>.

Flores-Bocanegra, L., González-Andrade, M., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2017).  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors from *Salvia circinata*. *Journal of Natural Products*, 80(5), 1584–1593. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00155>.

Friedman, A., Nabong, L., 2020. Opioids: pharmacology, physiology, and clinical implications in pain medicine. *Physical Medicine Rehabilitation Clinics of North America* 31, 289–303. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2020.01.007>

Gota, C.E., 2021. Fibromyalgia: recognition and management in the primary care office. *Medical Clinics of North America* 105, 285–296. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2020.09.012>

Gutiérrez-Nava M. A., Casas-Patiño D., Velázquez-García G., & Serafín-Badillo M. (2019). Efecto hipoglucemiante de la planta medicinal mazahua *Salvia amarissima* Ortega en ratones. *Biosalud*, 18(1), 26 - 34. <https://doi.org/10.17151/biosa.2018.18.1>.

Guzmán-Gómez, O., (2014). Evaluación de la actividad antiinflamatoria y estudios quimiométricos de especies de *Salvia* de Xalapa, Veracruz y municipios aledaños. <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/46852>.

Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, S., Shahlari, M., 2014. Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 4, 82–88. <https://doi.org/10.4103/2225-4110.130373>

Hernandez-Leon, A., Fernández-Guasti, A., Martínez, A., Pellicer, F., González-Trujano, M.E., 2019. Sleep architecture is altered in the reserpine-induced fibromyalgia model in ovariectomized rats. *Behavioural Brain Research* 364, 383–392. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.005>

Hernandez-Leon, A., Moreno-Pérez, G.F., Martínez-Gordillo, M., Aguirre-Hernández, E., Valle-Dorado, M.G., Díaz-Reval, M.I., González-Trujano, M.E., Pellicer, F., (2021). Lamiaceae in mexican species, a great but scarcely explored source of secondary metabolites with potential pharmacological effects in pain relief. *Molecules*. 26, 7632. <https://doi.org/10.3390/molecules26247632>.

Hunskar, S., Berge, O.G., Hole, K., 1986. Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in the formalin test. *Pain*. 25, 125–132. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(86\)90014-X](https://doi.org/10.1016/0304-3959(86)90014-X)

Imanshahidi, M., Hosseinzadeh, H., 2006. The pharmacological effects of *Salvia* species on the central nervous system. *Phytotherapy Research* 20, 427–437. <https://doi.org/10.1002/ptr.1898>

Kanbara, T., Nakamura, A., Takasu, K., Ogawa, K., Shibasaki, M., Mori, T., Suzuki, T., Hasegawa, M., Sakaguchi, G., & Kanemasa, T. (2014). The contribution of Gi/o protein to opioid antinociception in an oxaliplatin-induced neuropathy rat model. *Journal of Pharmacological Sciences*, 126(3), 264–273. <https://doi.org/10.1254/jphs.14133fp>.

Liu, Y., Wang, L., Li, X., Lv, C., Feng, D., & Luo, Z. (2010). Tanshinone IIA improves impaired nerve functions in experimental diabetic rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 399(1), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.07.037>.

López-Espino, M., & Mingote-Adán, J.C., (2008). Fibromialgia. *Clínica y Salud*, 19(3), 343-358. Recuperado el 18 de abril de 2022, [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1130-52742008000300005&lng=es&tlng=en](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-52742008000300005&lng=es&tlng=en).

Maldonado, E., Cárdenas, J., Bojórquez, H., Escamilla, E.M., Ortega, A., 1996. Amarisolide, a neo-clerodane diterpene glycoside from *Salvia amarissima*. *Phytochemistry*. 42, 1105–1108. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00147-1](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00147-1)

Martinez-Aedo, A. M., 2020. Mechanisms underlying the placebo and nocebo effects. 4-26

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. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 83(1), 109–113. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.12.011>.

Meli, R., Autore, G., di Carlo, G. and Capasso, F. (1990), Inhibitory action of quercetin on intestinal transit in mice. *Phytotherapy Research*, 4: 201-202. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650040509>.

Mera Varela, A. J. (1991). Fibrositis (fibromialgia) primaria. *Inflamación*, 93, 2(4), 265-268.

Merskey, H. and Bogduk, N. (1994) *Classification of Chronic Pain*. 2nd Edition, IASP Task Force on Taxonomy. IASP Press, Seattle. <http://www.iasp-pain.org/Education/content.aspx?ItemNumber=1698>

Moreno-Pérez, G. F., González-Trujano, M. E., Martínez-Gordillo, M. J., San Miguel-Chávez, R., Basurto-Peña, F. A., Dorazco-González, A., & Aguirre-Hernández, E. (2019). Amarisolide A and pedalitin as bioactive compounds in the antinociceptive effects of *Salvia circinata*. *Botanical Sciences*, 97(3), 355-365. <https://doi.org/10.17129/botsci.2187>.

Moreno-Pérez, G. F., González-Trujano, M. E., Hernandez-Leon, A., Valle-Dorado, M. G., Valdés-Cruz, A., Alvarado-Vásquez, N., Aguirre-Hernández, E., Salgado-Ceballos, H., & Pellicer, F. (2022). Antihyperalgesic and Antiallodynic Effects of Amarisolide A and *Salvia amarissima* Ortega in Experimental Fibromyalgia-Type Pain. *Metabolites*, 13(1), 59. <https://doi.org/10.3390/metabo13010059>

Nagakura, Y., Oe, T., Aoki, T., Matsuoka, N., 2009. Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by depression: A putative animal model of fibromyalgia. *Pain*. 146, 26–33. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2009.05.024>

Nile, S.H., Ko, E.Y., Kim, D.H., Keum, Y.S., 2016. Screening of ferulic acid related compounds as inhibitors of xanthine oxidase and cyclooxygenase-2 with anti-inflammatory activity. *Brazilian Journal Pharmacognosy* 26, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.013>.

Nogai, L., Kumar, T., Lohumi, P., 2020. Evaluation of *Salvia lanata* leaf extract for anti-inflammatory and antioxidant activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 13, 113–117. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2020.v13i12.39516>.

Ortega-Hernandez, A. R., Toscano R. A., Bautista Redonda F. E., Fragoso-Serrano M. C. (2016) Diterpenos de *Salvia amarissima* y su uso como moduladores de la multiresistencia a farmacos en tumor.

Ortiz-Mendoza, N., Zavala-Ocampo, L. M., Martínez-Gordillo, M. J., González-Trujano, M. E., Peña, F., Rodríguez, I., Chávez, J., Dorazco-González, A., & Aguirre-Hernández, E. (2020). Antinociceptive and anxiolytic-like effects of a neo-clerodane diterpene from *Salvia semiatrata* aerial parts. *Pharmaceutical Biology*, 58(1), 620–629. <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1784235>.

Park, S. H., Sim, Y. B., Kang, Y. J., Kim, S. S., Kim, C. H., Kim, S. J., & Suh, H. W. (2013). Mechanisms involved in the antinociceptive effects of orally administered oleanolic acid in the mouse. *Archives of Pharmacology Research*, 36(7), 905–911. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0093-7>

Peña Arrebola, A. (1995). Fibromialgia. Encuentros médicos -Escuela de la espalda.

Pliego L.A., (2010) Reuptake inhibitors of serotonin and noradrenaline in the management of pain of diabetic neuropathy, pp 180-188. DOI:10.1016/S1853-0028(10)70056-2.

Puebla Díaz, F.. (2005). Tipos de dolor y escala terapéutica de la O.M.S.: Dolor iatrogénico. *Oncología (Barcelona)*, 28(3), 33-37. Recuperado el 18 de mayo de 2022 [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-48352005000300006&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352005000300006&lng=es&tlng=es).

Puig, S., & Sorkin, L. S. (1996). Formalin-evoked activity in identified primary afferent fibers: systemic lidocaine suppresses phase-2 activity. *Pain*, 64(2), 345–355. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(95\)00121-2](https://doi.org/10.1016/0304-3959(95)00121-2)

Qnais, E. Y., Abu-Dieyeh, M., Abdulla, F. A., & Abdalla, S. S. (2010). The antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Salvia officinalis* leaf aqueous and butanol extracts. *Pharmaceutical Biology*, 48(10), 1149–1156. <https://doi.org/10.3109/13880200903530763>.

Quiñonez-Bastidas, G.N., Navarrete, A., (2021). Mexican plants and derivates compounds as alternative for inflammatory and neuropathic pain treatment—a review. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(5), 865. <https://doi.org/10.3390/plants10050865>.

Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X. J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976–1982. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>.

Rodrigues, M. R., Kanazawa, L. K., das Neves, T. L., da Silva, C. F., Horst, H., Pizzolatti, M. G., Santos, A. R., Baggio, C. H., & Werner, M. F. (2012). Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(2), 519–526. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.042>.



Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Cárdenas, J., 1995. Neo-clerodane diterpenoids from american *Salvia* species. *Phytochemistry of Medicinal Plants*. 311–332. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1778-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1778-2_12).

Salinas-Arellano, E., Pérez-Vásquez, A., Rivero-Cruz, I., Torres-Colin, R., González-Andrade, M., Rangel-Grimaldo, M., & Mata, R. (2020). Flavonoids and Terpenoids with PTP-1B Inhibitory Properties from the Infusion of *Salvia amarissima* Ortega. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(15), 3530. <https://doi.org/10.3390/molecules25153530>.

Sawynok J, Reid AR (2003) Chronic Intrathecal Cannulas Inhibit Some and Potentiate Other Behaviors Elicited by Formalin Injection. *Pain* 103:7–9

Sneddon L. U. (2018). *Comparative Physiology of Nociception and Pain*. *Physiology* (Bethesda, Md.), 33(1), 63–73. <https://doi.org/10.1152/physiol.00022.2017>.

Solares-Pascasio, J. I., Ceballos, G., Calzada, F., Barbosa, E., & Velazquez, C. (2021). Antihyperglycemic and Lipid Profile Effects of *Salvia amarissima* Ortega on Streptozocin-Induced Type 2 Diabetic Mice. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(4), 947. <https://doi.org/10.3390/molecules26040947>

Thirupathi, A., Silveira, P., Nesi, R., Pinho, R., 2017.  $\beta$ -Amyrin, a pentacyclic triterpene, exhibits anti-fibrotic, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects

on dimethyl nitrosamine–induced hepatic fibrosis in male rats. *Human & Experimental Toxicology*, 36(2), 113–122.  
<https://doi.org/10.1177/0960327116638727>.

Tlacomulco-Flores, L. L., Déciga-Campos, M., González-Trujano, M. E., Carballo-Villalobos, A. I., & Pellicer, F. (2020). Antinociceptive effects of *Salvia divinorum* and bioactive salvinorins in experimental pain models in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 248, 112276.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112276>.

Tjølsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., & Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1), 5–17.  
[https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90003-T](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90003-T)

Van Ree, J. M., Niesink, R. J., Van Wolfswinkel, L., Ramsey, N. F., Kornet, M. M., Van Furth, W. R., Vanderschuren, L. J., Gerrits, M. A., & Van den Berg, C. L. (2000). Endogenous opioids and reward. *European Journal of Pharmacology*, 405(1-3), 89–101. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00544-6](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00544-6).

Walfe, F., T., A., y Bruusgaard, D. (1994). Síndrome fibromiálgico. En *Compendio de las enfermedades reumáticas* (pp. 82-84): Salvat.

Watson, J.C. (2020), Tratamiento del dolor, Manual MSD Version para profesionales, Recuperado el 06/01/2021, <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/trastornos-neurol%C3%B3gicos/dolor/tratamiento-del-dolor>.

Yoon, C., Wook, Y. Y., Sik, N. H., Ho, K. S., & Mo, C. J. (1994). Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 59(3), 369–376. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90023-X](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90023-X)  
Xaltamira

Zegarra-Piérrola, J.W. (2007). Bases fisiopatológicas del dolor. *Acta Médica Peruana*, 24(2), 35-38. Recuperado en 5 de abril de 2022, [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S172859172007000200007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172859172007000200007&lng=es&tlng=es).